

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO - CAMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**SUPLEMENTAÇÃO PROTEICA NA PRODUÇÃO DE
RAINHAS AFRICANIZADAS**

Autora: Cinthia Leão Figueira
Orientadora: Dr^a. Patrícia Faquinello

RIO VERDE - GO
Fevereiro - 2020

SUPLEMENTAÇÃO PROTEICA NA PRODUÇÃO DE RAINHAS AFRICANIZADAS

Autora: Cinthia Leão Figueira
Orientadora: Dr^a. Patrícia Faquinello

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Campus Rio Verde - Área de concentração: Produção Animal

RIO VERDE - GO
Fevereiro - 2020


INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CAMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

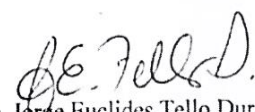
**SUPLEMENTAÇÃO PROTEICA NA PRODUÇÃO DE RAINHAS
AFRICANIZADAS**


Autora: Cinthia Leão Figueira
Orientadora: Patrícia Faquinello

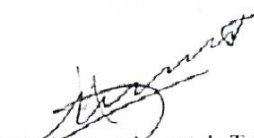
TITULAÇÃO: Mestre em Zootecnia – Área de concentração Zootecnia
– Zootecnia e Recursos Pesqueiros.

APROVADA em 28 de fevereiro de 2020.


Prof.ª Dra. Flávia Oliveira Abrão
Avaliadora externa
IF Goiano/Ceres


Prof. Dr. Jorge Euclides Tello Durán
Avaliador externo
Universidad Nacional de Colômbia


Prof.ª Dra. Patrícia Faquinello
Presidente da banca
IF Goiano/Ceres


Prof. Dr. Vagner de Alencar Arnaut de Toledo
Avaliador externo
UEM/Maringá

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano

PS959a Figueira, Cinthia Leão
SUPLEMENTAÇÃO PROTEICA NA PRODUÇÃO DE RAINHAS
AFRICANIZADAS / Cinthia Leão Figueira; orientadora
Patrícia Faquinello. -- Rio Verde, 2020.
48 p.

Dissertação (em Zootecnia) -- Instituto Federal
Goiano, Campus Rio Verde, 2020.

1. Apis mellifera. 2. Intestino médio. 3.
Nutrição . 4. Ovário. 5. Peso. I. Faquinello, Patrícia
, orient. II. Título.

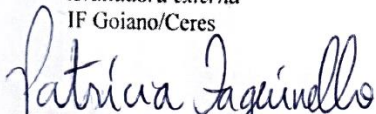


ATA Nº/109
ATA DA BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Ao vigésimo oitavo dia do mês de fevereiro do ano de dois mil e vinte, às 14h00min (catorze horas), reuniram-se os componentes da Banca Examinadora: Prof.^a Dra. Patrícia Faquinello (orientadora), Prof.^a Dra. Flávia Oliveira Abrão (avaliadora externa), Prof. Dr. Jorge Euclides Tello Durán (avaliador externo), Prof. Dr. Wagner de Alencar Arnaut de Toledo (avaliador externo e co-orientador), sob a presidência do primeiro, em sessão pública realizada na Sala de Videoconferência do prédio da DPGPI, no IF Goiano – Campus Rio Verde, para procederem à avaliação da defesa de Dissertação, em nível de mestrado, área de concentração **Zootecnia – Produção Animal**, da autoria de CINTHIA LEÃO FIGUEIRA, discente do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia do Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde. A sessão foi aberta pela presidente da Banca Examinadora, Prof.^a Dra. Patrícia Faquinello, que fez a apresentação formal dos membros da Banca. A palavra, a seguir, foi concedida à autora da Dissertação para, em 30 min., proceder à apresentação de seu trabalho. Terminada a apresentação, cada membro da banca arguiu o examinado, tendo-se adotado o sistema de diálogo sequencial. Terminada a fase de arguição, procedeu-se a avaliação da defesa. Tendo em vista as normas que regulamentam o Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, e procedida às correções recomendadas, a Dissertação foi APROVADA, considerando-se integralmente cumprido este requisito para fins de obtenção do título de **MESTRE EM ZOOTECNIA**, na área de concentração **Zootecnia – Produção Animal**, pelo Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde. A conclusão do curso dar-se-á quando da entrega na secretaria do PPGZ da versão definitiva da Dissertação, com as devidas correções. Assim sendo, a defesa perderá a validade, se não cumprida essa condição, em até 60 (sessenta) dias da sua ocorrência. A Banca Examinadora recomendou a publicação dos artigos científicos oriundos dessa Dissertação em periódicos de circulação nacional e/ou internacional, após procedida as modificações sugeridas. Cumpridas as formalidades da pauta, a presidência da mesa encerrou esta sessão de defesa de Dissertação de Mestrado, e para constar, eu, Angélica Ferreira Melo, secretária do PPGZ, lavrei a presente Ata, que, após lida e achada conforme, será assinada pelos membros da Banca Examinadora em três vias de igual teor.


Prof.^a Dra. Flávia Oliveira Abrão

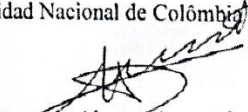
Avaliadora externa
IF Goiano/Ceres



Prof.^a Dra. Patrícia Faquinello
Presidente da banca
IF Goiano/Ceres



Prof. Dr. Jorge Euclides Tello Durán
Avaliador externo
Universidad Nacional de Colômbia



Prof. Dr. Wagner de Alencar Arnaut de Toledo
Avaliador externo
UEM/Maringá





TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610/98, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, a disponibilizar gratuitamente o documento no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, em formato digital para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

Identificação da Produção Técnico-Científica

- | | |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> Tese | <input type="checkbox"/> Artigo Científico |
| <input checked="" type="checkbox"/> Dissertação | <input type="checkbox"/> Capítulo de Livro |
| <input type="checkbox"/> Monografia – Especialização | <input type="checkbox"/> Livro |
| <input type="checkbox"/> TCC - Graduação | <input type="checkbox"/> Trabalho Apresentado em Evento |
| <input type="checkbox"/> Produto Técnico e Educacional - Tipo: | |

Nome Completo do Autor: CINTHIA LEÃO FIGUEIRA

Matrícula: 201810231010240065

Título do Trabalho: SUPLEMENTAÇÃO PROTEICA NA PRODUÇÃO DE RAINHAS AFRICANIZADAS

Restrições de Acesso ao Documento

Documento confidencial: Não Sim, justifique: _____

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: __/__/__

O documento está sujeito a registro de patente? Sim Não

O documento pode vir a ser publicado como livro? Sim Não

DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O/A referido/a autor/a declara que:

- o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- obteve autorização de quaisquer materiais incluídos no documento do qual não detém os direitos de autor/a, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

Rio Verde, 27/05/2020.

Local Data

Cynthia Leão Figueira

Assinatura do Autor e/ou Detentor dos Direitos Autorais

Ciente e de acordo:

Patrícia Inquinaldo

Assinatura do(a) orientador(a)

Leve na sua memória para o resto de sua vida, as coisas boas que surgiram no meio das dificuldades. Elas serão uma prova de sua capacidade em vencer as provas e lhe darão confiança na presença divina, que nos auxilia em qualquer situação, em qualquer tempo, diante de qualquer obstáculo.

Thico Xavier

AGRADECIMENTOS

A Deus, em primeiro lugar por me proporcionar experiências que me faz crescer dia após dia.

A todos os professores e a secretária do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia do IF Goiano - Campus Rio Verde, pelos conhecimentos transmitidos durante minha breve estadia.

À Universidade Estadual de Maringá e ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia (PPZ - UEM) e a todos os professores que tive a oportunidade de conhecer e aprender um pouco mais.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudos concedida durante todo período de estudo.

À minha orientadora Prof.^a Dr.^a. Patrícia Faquinello, pela oportunidade e ajuda para que eu pudesse aprender mais e pela parceria para o desenvolvimento do meu projeto de pesquisa.

Ao meu coorientador Prof. Dr. Vagner de Alencar Arnaut de Toledo, pela oportunidade de fazer parte do grupo, aprender e a desenvolver minha pesquisa no Laboratório de Apicultura e Meliponicultura da Universidade Estadual de Maringá.

A minha mãe Maria das Dores Leão Figueira, meu Pai Valdeir Candido Figueira e minha irmã Nara Leão Figueira, por incentivarem e apoiarem minhas decisões. Mesmo há quilômetros de distância de alguma forma conseguem me auxiliar.

Aos amigos do Grupo de Pesquisa com Abelhas (GPBee), pela recepção, apoio e ajuda desde minha chegada até a realização desta pesquisa. Em especial aos que me auxiliaram no desenvolvimento e coleta de dados: Jessica Carolina Camargo López, MSc. Douglas Galhardo, MSc. Daiani Rodrigues Moreira, MSc. Tuan Henrique Smielewski de Souza, MSc. Cláudio Gomes da Silva Júnior, Prof.^a Dr.^a. Adriana Aparecida Sinópolis Gigliolli e todos os estagiários. Vocês foram peças importantes nesse trabalho.

A Prof.^a Dr.^a. Flávia Oliveira Abrão, pelo auxílio com os meios de culturas para a produção do suplemento fermentado.

A Prof.^a Dr.^a. Eliane Gasparino, pelo auxílio e paciência com a estatística.

Ao Complexo de Centrais de Apoio à Pesquisa (COMCAP), por proporcionar a liberação do laboratório e dos equipamentos para a preparação do material a ser analisado.

A Prof.^a Dr.^a. Maria Cláudia Colla Ruvolo Takasusuki, por autorizar a utilização do Laboratório de Genética Animal para a preparação e análise de material.

Aos amigos que sempre estiveram comigo apesar da distância e que vão estar sempre em meu coração: Francielly Paludo, Thaís Pacheco Santana, Nájla Lorhayne Bertasso, Matheus Biserra, grupo CEGAL e aos amigos que a vida me proporcionou e que mesmo distantes Deus permite que estejamos juntos.

BIOGRAFIA DA AUTORA

CINTHIA LEÃO FIGUEIRA, filha de Valdeir Candido Figueira e Maria das Dores Leão Figueira, nasceu em Goiânia - GO, no dia 12 de setembro de 1989. Ingressou no curso de Bacharelado em Zootecnia em 2011-2, pela Pontifícia Universidade Católica de Goiás, no município de Goiânia - GO. Durante a graduação atuou como bolsista PIBIC/CNPq na área Aquicultura sob orientação da Prof.^a Dr.^a. Delma Machado Cantisani Padua. Em 2018-1 concluiu pela Universidade Estadual de Goiás, campus São Luís dos Montes Belos o curso de Pós-Graduação “Lato Sensu”, especialização em Produção Animal e ingressou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - campus Rio Verde, em nível de Mestrado, na área de concentração Melhoramento e Reprodução Animal sob orientação da Prof.^a Dr.^a. Patrícia Faquinello. Em fevereiro de 2020 submeteu a banca avaliadora sua dissertação, intitulada: SUPLEMENTAÇÃO PROTEICA NA PRODUÇÃO DE RAINHAS AFRICANIZADAS

ÍNDICE

	Página
ÍNDICE DE TABELAS.....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	x
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1 Alimentação e desenvolvimento da colônia.....	2
2.2 Fatores ambientais	3
2.3 Suplementação das colônias.....	4
2.4 Produção de rainhas africanizadas.....	6
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	7
CAPÍTULO 2 - ARTIGO CIENTÍFICO	12
RESUMO.....	13
ABSTRACT.....	14
INTRODUÇÃO	15
MATERIAL E MÉTODOS	16
Suplementações.....	17
Avaliação dos ovários e intestino médio.....	18
Análises estatísticas	19
RESULTADOS.....	19
DISCUSSÃO.....	27
CONCLUSÃO	29
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30

INDICE DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Composição e disponibilidade dos nutrientes na suplementação fornecida para a produção de rainhas africanizadas durante o experimento.	18
Tabela 2. Teste Shapiro-Wilk para normalidade (valor de p) para o primeiro, segundo e terceiro ciclo de produção avaliados.	19
Tabela 3. Teste de Bartlett para homogeneidade de variâncias para o primeiro, segundo e terceiro ciclo de produção avaliados.	20
Tabela 4. Número de ovariolos, Peso a emergência e Comprimento do Abdômen em rainhas <i>Apis mellifera</i> africanizadas para o primeiro, segundo e/ou terceiro ciclo de produção avaliados.	20
Tabela 5. Método não paramétrico de Kruskal-Wallis.	21
Tabela 6. Valor médio das características de Peso à emergência, Largura do Tórax, Comprimento do Abdômen, Comprimento da Asa e Comprimento Total em rainhas <i>Apis mellifera</i> africanizadas - Ciclo I.	22
Tabela 7. Valor médio para as características de Largura do Tórax e Largura do Abdômen em rainhas <i>Apis mellifera</i> africanizadas - Ciclo II.	22
Tabela 8. Consumo de suplemento por ciclo – Global.	23
Tabela 9. Consumo de suplemento por tratamento - Ciclo III.	23

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Análise morfológica dos ovariolos de <i>A. mellifera</i> africanizadas após diferentes suplementações. Fotomicrografia do ovário de rainhas não fecundadas. A-C. T1 (Controle); D-F. T2 (Suplementação Comercial I); G-I T3 (Suplementação Comercial II); J-L. T4 (Suplementação Fermentado). Ovariolos (OV), Membrana peritoneal (MP), Cistócitos (C), Roseta (R), Células nutridoras (CN), Oócitos (OO). Coloração hematoxilina-eosina. Escala 100µm.....	24
Figura 2. Análise morfológica do intestino médio de <i>A. mellifera</i> africanizadas após diferentes suplementações. Fotomicrografia do ventrículo de rainhas <i>A. mellifera</i> . A-B. T1 (Controle); C. T2 (Suplementação Comercial I); D. T3 (Suplementação Comercial II); E-F. T4 (Suplementação Fermentado). Epitélio (Ep), Lâmina basal (lb), musculatura (m), Lúmen (L), Células digestivas (cd), Ninhos de regeneração (ni), Núcleo (n), Microvilosidades (mi), Traqueia (T), Secreção (S), Protusões citoplasmáticas apicais (→). Coloração hematoxilina-eosina. Escala 100µm.....	26

RESUMO

O fornecimento de uma suplementação proteica para colônias de abelhas auxiliará na nutrição, no desenvolvimento e na produção com o intuito de avaliar o desenvolvimento das colônias. Suplementar as colônias em períodos de escassez de alimento ajudará a manter a população de abelhas para a chegada da florada. Quando disponibilizado alimento na natureza terá como objetivo atrair as nutrizes para seu consumo, evitando o deslocamento das campeiras e maior trabalho das abelhas que estão exercendo suas atividades dentro da colônia. O objetivo desta pesquisa foi avaliar a produção de rainhas africanizadas recebendo suplementações proteicas, sendo uma das suplementações fermentado. Foram utilizadas 16 colônias do tipo minirrecria e a técnica de transferência empregada foi a transferência dupla. As rainhas avaliadas foram provenientes de três ciclos de produção. Os parâmetros avaliados foram: peso das rainhas à emergência, características morfométricas e histológicas e o consumo de suplemento pelas colônias. Após exposição oral aos tratamentos foi verificado que houve diferença entre os grupos experimentais quando avaliando as medidas morfométricas e peso. Houve diferença no consumo da suplementação e os tratamentos que receberam suplementação fermentado apresentaram diferenças significativa na contagem de ovariolos.

Palavras-chave: *Apis mellifera*, intestino médio, nutrição, ovário, peso

ABSTRACT

The provision of protein supplementation for bee colonies will assist in nutrition, development and production in order to assess the colonies development. Supplementing colonies during periods of food shortage will help to keep the bee population ready for when flowering to arrive. When food is available in the wild it will aim to attract the nursing mothers for their consumption, avoiding the pennants displacement and higher work of bees that are exercising their activities within the colony. The objective of this research was to evaluate the production of Africanized queens receiving protein supplements, one of which is fermented. 16 mini-breeding colonies were used and it was used the double transfer technique. The evaluated queens came from three production cycles. The parameters evaluated were: queens' weight at emergence, morphometric and histological characteristics and supplement consumption by the colonies. After oral exposure to treatments, it was found that there was a difference between the experimental groups when evaluating the morphometric measures and weight. There was a difference in the supplementation intake and treatments that received fermented supplementation showed significant differences in the ovarioles count.

Keywords: *Apis mellifera*, midgut, nutrition, ovary, weight

1. INTRODUÇÃO

A rainha é a abelha responsável por todas as características da colônia, sua produtividade e sobrevivência (Lee et al., 2019). O seu período reprodutivo está relacionado com o tempo de vida, podendo permanecer na colônia enquanto possuir óvulos e espermatozoides suficientes para manter a população de operárias, quando ocorre a redução essa rainha será substituída (Kocher e Grozinger, 2011).

A produção de rainhas visa a substituição das rainhas velhas por novas com o intuito de melhorar o desempenho das colônias, optando por características que devem ser melhor expressadas (Cobey et al., 2013). A qualidade da rainha está diretamente ligada a várias características físicas como: peso a emergência, comprimento, número de ovariolos, tamanho da spermateca, número de espermatozoides armazenados, entre outros (Delaney et al., 2011; Hatjina et al., 2014). A idade das larvas transferidas pode afetar essas características físicas, tornando fator importante para melhor obtenção de resultados (Tarpy et al., 2000).

As necessidades nutricionais das abelhas são supridas por meio da coleta de pólen, néctar e água, os quais são fundamentais para a manutenção das crias, desenvolvimento, crescimento e fortalecimento da colônia (Batista et al., 2018). As abelhas, assim como outros animais de produção, apresentam necessidades de nutrientes que são responsáveis por auxiliar no desenvolvimento e potencializar a reprodutividade, quando essas exigências não são atendidas a reprodução é uma das primeiras características a ser prejudicada (Pires et al., 2016).

O fornecimento de uma suplementação é essencial para a manutenção e desenvolvimento das colônias em períodos de escassez ou ausência de floradas, com o intuito de evitar o enfraquecimento e o abandono das abelhas, auxiliando no

crescimento e na produção das colônias (Dolezal e Toth, 2018). Ao proporcionar suplementação a colônia em produção pode ser influenciada na qualidade das larvas transferidas, conseqüentemente na qualidade da rainha, pelas propriedades do alimento recebido (Brodschneider e Crailsheim, 2010). A suplementação proteica de colônias contribui para melhor aceitação das larvas transferidas para produção, tornando de grande importância para os produtores (Sereia et al., 2013).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Alimentação e desenvolvimento da colônia

As abelhas africanizadas apresentam desempenho superior às abelhas europeias, por possuírem rápida adaptação, alta produtividade, desenvolvimento populacional, maior capacidade de identificação de fontes de alimentos, rusticidade, resistência a doenças e eficiência polínica. Além disso, são as responsáveis pelo desenvolvimento apícola do país (Santos e Mendes, 2016).

O desenvolvimento da colônia é reflexo das qualidades presentes na rainha, que é responsável pela variação da população, de acordo com a sua capacidade reprodutiva e de adaptação as diferentes condições ambientais. Dessa forma, uma rainha de qualidade com capacidade para deposição de muitos ovos, conseqüentemente resultará em uma colônia populosa (Bienefeld et al., 2007).

O alimento necessário para o desenvolvimento das abelhas é obtido por meio das coletas realizadas em diferentes flores disponíveis na natureza (Winston, 2003). Tanto as larvas quanto os indivíduos adultos são altamente dependentes dos estoques de alimentos depositados nas colônias (Brodschneider e Crailsheim, 2010). As abelhas adultas podem adaptar suas estratégias de forrageamento ou de cuidados gerais, de acordo com a respectiva necessidade e suprimento de carboidratos e proteínas (Vaudo et al., 2015).

O néctar é a fonte energética, fornece os carboidratos que são convertidos em mel e armazenados nos favos, consumido posteriormente fornece energia para o desenvolvimento das atividades de crescimento da colônia. O pólen coletado das flores

é a fonte proteica necessária para o desenvolvimento, que supre as necessidades de aminoácidos, lipídios, minerais e vitaminas (Nagai et al., 2005).

Havendo maior necessidade de proteína as atividades de busca de pólen aumentarão (Carroll et al., 2017). Ao contrário, pode acontecer quando as condições ambientais não forem propícias ao forrageamento, as operárias reduzem a demanda de proteína por meio do canibalismo das larvas mais novas e concentram suas atividades de nutrição nas larvas mais velhas (Pires et al., 2016).

A alimentação das larvas de abelhas operárias e de zangões, até o terceiro dia de vida, e da rainha durante toda a vida larvária e adulta é realizada pela secreção de geleia real em pequenas quantidades, pelas glândulas hipofaríngeas e mandibulares que estão localizadas na cabeça das operárias (Haydak, 1970). Para sua produção as abelhas necessitam ingerir carboidratos, vitaminas, ácidos graxos, minerais, aminoácidos essenciais, que estão contidos no pólen e néctar obtidos na natureza (Herbert Jr., 1997).

Quando coletado, o pólen é transportado até a colônia e é armazenado recebendo as enzimas responsáveis para a sua fermentação (Komosinska-Vassev et al., 2015). Após a fermentação, agora pão da abelha ou "*bee bread*", é utilizado pelas abelhas para o seu desenvolvimento glandular, produção de geleia real e para alimentação das larvas misturando com mel (Nogueira-Couto e Couto, 2006). O pólen é coletado de acordo com a necessidade da colônia e dependendo da sua disponibilidade as abelhas irão coletar mais gerando feedback positivo, e a rainha irá aumentar sua carga de postura fazendo com que a colônia cresça e se desenvolva (Fewell e Winston, 1992).

A diversidade botânica é de extrema importância para suprir as necessidades das abelhas, além de ser a responsável pela quantidade e qualidade do pólen coletado pela disponibilidade de flores, estações, diversidade (Domínguez-Valhondo et al., 2011; Wright et al., 2018) e outros fatores como os ambientais.

2.2 Fatores ambientais

Os fatores ambientais afetam diretamente a disponibilidade de recursos para as abelhas e conseqüentemente o número de operárias, o aspecto produtivo e reprodutivo das colônias (Polce et al., 2014; Miller-Struttman et al., 2015). A produção de alimentos está ligada e depende de polinizadores, como as abelhas para ocorrer a polinização da maioria das culturas (Aizen e Harder, 2009).

Toledo e Mouro (2005) constataram que as variáveis ambientais estudadas durante o período de realização do experimento, a temperatura externa máxima e a umidade relativa do ar interferiram positivamente auxiliando no aumento da produção de geleia real enquanto a precipitação pluviométrica influenciou negativamente. Schafaschek et al. (2016) averiguaram que as variáveis climáticas influenciaram nos parâmetros de desenvolvimentos das colônias, a umidade favoreceu no armazenamento de mel pelas operárias adaptadas com o clima e que foram selecionadas para essa atividade e as rainhas selecionadas para produção de geleia real apresentaram maior área de crias operculadas.

Awad et al. (2017) em estudos com as subespécies *Apis mellifera jemenitica* e *Apis mellifera carnica* no deserto subtropical na Arábia Central, constataram que os produtores precisam selecionar abelhas que consigam manter suas populações e que produzam mel de forma a se adaptarem aos fatores climáticos e as características das forragens ali disponíveis, de acordo com a época do ano.

A necessidade das abelhas de se adaptarem as mudanças climáticas e a indisponibilidade de recursos é um problema que vem crescendo a cada dia (Ogilvie et al., 2017). A necessidade da utilização de suplementação para auxiliar essa falta de recursos está sendo trabalhada cada vez mais para auxiliar no desenvolvimento das colônias e ganho do produtor (Requier et al., 2019).

2.3 Suplementação das colônias

Quando as fontes que ofertam pólen são escassas e não há outro recurso disponível, as abelhas recorrem a metabolização do próprio tecido corporal, fonte de reserva, para prolongar sua própria vida (Haydak, 1970). A suplementação artificial durante o período de ausência de pólen na natureza ajuda a manter a vitalidade das colônias evitando o desenvolvimento inadequado de glândulas hipofaringeanas, redução da longevidade, desequilíbrio entre a emergência e a mortalidade, redução da distância percorrida para coleta de alimento e resistência a doenças (Keller et al., 2005).

As colônias alimentadas no período de escassez ou ausência de alimento no início da florada serão populosas e fortes. Ao contrário acontece quando não recebem manejo e alimento adequado (Flores et al., 2018), podendo até acarretar perda e morte de colônias, além da queda na produtividade. A suplementação é essencial para a

manutenção e desenvolvimento, auxilia no crescimento evitando assim o enfraquecimento e o abandono quando comparadas com as colônias que não receberam devida conservação (Dolezal e Toth, 2018).

O fornecimento de suplementos proteicos direcionados ao desenvolvimento e produção da colônia para evitar os prejuízos no período de escassez de pasto apícola é recomendado (Requier et al., 2019). Schafaschek et al. (2008) constataram que a suplementação interferiu no armazenamento de mel e pólen pelas colônias suplementadas, mas não no desenvolvimento precoce. Nessa perspectiva, Sereia et al. (2013) após fornecerem seis diferentes suplementações para as colônias recomendaram a suplementação preparada com mistura de óleo de palma, de linhaça, proteína isolada de soja e levedo de cerveja para a produção de geleia real em escala comercial, por aumentar a produção e ter contribuído para a melhor aceitação das transferências de larvas. Com o intuito de oferecer uma suplementação que tivesse características parecidas as do pão da abelha, Lima et al. (2020) desenvolveu um suplemento fermentado que auxiliou em menor consumo e maior longevidade das abelhas.

Para obtenção de bons resultados, além de suplementar é preciso selecionar o material genético que melhor responde as produções. Com isso, os programas de melhoramento buscam selecionar os melhores indivíduos para serem utilizados como matrizes para as próximas gerações (Rinderer, 2008) e vem sendo uma ferramenta que se destaca em todos os setores de produção (Widdicombe, 2015).

O desenvolvimento de materiais para serem utilizados Costa-Maia et al. (2011) obtiveram como resultados alta herdabilidade para peso a emergência, comprimento e largura do abdômen e comprimento de asa. Faquinello et al. (2011) observaram que há potencial de seleção para produção de geleia real com bases nas características citadas anteriormente.

Uma alimentação suplementar auxilia no crescimento populacional, atua na longevidade das abelhas e exerce melhora da fisiologia, tornando uma opção para obter melhor resultado (Zheng et al., 2014). Sendo possível obter rainhas de maior qualidade fornecendo suplemento para seu desenvolvimento (Souza, 2019).

2.4 Produção de rainhas africanizadas

A produção de rainhas vem da precisão de gerar novas colônias, de efetuar a substituição de rainhas velhas por rainhas jovens, da necessidade de obtenção de material genético selecionado para melhor produção e maior ganho (Snelgrove, 2008). Do ponto de vista comercial, produtores criam e comercializam rainhas virgens e fecundadas, difundindo e auxiliando na melhoria de determinadas características genéticas e reduzindo a consanguinidade (Martinez e Soares, 2012). Assim, características genéticas tendem a melhorar a produtividade da colônia (Costa-Maia et al., 2011).

A produção de rainhas é uma atividade importante, que exige conhecimento e dedicação (Dolasevic et al., 2019). Existem vários métodos de transferências que foram desenvolvidos e praticados por anos, sendo hoje o mais utilizado o método de produção de rainhas descrito por Dollittle (1889), que consiste em transferir larvas de operárias de um dia dos favos de crias para cúpulas artificiais.

Buscar formas de aperfeiçoar a técnica de transferência aliando com outros fatores para se obter novos resultados. Entre eles o desenvolvimento de materiais para serem utilizados nas transferências, diâmetros de cúpulas variáveis, seleção de matrizes para doações e recepção de larvas, tamanhos de larvas para a transferência, utilização de geleia real, água de coco e outros para a recepção das larvas e a suplementação das colônias com o objetivo de melhorar as características das rainhas produzidas (Dhaliwal et al., 2015; Pereira et al., 2015).

Uchôa et al. (2012) descreveram que existe alta semelhança entre o peso da rainha a emergência em relação a produção de mel, podendo utilizar essa variável como parâmetro de seleção em produção de rainhas para aumento na produtividade. Alqarni et al. (2013) encontraram diferenças morfológicas e reprodutivas em rainhas de *Apis mellifera jemenitica* e *Apis mellifera carnica* na Arábia Saudita, sendo que a primeira subespécie é endêmica e possivelmente suas características reprodutivas permitiram melhor adaptação às condições locais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aizen, M. A. e Harder, L. D. 2009. The global stock of domesticated honey bees is growing slower than agricultural demand for pollination. *Current Biology*, 19 (11), 915-918. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2009.03.071>
- Alqarni, A. S.; Balhareth, H. M. e Owayss, A. A. 2013. Queen morphometric and reproductive characters of *Apis mellifera jemenitica*, a native honey bee to Saudi Arabia. *Bulletin of Insectology*, 66 (2), 239-244.
- Awad, A. M.; Owayss, A. A. e Alqarni, A. S. 2017. Performance of two honey bee subspecies during harsh weather and *Acacia gerrardii* nectar-rich flow. *Scientia Agricola*, 74 (6), 474-480. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-992x-2016-0101>
- Batista, M. D. C. S.; Pessoa, R. M. S.; Gois, G. C.; Silva, A. A. F.; Lima, C. A. B. e Cunha, D. S. 2018. Alimentação das abelhas: revisão sobre a flora apícola e necessidades nutricionais. *Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management*, 14 (1), 62-72.
- Bienefeld, K.; Ehrhardt, K. e Reinhardt, F. 2007. Genetic evaluation in the honey bee considering queen and worker effects - A BLUP - Animal Model approach. *Apidologie*, 38 (1), 77-85. DOI: 10.1051/apido:2006050
- Brodtschneider, R. e Crailsheim, K. 2010. Nutrition and health in honey bees. *Apidologie*, 41 (1), 278-294. DOI: <https://doi.org/10.1051/apido/2010012>
- Carroll, M. J.; Brown, N.; Goodall, C.; Downs, A. M.; Sheenan, T. H. e Anderson, K. E. 2017. Honey bees preferentially consume freshly-stored pollen. *Plos One*, 12 (4), 1-21. doi.org/10.1371/journal.pone.0175933
- Cobey, S. W.; Tarpy, D. R. e Woyke, J. 2013. Standard methods for instrumental insemination of *Apis mellifera* queens. *Journal of Apicultural Research*, 52 (4), 1-18. [doi:10.3896/IBRA.1.52.4.09](https://doi.org/10.3896/IBRA.1.52.4.09)
- Costa-Maia, F. M.; Toledo, V. A. A.; Martins, E. N.; Lino-Lourenço, D. A.; Sereia, M. J.; Oliveira, C. A. L.; Faquinello, P. e Halak, A. L. 2011. Estimates of covariance components for hygienic behavior in Africanized honeybees (*Apis mellifera*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, 40 (9), 1909-1916. [doi:10.1590/S1516-35982011000900010](https://doi.org/10.1590/S1516-35982011000900010)

- Delaney, D. A.; Keller, J. J.; Caren, J. R. e Tarpy, D. R. 2011. The physical, insemination and reproductive quality of honey bee queens (*Apis mellifera* L.). *Apidologie*, 42 (1), 1-13. doi:10.1051/apido/2010027
- Dhaliwal, N. K; Singh, J. e Chhuneja, P. K. 2015. Weight of *Apis mellifera* queen bees reared from different development stages of brood. *Journal of Experimental Zoology*, 19 (1), 397-399.
- Dolasevic, S.; Stevanovic, J.; Aleksic, N.; Glavinic, U.; Deletic, N.; Mladenovic, M. e Stanimirovic, Z. 2019. The effect of diet types on some quality characteristics of artificially reared *Apis mellifera* queens. *Journal of Apicultural Research*, 1-19. doi.org/10.1080/00218839.2019.1673965
- Dolezal, A. G. e Toth, A. L. 2018. Feedbacks between nutrition and disease in honey bee health. *Current Opinion in Insect Science*, 26 (1), 1-6. doi.org/10.1016/j.cois.2018.02.006
- Domínguez-Valhondo, D.; Gil, D. B.; Hernández, M. T. e Gonzalez-Gomez, D. 2011. Influence of the commercial processing and floral origin on bioactive and nutritional properties of honeybee-collected pollen. *International Journal of Food Science and Technology*, 46 (10), 2204-2211. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2011.02738.x
- Doolittle, G. M. 1889. Later methods of rearing queens. p.35-45. In: *Scientific queen rearing*. Thomas G. Newman e Son, Chicago.
- Faquinello, P.; Toledo, V. A. A.; Martins, E. N.; Oliveira, C. A. L.; Sereia, M. J.; Costa-Maia, F. M. e Ruvolo-Takasusuki, M. C. C. 2011. Parameters for royal jelly production in Africanized honeybees. *Sociobiology*, 57 (3), 495-509.
- Fewell, J. H. e Winston, M. L. 1992. Colony state and regulation of pollen foraging in the honey bee, *Apis mellifera* L. *Behavioral Ecology e Sociobiology*, 30 (6), 387-393.
- Haydak, M. H. 1970. Honey bee nutrition. *Annual Review of Entomology*, 15 (1), 143-156.
- Hatjina, F.; Bieńkowska, M.; Charistos, L.; Chlebo, R.; Costa, C.; Dražić, M. M.; Filipi, J.; Gregorc, A.; Ivanova, E. N.; Kezić, N.; Kopernicky, J.; Kryger, P.; Lodesani, M.; Lokar, V.; Mladenovic, M.; Panasiuk, B.; Petrov, P. P.; Rašic, S.; Skerl, M. I. S.; Vejsnæs, F. e Wilde, J. 2014. A review of methods used in some European countries for assessing the quality of honey bee queens through their physical characters and the performance of their colonies. *Journal of Apicultural Research*, 53 (3), 337-363. DOI:10.3896/IBRA.1.53.3.02
- Herbert Jr., E. W. 1997. Honey bee nutrition. In: *The hive and the honeybee*. p.197-233. Graham, J. M. (Ed.). Hamilton: Dadant and Sons.
- Keller, I.; Fluri, P. e Imdorf, A. 2005. Pollen nutrition and colony development in honey bees: part 1. *Bee World*, 86 (1), 3-10. doi.org/10.1080/0005772X.2005.11099641

- Kocher, S. D. e Grozinger, C. M. 2011. Cooperation, conflict, and the evolution of queen pheromones. *Journal of Chemical Ecology*, 37(1) 1263-1275. DOI:10.1007/s10886-011-0036-z.
- Komosinska-Vassev, K.; Olczyk, P.; Kaźmierczak, J.; Mencner, L. e Olczyk, K. 2015. Bee pollen: chemical composition and therapeutic application. Hindawi Publishing Corporation. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, <http://dx.doi.org/10.1155/2015/297425>
- Lee, K. V.; Goblirsch, M.; Mcdermott, E.; Tarpy, D. R. e Spivak, M. 2019. Is the brood pattern within a honey bee colony a reliable indicator of queen quality? *Insects*, 10 (12), 1-17. DOI: 10.3390/insects10010012.
- Lima, E. G.; Parpinelli, R. S.; Santos, P. R.; Azevedo, A. S. B.; Sereia, M. J. e Toledo, V. A. A. Optimization of protein feed fermentation process for supplementation of *Apis mellifera* honeybees. 2020. *Journal Of Apicultural Science*, DOI: 10.2478/JAS-2020-0001
- Martinez, O. A. e Soares, A. E. E. 2012. Melhoramento genético na apicultura comercial para produção da própolis. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 13 (4), 982-990. <http://dx.doi.org/10.1590/S1519-99402012000400006>
- Medina Flores, C. A.; Guzman Novoa, E.; Saldivar Frausto, S. e Aguilera Soto, J. 2018. Efecto de tres dietas energético-proteicas en la población y producción de miel de colonias de abejas melíferas (*Apis mellifera*). *Nova Scientia*, 10 (20), 1-12. <dx.doi.org/10.21640/ns.v10i20.1110>
- Miller-Struttman, N. E.; Geib, J. C.; Franklin, J. D.; Kevan, P. G.; Holdo, R. M.; Ebert-May, D.; Lynn, A. M.; Kettenbach, J. A.; Hedrick, E. e Galen, C. 2015. Functional mismatch in a bumble bee pollination mutualism under climate change. *Science*, 349 (6255), 1541-1544. DOI: 10.1126/science.aab0868
- Nagai, T.; Nagashima, T.; Suzuki, N. e Inoue, R. 2005. Antioxidant activity and angiotensin I-converting enzyme inhibition by enzymatic hydrolysates from bee bread. *Zeitschrift fur Naturforschung*, 60(1-2), 133-138. doi: 10.1515/znc-2005-1-224
- Nogueira-Couto, R. H. e Couto, L. A. 2006. Apicultura: Manejo e produtos. Jaboticabal: FUNEP.
- Ogilvie, J. E.; Griffin, S. R.; Gezon, Z. J.; Inouye, B. D.; Underwood, N.; Inouye, D. W. e Irwin, R. E. 2017. Interannual bumble bee abundance is driven by indirect climate effects on floral resource phenology. *Ecology Letters*, 20 (12), 1507-1515. <https://doi.org/10.1111/ele.12854>
- Pereira, D. S.; Paiva, C. S.; Mendes, A. R. A.; Batista, J. S. e Maracajá, P. B. 2015. Produção de geleia real por abelhas africanizadas em Mossoró, Rio Grande do Norte, Brasil. *HOLOS*, 31 (6), 77-89. DOI: 10.15628/holos.2015.1478

- Pires, C. S. S.; Pereira, F. M.; Lopes, M. T. R.; Nocelli, R. C. F.; Malaspina, O.; Pettis, J. S. e Teixeira, E. W. 2016. Enfraquecimento e perda de colônias de abelhas no Brasil: há casos de CCD? Pesquisa Agropecuária Brasileira, 51 (5), 422-442. DOI: 10.1590/S0100-204X2016000500003
- Polce, C.; Garratt, M. P.; Termansen, M.; Ramirez-Villegas, J.; Challinor, A. J.; Lappage, M. G.; Boatman, N. D.; Crowe, A.; Endalew, A. M.; Potts, S. G.; Somerwill, K. E. e Biesmeijer, J. C. 2014. Climate-driven spatial mismatches between British orchards and their pollinators: increased risks of pollination deficits. Global Change Biology, 20 (9), 2815-2828. <https://doi.org/10.1111/gcb.12577>
- Requier, F.; Jowanowitsch, K. K.; Kallnik, K. e Steffan-Dewenter, I. 2019. Limitation of complementary resources affects colony growth, foraging behavior, and reproduction in bumble bees. Ecology, 101 (3), 1-11. <https://doi.org/10.1002/ecy.2946>
- Rinderer, T. E. 2008. Bee genetics and breeding. New York, NY: Academic Press.
- Santos, A. M. M. e Mendes, E. C. 2016. Abelha africanizada (*Apis mellifera* L.) em áreas urbanas no Brasil: necessidade de monitoramento de risco de acidentes. Sustinere, 4 (1), 117-143. DOI: <http://dx.doi.org/10.12957/sustinere.2016.24635>
- Schafaschek, T. P.; Padilha, M. T. S.; Santos, I. I.; Padilha, J. C. F. e Braga, F. E.; 2008. Efeito da suplementação alimentar sobre as características produtivas e reprodutivas de *Apis mellifera* Linnaeus, 1758. Biotemas, 21 (4), 99-104. <https://doi.org/10.5007/2175-7925.2008v21n4p99>
- Schafaschek, T. P.; Hickel, E. R.; Pereira, H. L.; Oliveira, C. A. L. e Toledo, V. A. A. 2016. Performance of Africanized honeybee colonies settled by queens selected for different traits. Acta Scientiarum. Animal Sciences, 38 (1), 91-100. <https://dx.doi.org/10.4025/actascianimsci.v38i1.26840>
- Sereia, M. J.; Toledo, V. A. A.; Furlan, A. C.; Faquinello, P.; Costa-Maia, F. M. e Wielewski, P. 2013. Alternative sources of supplements for Africanized honeybees submitted to royal jelly production. Acta Scientiarum. Animal Sciences, 35 (2), 165-171. DOI:10.4025/actascianimsci.v35i2.16976
- Snelgrove, L. E. 2008. Importance of queen-rearing. p.15-18. Queen rearing. Northern Bee Books. West Yorkshire, UK.
- Souza, D. A.; Huang, M. H. e Tarpy, D. R. 2018. Experimental improvement of honey bee (*Apis mellifera*) queen quality through nutritional and hormonal supplementation. Apidologie. <https://doi.org/10.1007/s13592-018-0614-y>
- Tarpy, D. R.; Hatch, S. e Fletcher, D. J. C. 2000. The influence of queen age and quality during queen replacement in honeybee colonies. Animal Behaviour, 59 (1), 97-101. doi:10.1006/anbe.1999.1311

- Toledo, V. A. A. e Mouro, G. F. 2005. Produção de geleia real com abelhas africanizadas selecionadas e cárnicas híbridas. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 34 (6), 2085-2092. <https://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982005000600034>
- Uchôa, F. A. B.; Souza, D. C.; Alves, A. A.; Silva, F. A. S.; Moura, J. A.; Nunes, J. R. A.; Maracajá, P. B.; Lima, J. C. e Sousa, J. S. 2012. Effect of weight of Africanized queens (*Apis mellifera* L.) at birth in honey production in semi-arid Piauiense. *Agropecuária Científica no Semiárido*. 8 (1), 1-6.
- Vaudo, A. D.; Tooker, J. F.; Grozinger, C. M. e Patch, H. M. 2015. Bee nutrition and floral resource restoration. *Current Opinion in Insect Science* 10 (1), 133-141. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cois.2015.05.008>
- Widdicombe, J. 2015. The principles of bee improvement. Northern Bee Books. Mytholmroyd, WY.
- Winston, M. L. 2003. A biologia da abelha. Porto Alegre. Magister.
- Wright, G. A.; Nicolson, S. W. e Shafir, S. 2018. Nutritional physiology and ecology of honey bees. *Annual Review of Entomology*, 63 (1), 327-344. doi:10.1146/annurev-ento-020117-043423
- Zheng, B.; Wu, Z. e Xu, B. 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(1), 1-7. doi: 10.1093/jisesa/ieu053

CAPÍTULO 2 - ARTIGO CIENTÍFICO

Artigo redigido segundo as normas da revista científica: Journal of Apicultural Research

**SUPLEMENTAÇÃO PROTEICA NA PRODUÇÃO DE
RAINHAS AFRICANIZADAS**

**PROTEIN SUPPLEMENTATION IN THE AFRICANIZED
QUEENS BEES PRODUCTION**

RESUMO

Esse estudo foi realizado para avaliar se o fornecimento de suplementação proteica influenciou na aceitação das rainhas, medidas morfométricas, número de ovariolos e intestino médio das rainhas *Apis mellifera* produzidas. As colônias destinadas à produção de rainha foram sorteadas e compuseram quatro grupos: T1: controle; T2: suplementação comercial I; T3: suplementação comercial II e T4: suplementação fermentado. Houve diferença estatística ($p < 0,05$) para algumas características analisadas como: peso para a emergência, comprimento do abdômen, da asa e total, largura do tórax e do abdômen e número de ovariolos. Houve diferença significativa ($p < 0,05$) quando comparado o consumo entre os suplementos. E as colônias que receberam o suplemento fermentado apresentaram melhores resultados, podendo inferir que o suplemento auxilia na maior quantidade e na eficiência produtiva das rainhas.

Palavras chave: abelha rainha, morfometria, produção, ovariolos, suplementação

ABSTRACT

This study was carried out to assess whether the protein supplementation supply influenced the queens acceptance, morphometric measurements, ovarioles number and midgut of the produced *Apis mellifera* queens. The colonies destined for queen production were selected and made up four groups: T1: control; T2: commercial supplementation I; T3: commercial supplementation II and T4: fermented supplementation. There was a statistical difference ($p < 0.05$) for some characteristics analyzed, such as: emergency weight, abdomen, wing and total length, chest and abdomen width and ovarioles number. There was a significant difference ($p < 0.05$) when comparing consumption between supplements. And the colonies that received the fermented supplement showed better results, and it can be inferred that the supplement helps in the higher quantity and in queens productive efficiency.

Keywords: queen bees, morphometry, production, ovarioles, supplementation

INTRODUÇÃO

A produção de rainhas em escala comercial consiste em selecionar visualmente as larvas mais jovens para transferência, gerando rainhas de alta qualidade (Tarpy et al., 2012; Rangel et al., 2013). Uma rainha selecionada auxiliará em melhor produção e maior ganho para a colônia e a influência pode ser observada quanto ao seu desenvolvimento e desempenho (Bienefeld et al., 2007; Wu et al., 2018; Stanimirović et al., 2019). A produção está diretamente ligada a qualidade e a performance da rainha, entretanto, quando a rainha não gera influência nas atividades da colônia as operárias podem mantê-la ou substituí-la (Rangel et al., 2016).

As características físicas que afetam a qualidade da rainha podem ser influenciadas por fatores como o período do ano, genótipo, alimentação, idade das larvas transferidas, métodos de transferências e outros (Uçak Koç e Karacaoğlu, 2011; Njeru et al., 2017). A idade larval influenciará na qualidade da rainha, quanto mais jovem a larva transferida melhores serão as características apresentadas pela nova rainha (Okuyan e Akyol, 2018).

Para o desenvolvimento da colônia, além da seleção e troca de rainhas, uma nutrição adequada é de extrema importância (Brodschneider e Crailsheim, 2010; Souza et al., 2019), sendo o pólen o alimento essencial e responsável pelo crescimento e saúde da colônia (Winston, 2003; Di Pasquale et al., 2013). Dessa forma, em alguns casos, faz-se necessário o fornecimento de uma suplementação de acordo com as exigências nutricionais das abelhas e buscando sempre aproximar ao máximo do seu alimento natural, o pão da abelha que é a sua principal fonte alimentar (Brodschneider e Crailsheim, 2010).

Em geral a alimentação suplementar para abelhas está fundamentada em fornecer fontes energéticas e proteicas, de acordo com a necessidade das colônias, auxiliando no seu desenvolvimento e manutenção em períodos de escassez de alimento (Flores et al.,

2018). A suplementação das colônias auxilia na melhor aceitação das larvas transferidas, peso a emergência e a melhora das características reprodutivas das rainhas como a quantidade de ovariolos e tamanho da espermateca (Cengiz et al., 2019). É possível obter rainhas de maior qualidade fornecendo suplemento para seu desenvolvimento (Souza, 2019).

O objetivo desta pesquisa foi fornecer as colônias suplementos proteicos para verificar a influência e o efeito do suplemento sobre as qualidades da rainha. Foi avaliado se a suplementação interferiu na aceitação das rainhas, nas medidas morfométricas, no número de ovariolos e no intestino médio das rainhas produzidas.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento ocorreu de maio a setembro de 2019, no setor de Apicultura da Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI), da Universidade Estadual de Maringá (UEM), Maringá, Paraná, Brasil. Foram utilizadas 16 colônias de abelhas *Apis mellifera* africanizadas em sistema de minirrecria como colônia iniciadora-terminadora.

O sistema de minirrecria é constituído por dois núcleos, os quais são compostos por cinco favos. O núcleo inferior composto por favos de crias em vários estágios de desenvolvimento, alimento e favo vazio para que a rainha efetue postura e o núcleo superior com favos de crias abertas e operculadas, alimento (mel e pólen) e quadro porta cúpulas contendo 45 cúpulas artificiais de acrílico modelo JZsBZs®. Os núcleos foram separados por tela excludora de rainha para as transferências.

As colônias experimentais tiveram suas rainhas velhas substituídas, para fim de padronização, por rainhas filhas provenientes de colônias matrizes avaliadas para marcadores moleculares MRJP3 para produção de geleia real e selecionadas desde 2003 (Baitala et al., 2010; Parpinelli et al., 2014). As rainhas filhas produzidas foram selecionadas e avaliadas visualmente para problemas morfológicos aparentes e com peso após emergência superior a 180mg.

Precedendo a introdução das rainhas, as colônias experimentais foram previamente orfanadas 24 horas e as rainhas virgens foram identificadas no tórax com placas de marcação para garantir sua identificação e sua localização durante os manejos. Foi realizado o acompanhamento da aceitação, do acasalamento e a confirmação de postura das rainhas introduzidas. Após 60 dias da introdução da nova rainha, as colônias

receberam tela excluidora e demais manejos para a formação da minirrecria e assim dar início ao experimento com diferentes suplementações na produção de rainhas.

O processo de produção ocorreu em três ciclos de rainhas e as colônias foram submetidas ao manejo de favos, ou reforma da minirrecria, 48h antes das transferências de larvas para evitar estresse. O manejo consistiu em remanejar favos com crias e alimento do núcleo inferior para o núcleo superior e propiciar favos vazios para que a rainha possa continuar suas atividades de postura.

O método de transferência de larvas utilizado foi o descrito por Doolittle (1889), que consiste em transferir larvas de um dia de vida dos favos de cria selecionados para cúpulas artificiais de acrílico. Para realizar a transferência simples cada cúpula recebeu geleia real diluída em água destilada em uma proporção de 1:1.

Após 24 horas foram efetuadas novas transferências de larvas apenas para as cúpulas aceitas, conhecida como transferência dupla descrito por Camargo (1972). As rainhas provenientes dessa técnica são, em geral, maiores que as produzidas, a partir da transferência simples, devido a quantidade de geleia real recebida. Todas as colônias receberam após a transferência simples e dupla, suplementação energética na concentração de 1:1 na quantidade de 600mL.

Após nove dias da transferência, os quadros com as realeiras foram retirados individualmente das colônias e transportados para o laboratório. As realeiras foram removidas e alocadas em frascos de vidro de 20mL com suporte de papel para a locomoção da rainha após a emergência. Os frascos foram identificados por tratamento.

As realeiras foram mantidas em estufa B.O.D com temperatura $34^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade $60\% \pm 10\%$. As emergências das rainhas foram acompanhadas, sendo realizada as anotações de horário da emersão, peso e medidas morfométricas. As rainhas recém-emergidas foram anestesiadas com gás carbônico (CO_2) e pesadas (mg) com a utilização de balança analítica digital de precisão de 0,0001g.

As medidas morfométricas foram realizadas utilizando paquímetro digital, sendo avaliadas: comprimento de asa anterior direita (mm), comprimento e largura de tórax (mm), comprimento e largura de abdômen (mm) e comprimento total (mm).

Suplementações

As colônias em experimento receberam suplementação antes das transferências como processo de adaptação para que se pudesse observar durante o período de coleta

de dados a aceitação do suplemento. O fornecimento foi realizado entre os núcleos, na parte central dos favos, sendo ofertado a cada três dias.

Os tratamentos experimentais utilizados foram compostos por quatro repetições, divididos em:

1. Controle (T1);
2. Suplementação Comercial I (T2);
3. Suplementação Comercial II (T3);
4. Suplementação Fermentado (T4).

Foram utilizados três suplementos proteicos (Tabela 1), sendo dois comerciais (Comercial I e Comercial II) e um terceiro suplemento fermentado, tendo como base o suplemento desenvolvido por Sereia et al. (2013), com modificações de Lima et al. (2020) e com adaptações no processo final de produção, sendo substituído a liofilização por secagem em estufa de circulação até o atingir um aspecto pastoso.

Tabela 1. Composição e disponibilidade dos nutrientes na suplementação fornecida para a produção de rainhas africanizadas durante o experimento.

Componentes	Comercial I	Comercial II	Fermentado
MS%	66,13	81,48	68,69
MM% MS	4,01	1,10	2,86
EE% MS	12,28	5,09	5,83
PB% MS	31,85	5,83	29,32
FB%MS	17,99	69,46	30,68

MS: Matéria Seca; MM: Matéria Mineral; EE: Extrato Etéreo; PB: Proteína Bruta; FB: Fibra Bruta.

Avaliação dos ovários e intestino médio

As análises histológicas foram realizadas de acordo com o descrito por Moreira et al. (2018) com adaptações. Rainhas foram sacrificadas a frio e os ovários e intestino médio dissecados em solução salina (0,1M NaCl, 0,1M Na₂HPO₄ e 0,1M KH₂PO₄). As amostras foram fixadas em Bouin aquoso por 12h e desidratadas em série crescente de álcoois (70% - 100%), diafanizadas em xilol e incluídas em parafina e seccionadas em seções transversal e longitudinal a 6µm em micrótomo Leica RM 2250. Posteriormente foram reidratadas e coradas com hematoxilina e eosina (H/E) conforme Junqueira e Junqueira (1983). As análises foram realizadas em microscópio de luz Olympus seguindo a documentação fotográfica.

Análises estatísticas

Inicialmente, empregou-se a análise descritiva. Quanto à suposição de normalidade das variáveis, empregou-se o teste Shapiro-Wilk e para testar a hipótese de homogeneidade de variâncias, aplicou-se o teste de Bartlett. Sendo satisfeita a hipótese de normalidade e homogeneidade de variâncias, utilizou-se a Análise de Variância (ANOVA) para verificar se houve efeito dos tratamentos nas variáveis analisadas individualmente. Para as variáveis o efeito dos tratamentos foi significativo, utilizou-se o Teste de Tukey com o objetivo de identificar quais tratamentos diferiram entre si.

Com a pressuposição de normalidade ou homogeneidade de variâncias violada, empregou-se o método não paramétrico de Kruskal-Wallis e para as variáveis que houve diferenças significativas foi utilizado o Teste de Dunn, para comparações múltiplas com o objetivo de identificar quais tratamentos diferiram entre si. Adotou-se o nível de significância a 5% e as análises estatísticas foram realizadas no software R versão 3.6.0.

RESULTADOS

Quanto à variabilidade, pode-se observar que os três ciclos de produções de rainhas apresentaram diferenças entre os tratamentos para as variáveis observadas individualmente. Com o intuito de verificar se as variáveis de características morfológicas das rainhas em estudo apresentavam normalidade, todas foram analisadas e os resultados estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Teste Shapiro-Wilk para normalidade (valor de p) para o primeiro, segundo e terceiro ciclo de produção avaliados.

Variáveis	Primeiro Ciclo	Segundo Ciclo	Terceiro Ciclo
Peso à emergência	<0,05	0,16	0,36
Largura do Tórax	<0,05	<0,05	0,29
Comprimento do Tórax	<0,05	<0,05	<0,05
Largura do Abdômen	<0,05	<0,05	<0,05
Comprimento do Abdômen	<0,05	<0,05	0,16
Comprimento da Asa	<0,05	<0,05	<0,05
Comprimento Total	<0,05	<0,05	<0,05
Número de Ovariolos	0,18	0,61	0,56
Rainhas Emergentes	0,37	0,20	0,12

Quanto à pressuposição de homogeneidade de variâncias os resultados estão demonstrados na Tabela 3. Pode-se observar que os resultados para o primeiro, segundo

e terceiro ciclo possuem a hipótese de homogeneidade de variâncias entre os tratamentos satisfeita (valor-p >0,05) e as demais variáveis apresentaram valor-p <0,05.

Tabela 3. Teste de Bartlett para homogeneidade de variâncias para o primeiro, segundo e terceiro ciclo de produção avaliados.

Variáveis	Primeiro Ciclo	Segundo Ciclo	Terceiro Ciclo
Peso à emergência	<0,05	0,06	<0,05
Largura do Tórax	0,65	<0,05	0,13
Comprimento do Tórax	0,52	0,14	0,09
Largura do Abdômen	<0,05	0,76	0,53
Comprimento do Abdômen	<0,05	<0,05	0,67
Comprimento da Asa	<0,05	<0,05	<0,05
Comprimento Total	<0,05	<0,05	<0,05
Número de Ovariólos	0,12	0,48	0,77
Rainhas Emergentes	0,88	0,70	0,18

Os resultados para as características que apresentaram hipótese de normalidade aceitas (p <0,05) foram submetidos ao teste de Tukey, sendo estes resultados apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Número de ovariólos, Peso a emergência e Comprimento do Abdômen em rainhas *Apis mellifera* africanizadas para o primeiro, segundo e/ou terceiro ciclo de produção avaliados.

Tratamento	Número de Ovariólos (1º Ciclo)	Valor-p
Comercial II vs. Comercial I	289,8 ^{ab} - 278,4 ^{ab*}	0,87
Controle vs. Comercial I	248,4 ^b - 278,4 ^{ab}	0,24
Fermentado vs. Comercial I	297,4 ^a - 278,4 ^{ab}	0,61
Controle vs. Comercial II	248,4 ^{0b} - 289,8 ^{ab}	0,06
Fermentado vs. Comercial II	297,4 ^a - 289,8 ^{ab}	0,95
Fermentado vs. Controle	297,4 ^a - 248,4 ^b	<0,05
Tratamento	Número de Ovariólos (3º Ciclo)	Valor-p
Comercial II vs. Comercial I	279,2 ^{ab} - 231 ^b	0,11
Fermentado vs. Comercial I	306,6 ^a - 231 ^b	<0,05
Fermentado vs. Comercial II	306,6 ^a - 279,2 ^{ab}	0,45
Tratamento	Peso à emergência (2º Ciclo)	Valor-p
Comercial II vs. Comercial I	0,187 ^b - 0,194 ^{ab}	0,25
Controle vs. Comercial I	0,195 ^{ab} - 0,194 ^{ab}	0,99
Fermentado vs. Comercial I	0,201 ^a - 0,194 ^{ab}	0,26
Controle vs. Comercial II	0,195 ^{ab} - 0,187 ^b	0,28
Fermentado vs. Comercial II	0,201 ^a - 0,187 ^b	<0,05
Fermentado vs. Controle	0,201 ^a - 0,195 ^{ab}	0,38
Tratamento	Comprimento do Abdômen (3º Ciclo)	Valor-p
Comercial II vs. Comercial I	10,66 ^b - 10,67 ^{ab}	0,99
Controle vs. Comercial I	10,94 ^{ab} - 10,67 ^{ab}	0,29
Fermentado vs. Comercial I	10,97 ^a - 10,67 ^{ab}	0,17
Controle vs. Comercial II	10,94 ^{ab} - 10,66 ^b	0,10
Fermentado vs. Comercial II	10,97 ^a - 10,66 ^b	<0,05

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5 % de significância.

Observaram diferenças significativas entre os tratamentos: Fermentado vs Controle e Fermentado vs Comercial I, Fermentado vs Comercial II e Fermentado vs Comercial II (Tabela 4). Para os demais tratamentos comparados entre si não foi observadas diferenças significativas (valor-p >0,05).

Com o intuito de verificar se os efeitos dos tratamentos foram significativos (valor-p <0,05), e considerando as variáveis que tiveram a pressuposição de normalidade e homogeneidade violadas, empregou-se o método não paramétrico de Kruskal-Wallis. Os resultados encontram-se na Tabela 5.

Tabela 5. Método não paramétrico de Kruskal-Wallis.

Variáveis	Primeiro Ciclo	Segundo Ciclo	Terceiro Ciclo
	Valor-p	Valor-p	Valor-p
Peso	<0,05	-	0,49
Largura do Tórax	<0,05	<0,05	-
Comprimento do Tórax	0,10	0,38	0,53
Largura do Abdômen	0,09	<0,05	0,42
Comprimento do Abdômen	<0,05	0,26	-
Comprimento da Asa	<0,05	0,22	0,67
Comprimento Total	<0,05	0,34	0,09

Após a análise pelo método não paramétrico de Kruskal Wallis e submetidos ao teste de Dunn foram observados que não houve diferenças significativas (valor-p <0,05) entre os tratamentos como descrito na Tabela para as variáveis: Peso à emergência, Largura do Tórax, Comprimento do Abdômen, Comprimento da Asa e Comprimento Total no primeiro ciclo (Tabela 6).

E como descrito na Tabela 7 para as variáveis Largura do Tórax e Largura do Abdômen no segundo ciclo. Os demais tratamentos comparados entre si não apresentam diferenças significativas (valor-p >0,05).

Tabela 6. Valor médio das características de Peso à emergência, Largura do Tórax, Comprimento do Abdômen, Comprimento da Asa e Comprimento Total em rainhas *Apis mellifera* africanizadas - Ciclo I.

Tratamentos	Peso à emergência	Valor-p	Largura do Tórax	Valor-p	Comprimento do Abdômen	Valor-p	Comprimento da Asa	Valor-p	Comprimento Total	Valor-p
Comercial II vs. Comercial I	0,191 ^a - 0,185 ^{ab}	0,67	3,733 ^{ab} - 3,63 ^b	0,06	10,72 ^a - 10,60 ^{ab}	0,99	10,22 ^{ab} - 10,37 ^{ab}	0,41	17,09 - 16,71	0,99
Controle vs. Comercial I	0,180 ^b - 0,185 ^{ab}	0,71	3,739 ^a - 3,63 ^b	<0,05	10,30 ^b - 10,60 ^{ab}	0,07	10,05 ^b - 10,37 ^{ab}	0,12	16,82 - 16,71	0,99
Fermentado vs. Comercial I	0,194 ^{Aa} - 0,185 ^{ab}	0,07	3,75 ^{Aa} - 3,63 ^b	<0,05	10,58 ^{ab} - 10,60 ^{ab}	0,99	10,48 ^a - 10,37 ^{ab}	0,99	17,10 - 16,71	0,50
Controle vs. Comercial II	0,180 ^b - 0,191 ^a	<0,05	3,739 ^a - 3,733 ^{ab}	0,99	10,30 ^b - 10,72 ^a	<0,05	10,05 ^b - 10,22 ^{ab}	0,99	16,82 - 17,09	0,12
Fermentado vs. Comercial II	0,194 ^{Aa} - 0,191 ^a	0,99	3,75 ^{Aa} - 3,733 ^{ab}	0,99	10,58 ^{ab} - 10,72 ^a	0,99	10,48 ^a - 10,22 ^{ab}	0,07	17,10 - 17,09	0,99
Fermentado vs. Controle	0,194 ^{Aa} - 0,180 ^b	<0,05	3,75 ^{Aa} - 3,739 ^a	0,99	10,58 ^{ab} - 10,30 ^b	0,19	10,48 ^a - 10,05 ^b	<0,05	17,10 - 16,82	<0,05

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Dunn, a 5 % de significância.

Tabela 7. Valor médio para as características de Largura do Tórax e Largura do Abdômen em rainhas *Apis mellifera* africanizadas - Ciclo II.

Tratamentos	Largura do Tórax	Valor-p	Largura do Abdômen	Valor-p
Comercial II vs. Comercial I	3,62 ^b - 3,88 ^a	<0,05	4,61 ^c - 4,78 ^{ab}	<0,05
Controle vs. Comercial I	3,75 ^{ab} - 3,88 ^a	0,99	4,80 ^{ab} - 4,78 ^{ab}	0,99
Fermentado vs. Comercial I	3,67 ^{ab} - 3,88 ^a	0,20	4,82 ^a - 4,78 ^{ab}	0,99
Controle vs. Comercial II	3,75 ^{ab} - 3,62 ^b	0,28	4,80 ^{ab} - 4,61 ^c	<0,05
Fermentado vs. Comercial II	3,67 ^{ab} - 3,62 ^b	0,99	4,82 ^a - 4,61 ^c	<0,05
Fermentado vs. Controle	3,67 ^{ab} - 3,75 ^{ab}	0,99	4,82 ^a - 4,80 ^{ab}	0,99

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Dunn, a 5 % de significância.

Para a hipótese de normalidade da variável Consumo foi aplicado o teste de Shapiro-Wilk para analisar o consumo global e consumo para o primeiro, segundo e terceiro ciclo. Foi concluído que em nenhum dos ciclos a variável Consumo possui a hipótese de normalidade aceita (valor-p <0,05). E, para a análise da hipótese de homogeneidade de variâncias no que concerne ao tempo de maneira global a variável Consumo possui a hipótese de homogeneidade de variâncias entre os tratamentos satisfeita. Em relação aos ciclos observados individualmente, verificou-se que a variável Consumo admitiu a hipótese de homogeneidade de variâncias entre os tratamentos violada (valor-p <0,05).

Com a finalidade de verificar se os efeitos dos tratamentos foram significativos considerando a variável Consumo, aplicou-se o método não paramétrico de Kruskal-Wallis, uma vez que foi observado a pressuposição de normalidade ou homogeneidade violadas. Em relação ao ciclo do experimento de maneira global e o terceiro ciclo, verificou-se que houve efeitos significativos dos tratamentos na variável Consumo (valor-p <0,05).

Ao analisar os resultados se observou que os valores obtidos pelo teste de Dunn, há diferenças significativas dos consumos entre o Ciclo III e Ciclo II (Tabela 8) e Fermentado e Comercial I (Tabela 9). Os demais ciclos comparados entre si não apresentam diferenças significativas quanto ao consumo (valor-p >0,05).

Tabela 8. Consumo de suplemento por ciclo – Global.

Ciclo	Consumo por Ciclos	Valor-p
Ciclo II vs. Ciclo I	186,01 ^a - 169,34 ^{ab}	0,33
Ciclo III vs. Ciclo I	151,71 ^b - 169,34 ^{ab}	0,23
Ciclo III vs. Ciclo II	151,71 ^b - 186,01 ^a	<0,05

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Dunn, a 5 % de significância.

Tabela 9. Consumo de suplemento por tratamento - Ciclo III.

Tratamentos	Consumos por tratamento	Valor-p
Comercial II vs. Comercial I	136,05 ^{ab} - 138,42 ^b	0,99
Fermentado vs. Comercial I	180,66 ^a - 138,42 ^b	<0,05
Fermentado vs. Comercial II	180,66 ^a - 136,05 ^{ab}	0,09

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Dunn, a 5 % de significância.

O ovário de *A. mellifera* é formado por ovariolos livres rodeados por traqueias (Figura 1). Cada ovariolo é formado por células em diferentes estágios de diferenciação, envoltas por duas bainhas: a túnica própria internamente e a membrana peritoneal externamente (Figuras 1A-L). Nos ovariolos de T1 (Controle), foram observados

predominantemente cystócitos. Rosetas em formação foram encontradas (Figuras 1A-C). Em T2 (Suplementação Comercial I), T3 (Suplementação Comercial II) e T4 (Suplementação Fermentado), além dos cystócitos (Figuras 1D-L), foram observados oócitos apresentando citoplasma fortemente basófilo e o núcleo (vesícula germinativa) apresentando a região fortemente corada (Figuras 1D, G e J), bem como, células nutridoras em diferenciação (Figuras 1D e J).

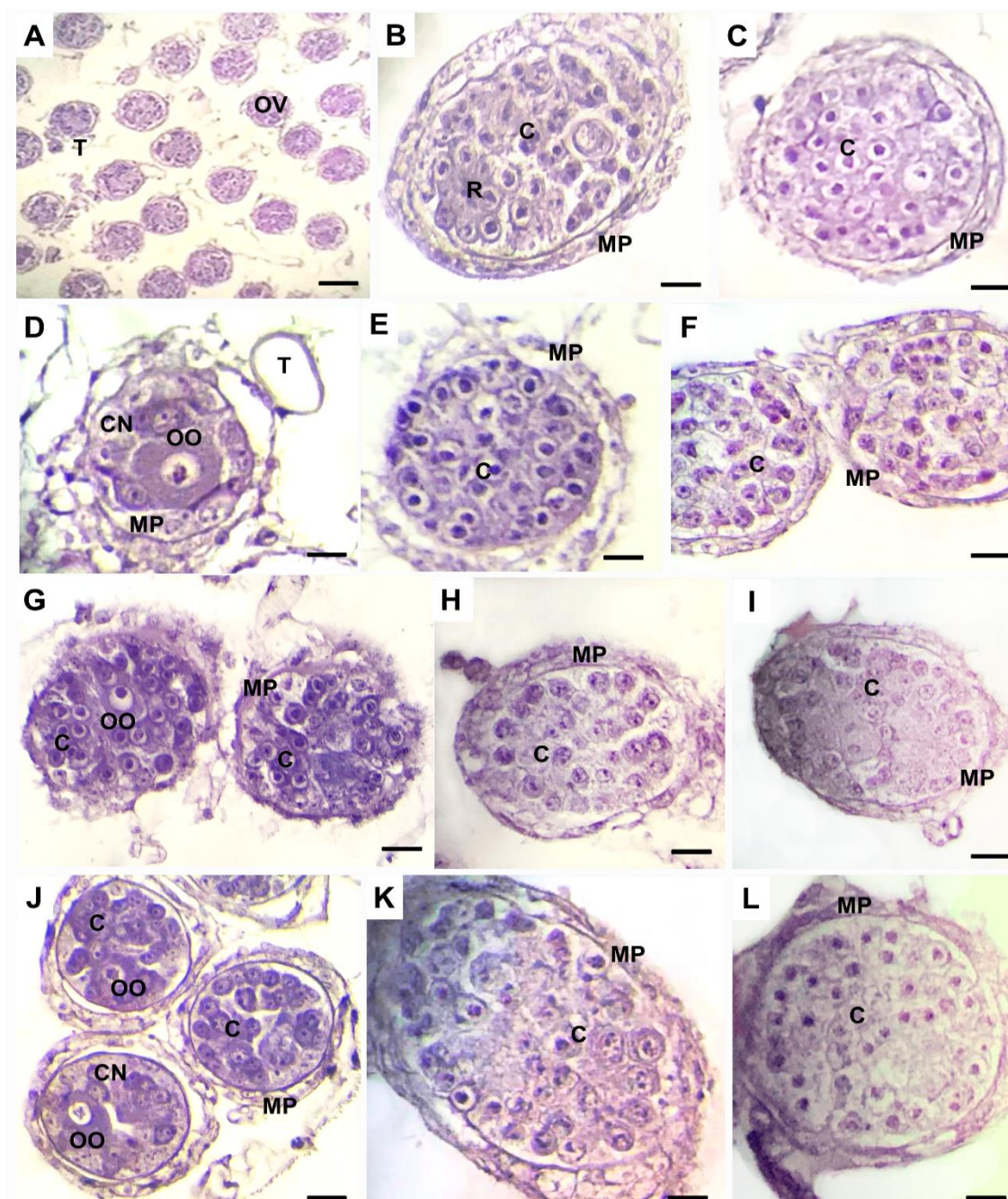


Figura 1. Análise morfológica dos ovaríolos de *A. mellifera* africanizadas após diferentes suplementações. Fotomicrografia do ovário de rainhas não fecundadas. A-C. T1 (Controle); D-F. T2 (Suplementação Comercial I); G-I. T3 (Suplementação Comercial II); J-L. T4 (Suplementação Fermentado). Ovaríolos (OV), Membrana peritoneal (MP), Cistócitos (C), Roseta (R), Células nutridoras (CN), Oócitos (OO). Coloração hematoxilina-eosina. Escala 100µm.

Na avaliação morfológica dos ovariolos não foram verificadas alterações em suas estruturas, os quais apresentaram forma íntegra. Quando analisando e efetuado a contagem de ovariolos das rainhas foi observado que em ambos os ciclos houve diferenças estatísticas ($p < 0,05$) para os tratamentos que receberam suplementação fermentado (Tabela 4). Logo, o suplemento fornecido aos tratamentos pode ter influenciado nessas características.

Conforme descrito por Cruz-Landim (2009), o intestino médio é formado por um epitélio simples apoiado sobre a lâmina basal e revestido por fibras musculares circulares dispostas internamente e fibras longitudinais dispostas externamente. A membrana peritrófica pode ser observada delimitando o lúmen nos espaços endoperitrófico e ectoperitrófico (Figura 2A).

Predominam dois tipos celulares: células digestivas ou principais e as células regenerativas. As células digestivas são cilíndricas apresentam citoplasma basófilo e núcleo posicionado na região mediana, e, na região apical, são revestidas por microvilosidades (Figuras 2B-E). As células regenerativas apresentam grande núcleo ocupando praticamente todo citoplasma e se agrupam nos chamados nidi ou ninhos de regeneração localizados na região basal do epitélio (Figuras 2B, C e F). Foi identificado aumento de protusões citoplasmáticas apicais, indicativos de aumento no conteúdo de secreção foram observadas em T2 (Suplementação Comercial I), T3 (Suplementação Comercial II) e T4 (Suplementação Fermentado) (Figuras 2C-F). Nas avaliações histológicas do intestino médio não foram observadas alterações após fornecimento das suplementações durante o período experimental (Figura 2).

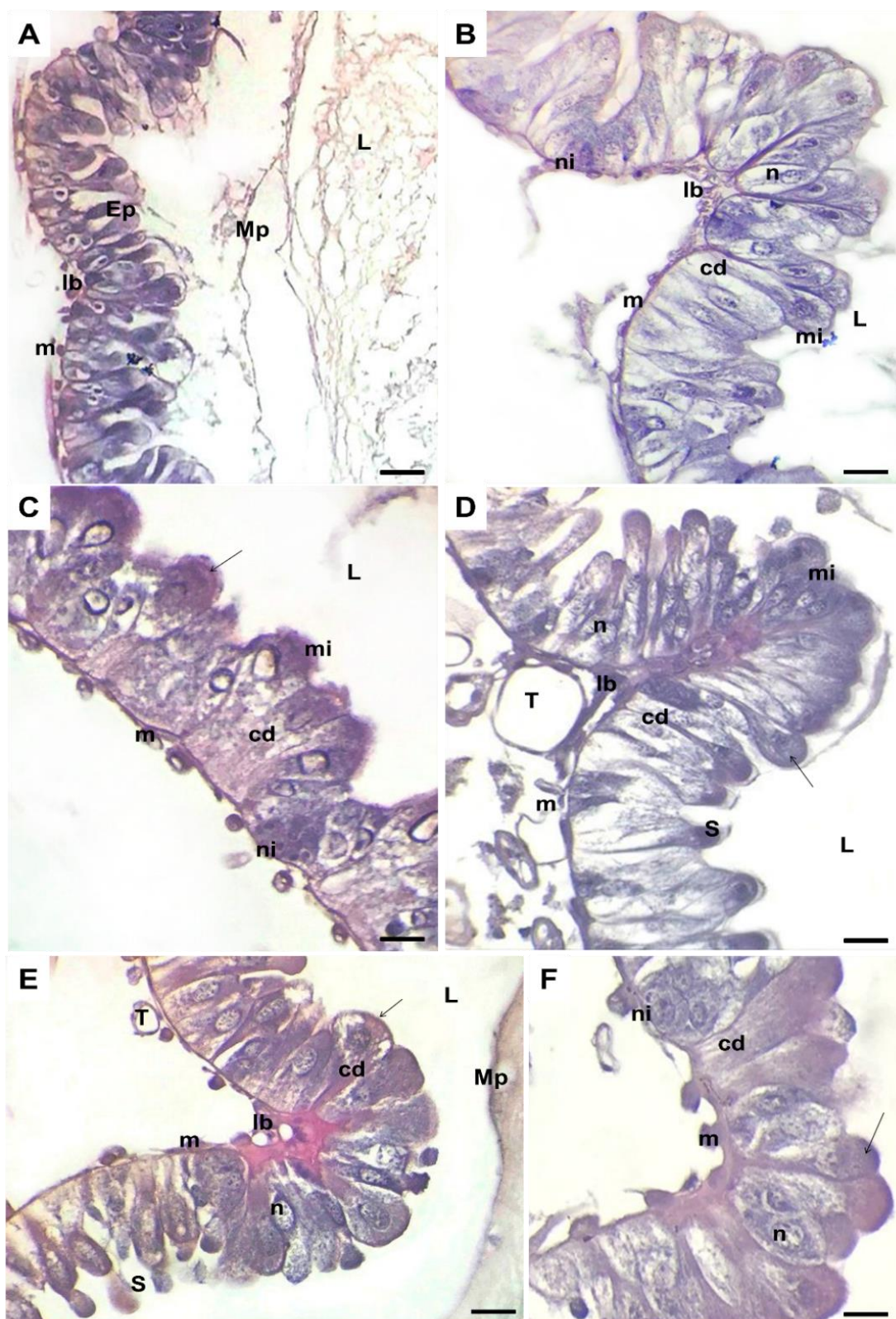


Figura 2. Análise morfológica do intestino médio de *A. mellifera* africanizadas após diferentes suplementações. Fotomicrografia do ventrículo de rainhas *A. mellifera*. A-B. T1 (Controle); C. T2 (Suplementação Comercial I); D. T3 (Suplementação Comercial II); E-F. T4 (Suplementação Fermentado). Epitélio (Ep), Lâmina basal (lb), musculatura (m), Lúmen (L), Células digestivas (cd), Ninhos de regeneração (ni), Núcleo (n), Microvilosidades (mi), Traqueia (T), Secreção (S), Protusões citoplasmáticas apicais (→). Coloração hematoxilina-eosina. Escala 100μm.

DISCUSSÃO

O trabalho com rainhas selecionadas e de qualidade impactam positivamente a produtividade apícola. Desta forma, pesquisas direcionadas para práticas apícolas, principalmente as relacionadas a produção de rainhas são essenciais para o aumento da produtividade e das características a serem melhor expressadas.

Neste trabalho desenvolvido, quando observado o fornecimento das suplementações e a influência que elas geram em determinadas variáveis, pode ser observado que as colônias que receberam o suplemento fermentado apresentam melhores resultados. Observou-se que as rainhas emergentes apresentaram peso a emergência de 194mg no primeiro ciclo e 201mg no segundo ciclo (Tabelas 6 e 4, respectivamente). Já para a variável comprimento do abdômen apresentaram medidas de 10,72mm no primeiro ciclo e 10,97mm no terceiro ciclo (Tabela 6 e 4, respectivamente). Estes resultados evidenciam que o método de transferência e a suplementação propiciaram rainhas com medidas superiores, e que, o fornecimento de uma suplementação irá proporcionar uma alimentação rica em nutrientes e que apresentará resultados positivos. Mahbobi et al. (2012) avaliaram o efeito da idade e da suplementação das larvas na transferência de abelhas *A. mellifera meda* sobre as características de peso à emergência e relataram que as abelhas rainhas oriundas de larvas de um dia apresentaram peso médio de 158,83mg. Meteorima et al. (2015) obtiveram médias de peso no momento da emergência de 161,32mg e de comprimento de abdômen de 9,43mm avaliando as medidas morfométricas de abelhas rainhas africanizadas oriundas por transferência simples, sem suplementação, mantidas em incubadora e em banco de rainhas.

Santos et al. (2019) trabalharam com transferência dupla efetuando a segunda transferência com três dias e obtiveram rainhas com peso de 181,80mg. Quando comparados os resultados obtidos neste trabalho utilizando transferências duplas sem suplementação (Controle), na transferência com 24h foram obtidas rainhas com peso de 180mg no primeiro ciclo e 195mg no segundo ciclo (Tabelas 6 e 4, respectivamente). O tempo entre uma transferência e outra não resultou diferenças quando comparado no primeiro ciclo. Quando correlacionado com o segundo ciclo é visível a diferença no peso a emergência, que pode estar relacionado a maior disponibilidade e deposição de alimento pelas nutrizes nas primeiras horas influenciando em maior consumo da segunda larva, ocorrendo maior peso.

A suplementação, fermentado, fornecida influenciou no tamanho da asa das rainhas 10,48mm (Tabela 6) no primeiro ciclo. Podendo a larva ter obtido maior carga de nutrientes oriundos da maior deposição de geleia real, ocasionando maior consumo e melhores resultados na emergência. Mahbobi et al. (2012) avaliaram o efeito da idade e da suplementação das larvas na transferência sobre o comprimento de asa em abelhas *A. mellifera meda*. Os mesmos relataram que as abelhas rainhas oriundas de larvas de um dia apresentaram médias de 10,36mm confirmando que a suplementação não afetou o comprimento das asas.

O maior consumo do suplemento ocorreu no segundo ciclo (Tabela 8) e o suplemento mais consumido foi o fermentado (Tabela 9). Seu consumo ao avaliar globalmente todas as colônias pode estar relacionado com a maior necessidade de proteína apresentada pelas colônias durante o período em que o experimento foi desenvolvido. Esse fator relacionado com a baixa disponibilidade de pólen na natureza, acarreta maior consumo do alimento disponibilizado dentro da colônia. Outro fator que pode interferir na quantidade de suplemento consumido é o tamanho da colônia e a necessidade por cada uma expressada.

Os trabalhos utilizando suplementação apresentam os resultados com consumo diário, sendo: Toledo et al. (2010) apresentaram consumo de 7g, Faquinello et al. (2011) relataram que houve a ingestão de 2,21g; Sereia et al. (2013) descreveram consumo de 25g e Pereira et al. (2015) relataram que houve a ingestão média de 26,6g por colônia por dia. Todos autores trabalharam com minirrecria apenas Sereia et al. (2013) trabalharam com recria.

Em países europeus como Grécia, Itália e Eslovênia a avaliação das rainhas pela contagem de ovários é efetuada para observarem a qualidade das rainhas que estão sendo utilizadas para o povoamento das colônias (Hatjina et al., 2014). Jackson et al. (2010) encontraram a média de 320 ovários ao efetuarem a contagem do material contido no ovário das rainhas comerciais. Comparando com os resultados obtidos neste estudo, pode-se observar que aos tratamentos apresentaram resultados próximos ao relatado pelos autores em ambos os ciclos de produção (Tabela 4).

Dolasevic et al. (2019) ao avaliarem a quantidade de ovários constataram que o tratamento utilizando somente açúcar como fonte alimentar diferiu apenas do tratamento composto por açúcar, mel e pólen. Os resultados obtidos nesta pesquisa indicaram que o tratamento que não recebeu suplemento apresentou menor quantidade

de ovários comparando com os demais tratamentos (Tabela 4). As suplementações resultaram em maior número de ovários nas rainhas (Tabela 4), podendo observar que em ambos os ciclos o suplemento fermentado apresentou melhores resultados, auxiliando na maior quantidade de ovários e em maior eficiência reprodutiva.

Szymaś e Przybył (2007) e Szymaś et al. (2012) ambos trabalharam com suplemento enriquecido com probióticos. No primeiro, eles avaliaram a população em um todo e no segundo observaram em tempos específicos para observarem quais as alterações poderiam ocorrer nas abelhas. Em ambos trabalhos foram observadas pequenas alterações no epitélio e forte secreção do tipo merócrino foram apontadas nas abelhas. No trabalho em todos os tratamentos que receberam suplementação foram observados maior produção de secreções no intestino médio. O tempo que a suplementação permanece no trato digestivo gera maior absorção do alimento pelas abelhas, tornando as suplementações fornecidas positivas para o desenvolvimento do organismo das abelhas.

De forma geral, os resultados deste trabalho mostram que a suplementação exerceu melhores resultados quando fornecida para as colônias em produção. Isso foi observado no aumento do número de ovários nos ovários, especialmente as colônias que receberam o suplemento fermentado.

Apesar do suplemento ter demonstrado maior eficiência na qualidade reprodutiva das rainhas produzidas, recomenda-se a realização de novos estudos relacionando o efeito da suplementação sobre as características das abelhas rainhas em diferentes épocas do ano.

CONCLUSÃO

A suplementação exerceu melhores resultados quando fornecida para as colônias em produção, e as colônias que receberam suplemento fermentado produziram rainhas com maior quantidade de ovários, podendo inferir que o suplemento auxilia na maior quantidade e na eficiência produtiva das rainhas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Baitala, T. V.; Faquinello, P.; Toledo, V. A. A.; Mangolin, C. A.; Martins, E. N. e Ruvolo-Takasusuki, M. C. C. 2010. Potential use of major royal jelly proteins (MRJPs) as molecular markers for royal jelly production in Africanized honeybee colonies. *Apidologie*, 41(1), 160-168. DOI: <https://doi.org/10.1051/apido/2009069>
- Bienefeld, K.; Ehrhardt, K. e Reinhardt, F. 2007. Genetic evaluation in the honey bee considering queen and worker effects - A BLUP - Animal Model approach. *Apidologie*, 38 (1), 77-85. DOI: 10.1051/apido:2006050
- Brodtschneider, R. e Crailsheim, K. 2010. Nutrition and health in honey bees. *Apidologie*, 41 (1), 278-294. DOI: <https://doi.org/10.1051/apido/2010012>
- Camargo, J. M. F. 1972. Técnicas de Controle de Cruzamentos. p.59-96. In: Manual de apicultura. Ed. Agronômica Ceres, São Paulo, Brasil.
- Cengiz, M. M.; Yazici, K. E Arslan, S. 2019. The Effect of the Supplemental Feeding of Queen Rearing Colonies on the Reproductive Characteristics of Queen Bees (*Apis mellifera* L.) Reared from Egg and Different old of Larvae. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*, 25(6), 849-855. DOI: 10.9775/kvfd.2019.21998
- Cruz-Landim, C. 2009. Abelhas: morfologia e função de sistemas. UNESP: São Paulo.
- Di Pasquale, G.; Salignon, M.; Le Conte, Y.; Belzunces, L. P.; Decourtye, A.; Kretzschmar, A. e Alaux, C. 2013. Influence of pollen nutrition on honey bee health: Do pollen quality and diversity matter? *Plos One*, 8(8), 1-13. doi:10.1371/journal.pone.0072016
- Dolasevic, S.; Stevanovic, J.; Aleksic, N.; Glavinic, U.; Deletic, N.; Mladenovic, M. e Stanimirovic, Z. 2019. The effect of diet types on some quality characteristics of artificially reared *Apis mellifera* queens. *Journal of Apicultural Research*, 1-19. doi.org/10.1080/00218839.2019.1673965
- Doolittle, G. M. 1889. Later methods of rearing queens. p.35-45. In: Scientific queen rearing. Thomas G. Newman and Son, Chicago.
- Faquinello, P.; Toledo, V. A. A.; Martins, E. N.; Oliveira, C. A. L.; Sereia, M. J.; Costa-Maia, F. M. e Ruvolo-Takasusuki, M. C. C. 2011. Parameters for royal jelly production in Africanized honeybees. *Sociobiology*, 57 (3), 495-509.

- Hatjina, F.; Bieńkowska, M.; Charistos, L.; Chlebo, R.; Costa, C.; Dražić, M. M.; Filipi, J.; Gregorc, A.; Ivanova, E. N.; Kezić, N.; Kopernicky, J.; Kryger, P.; Lodesani, M.; Lokar, V.; Mladenovic, M.; Panasiuk, B.; Petrov, P. P.; Rašić, S.; Skerl, M. I. S.; Vejsnæs, F. e Wilde, J. 2014. A review of methods used in some European countries for assessing the quality of honey bee queens through their physical characters and the performance of their colonies. *Journal of Apicultural Research*, 53 (3), 337-363. DOI: 10.3896/IBRA.1.53.3.02
- Jackson, J. T.; Tarpy, D. R. e Fahrbach, S. E. 2011. Histological estimates of ovariole number in honey bee queens, *Apis mellifera*, reveal lack of correlation with other queen quality measures. *Journal of Insect Science* 11 (82), 1-11. DOI: 10.1673/031.011.8201
- Junqueira, L. C. U. e Junqueira, L. M. M. S. 1983. Técnicas básicas de citologia e histologia. São Paulo: Editora Santos.
- Lima, E. G.; Parpinelli, R. S.; Santos, P. R.; Azevedo, A. S. B.; Sereia, M. J. e Toledo, V. A. A. Optimization of protein feed fermentation process for supplementation of *Apis mellifera* honeybees. 2020. *Journal of Apicultural Science*. DOI: 10.2478/JAS-2020-0001
- Mahbobi, A.; Farshineh-Adi, M.; Woyke, J. e Abbasi, S. 2012. Effects of the age of grafted larvae and the effects of supplemental feeding on some morphological characteristics of iranian queen honeybees (*Apis mellifera meda* Skorikov, 1929). *Journal of Apicultural Science*, 56 (1), 93-98. DOI: 10.2478/v10289-012-0010-1
- Medina Flores, C. A.; Guzman Novoa, E.; Saldivar Frausto, S. e Aguilera Soto, J. 2018. Efecto de tres dietas energético-proteicas en la población y producción de miel de colonias de abejas melíferas (*Apis mellifera*). *Nova Scientia*, 10 (20), 1-12. dx.doi.org/10.21640/ns.v10i20.1110
- Metorima, F. N.; Costa-Maia, F. M.; Halak, A. L.; Parpinelli, R. S. e Toledo, V. A. A. 2015. Morphometric measurements of Africanized honeybee queens kept in an incubator or in queen banking. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 37 (1), 91-96. doi.org/10.4025/actascianimsci.v37i1.24006
- Moreira, D. R.; Sinópolis-Gigliolli, A. A.; Falco, J. R. P.; Julio, A. H. F.; Volnistem, E. A.; Chagas, F. D. e Ruvolo-Takasusuki, M. C. C. 2018. Toxicity and effects of the neonicotinoid thiamethoxam on *Scaptotrigona bipunctata* Lepelletier, 1836 (Hymenoptera: Apidae). *Environmental Toxicology*. DOI:10.1002/tox.22533
- Njeru, L. K.; Raina, S. K.; Kutima, H. L.; Salifu, D.; Cham, D. T.; Kimani, J. N. A. A. e Muli, E. M. 2017. Effect of larval age and supplemental feeding on morphometrics and oviposition in honey bee *Apis mellifera scutellata* queens. *Journal of Apicultural Research*. DOI: 10.1080/00218839.2017.1307714
- Okuyan, S. e Akyol, E. 2018. The effects of age and number of grafted larvae on some physical characteristics of queen bees and acceptance rate of queen bee cell. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 6 (11), 1556-1561. DOI: doi.org/10.24925/turjaf.v6i11.1556-1561.1955

- Parpinelli, R. S.; Ruvolo-Takasusuki, M. C. C. e Toledo, V. A. A. 2014. MRJP microsatellite markers in africanized *Apis mellifera* colonies selected on the basis of royal jelly production. *Genetics e Molecular Research*, 13 (3), 6724-6733. DOI: 10.4238/2014.August.28.16
- Pereira, D. S.; Paiva, C. S.; Coelho, W. A. C.; Holea Neto, J. P.; Silva, A. F. e Maracajá, P. B. 2015. Peso de rainhas virgens africanizadas produzidas em colônias submetidas a diferentes suplementações alimentares em Mossoró-RN, Brasil. *Acta Apicola Brasilica*, 3 (1), 18-24. DOI: 10.18378/aab.v3i1.3142
- Rangel, J.; Keller, J. J.; e Tarpy, D. R. 2013. The effects of honeybee (*Apis mellifera* L.) queen reproductive potential on colony growth. *Insectes Sociaux*, 60 (1), 65-73. DOI: 10.1007/s00040-012-0267-1
- Rangel, J.; Böröczky, K.; Schal, C. e Tarpy, D. R. 2016. Honey Bee (*Apis mellifera*) Queen reproductive potential affects queen mandibular gland pheromone composition and worker retinue response. *Plos One*, 11 (6), 1-16. doi: 10.1371 / journal.pone.0156027
- Santos, P. R.; Souza, T. H. S.; Rossoni, D. F. e Toledo, V. de A. A. 2019. Royal jelly production with queens produced by single and double grafting in Africanized honeybee colonies. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 41 (1), 1-7. doi.org/10.4025/actascianimsci.v41i1.45670
- Sereia, M. J.; Toledo, V. A. A.; Furlan, A. C.; Faquinello, P.; Costa-Maia, F. M. e Wielewski, P. 2013. Alternative sources of supplements for Africanized honeybees submitted to royal jelly production. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 35 (2), 165-171. DOI:10.4025/actascianimsci.v35i2.16976
- Souza, D. A.; Huang, M. H. e Tarpy, D. R. 2019. Experimental improvement of honey bee (*Apis mellifera*) queen quality through nutritional and hormonal supplementation. *Apidologie*. <https://doi.org/10.1007/s13592-018-0614-y>
- Stanimirović, Z.; Glavinić, U.; Ristanić, M.; Aleksić, N.; Jovanović, N.; Vejnović, B. e Stevanović, J. 2019. Looking for the causes of e solutions to the issue of honeybee colony losses. *Acta Veterinaria-Beograd*, 69 (1), 1-31. doi:10. 2478/acve-2019-0001
- Szymaś, B. E Przybył, A. 2007. Midgut histological picture of the honey bee (*apis mellifera* L.) Following consumption of substitute feeds supplemented with feed additives. *Nauka Przyroda Technologie*, 1 (4), 1-9.
- Szymaś, B.; Łangowska, A. e Kazimierzczak -Baryczko, M. 2012. Histological structure of the midgut of honey bees (*Apis mellifera* L.) fed pollen substitutes fortified with probiotics. *Journal of Apicultural Science*, 56 (1), 5-12. DOI: 10.2478/v10289-012-0001-2
- Tarpy, D. R.; Keller, J. J.; Caren, J. R. e Delaney, D. A. 2012. Assessing the mating 'health' of commercial honey bee queens. *Journal of Economic Entomology*, 105 (1), 20-25. <https://doi.org/10.1603/EC11276>

Toledo, V. A. A.; Neves, A. C.; Alves, E. M.; Oliveira, J. R.; Ruvolo-Takasusuki, M. C. C. e Faquinello, P. 2010. Produção de geleia real em colônias de abelhas africanizadas considerando diferentes suplementos proteicos e a influência de fatores ambientais. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 32 (1), 101-108. doi.org/10.4025/actascianimsci.v32i1.6836

Uçak Koç, A. e Karacaoğlu, M. 2011. Effects of queen rearing period on reproductive features of Italian (*Apis mellifera ligustica*), Caucasian (*Apis mellifera caucasica*), and Aegean ecotype of Anatolian honey bee (*Apis mellifera anatoliaca*) queens. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 35 (4), 271-276. DOI: 10.3906/vet-1007-375

Winston, M. L. 2003. *A biologia da abelha*. Porto Alegre. Magister.

Wu, X.; Zhou, L.; Zou, C. e Zeng, Z. 2018. Effects of queen cell size and caging days of mother queen on rearing young honey bee queens *Apis mellifera* L. *Journal of Apicultural Science*, 62 (2), 215-222. DOI 10.2478/JAS-2018-0025