

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

VALOR GENÉTICO PARA ABELHAS AFRICANIZADAS
SELECIONADAS PARA PRODUÇÃO DE GELEIA
REAL COM MARCADORES MOLECULARES

Autor: Katia Regina Ostrovski

Orientador: Prof. Dr. Vagner de Alencar Arnaut de Toledo

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Cláudia Colla Ruvolo-Takasusuki

MARINGÁ
Estado do Paraná
Janeiro - 2012

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

VALOR GENÉTICO PARA ABELHAS AFRICANIZADAS
SELECIONADAS PARA PRODUÇÃO DE GELEIA
REAL COM MARCADORES MOLECULARES

Autor: Katia Regina Ostrovski

Orientador: Prof. Dr. Vagner de Alencar Arnaut de Toledo

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Cláudia Colla Ruvolo-Takasusuki

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá - Área de concentração: Produção Animal.

MARINGÁ
Estado do Paraná
Janeiro - 2012

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

O85v	<p>Ostrovski, Katia Regina</p> <p>Valor genético para abelhas africanizadas selecionadas para produção de geleia real com marcadores moleculares / Katia Regina Ostrovski. -- Maringá, 2012.</p> <p>39 f. : il.</p> <p>Orientador: Prof^o Dr^o Wagner de Alencar Arnaut de Toledo.</p> <p>Co-orientador: Prof^a Dr^a Maria Cláudia Colla Ruvolo-Takasusuki.</p> <p>Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Zootecnia, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2012.</p> <p>1. Abelha africanizada. 2. Inferência bayesiana - Abelhas. 3. Abelha - Avaliação genética. 4. Abelha - Produção de geleia real. 5. Abelhas - Avaliação genética. 6. MRJP3. I. Toledo, Wagner de Alencar Arnaut de, orient. II. Universidade Estadual de Maringá. Departamento de Zootecnia, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. III. Título.</p>
	CDD 22. ed. 638.1



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS


**VALOR GENÉTICO PARA ABELHAS AFRICANIZADAS
SELECIONADAS PARA PRODUÇÃO DE GELÉIA
REAL COM MARCADORES MOLECULARES**

Autora: Kátia Regina Ostrovski

Orientador: Prof. Dr. Vagner de Alencar Arnaut de Toledo

TITULAÇÃO: Mestre em Zootecnia - Área de Concentração Produção
Animal


APROVADA em 10 de fevereiro de 2012.



Profª Drª Regina Conceição
Garcia



Profª Drª Eliane Gasparino



Prof. Dr. Vagner de Alencar
Arnaut de Toledo
(Orientador)

“Como as estrelas no vasto circuito de sua indicada órbita,
os desígnios de Deus não conhecem adiantamento nem tardança”.

“A força humana é fraqueza; a sabedoria humana é loucura.
Nosso sucesso não depende de nossos talentos ou cultura,
mas de uma viva ligação com Deus”.

Ellen Gold White

A

Deus, porque Seus sonhos são maiores que os meus.

À

minha mãe, Wilma Ostrovski, por estar sempre presente, tornando as distâncias geográficas irrelevantes.

Ao

meu pai, João Ostrovski, que é um exemplo de que o trabalho dignifica o homem.

Aos

meus irmãos, Adalberto Luiz Ostrovski, por preferir ficar alheio à realidade e assim contribuir significativamente para eu entendê-la,
Cintia Mara Ostrovski, por ser um exemplo de insistência nos momentos difíceis e,
João Ostrovski Júnior, por ser tão prestativo e realista.

À

Janete Aparecida Guidi e Luiz Woruby, pelo sincero amor à educação e aos animais.

À

Prof^ª Dr^ª. Maria Marta Loddi, incentivadora na continuidade dos estudos.

À

minha tia, Hilda Santilha Conceição, pelo interesse constante em minha realização.

E

ao meu avô, Atílio Vicente de Lima, “in memoriam” um “contemplador de abelhas” que me ensinou a amar a apicultura contando suas histórias de vida em minha infância.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual de Maringá.

À Coordenação do Conselho Regional de Pesquisa Científica (CNPq), pela bolsa de estudo concedida para realização desta pesquisa.

Ao meu orientador Prof Dr. Vagner de Alencar Arnaut de Toledo, representante máximo de todo crescimento pessoal e profissional alcançado. Minha gratidão por seu apoio, ensinamentos e incentivo na apicultura.

À minha co-orientadora, Prof^a Dr^a Maria Cláudia Colla Ruvolo-Takasusuki, por todos os esclarecimentos e atenção dispensados na condução desta pesquisa.

Ao Prof Dr. Carlos Antonio Lopes de Oliveira, por sua contribuição ímpar e dedicação na orientação estatística nas análises dos dados coletados.

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia e aos docentes que o compõe por proporcionarem condições para o aprendizado. Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá, Rose Mary Pepinelli e Denilson dos Santos Vicentin, e do Departamento de Zootecnia, Francisco Wilson Oliveira e Elizabete Santos, pelo profissionalismo e amizade.

Aos funcionários, em geral, da Fazenda Experimental de Iguatemi, por contribuírem para realização prática do experimento, destacando Lucilene de Mattos

Almeida e Roberto Alvarez, aos quais agradeço não apenas por todo apoio braçal, mas por literalmente saberem tocar a música certa nos momentos necessários.

Ao Grupo de Pesquisa com Abelhas (GPBee), o qual me proporcionou grande crescimento não apenas técnico, mas pessoal também. Muito obrigada aos colegas de disciplina, monitores, estagiários, bolsistas e pesquisadores em geral que compartilharam o mesmo ambiente de trabalho no período de realização de meu mestrado, aqui representados por: Álida Mariana dos Reis Buzzo, Ana Paula Nunes Zago de Oliveira, Arielen Patricia Casagrande Balista Pozza, Patrícia Faquinello, e tantos outros inomináveis que contribuíram com o fornecimento de dados e que em algum momento auxiliaram no processo para elaboração desta dissertação.

À Rejane Stubs Parpinelli, uma amiga muito especial que compartilhou não apenas um espaço físico, mas sentimentos e momentos que enriqueceram nossa amizade, que é uma resposta de Deus às minhas orações, e que hoje eu oro para que seja eterna. E à sua avó, Malvina Zanatta Stubs, pela acolhida, carinho e fervorosos incentivos.

Aos amigos e irmãos na fé que me fortaleceram com suas orações, tendo como representantes especiais, Maria Cecília Gonçalves, Simone Moraes e Tatiane César de Almeida, que mesmo distantes continuaram fazendo grande diferença em minha vida.

A todos da minha família, que compartilharam deste meu sonho e apoiaram incondicionalmente para a realização e concretização do mesmo, agradeço todo o carinho, saudade, disponibilidade, paciência e incentivo.

Minha sincera gratidão a Deus, por ter me conduzido até Maringá e ali me sustentado, governando minhas ações e o comportamento daqueles que podem influenciar o meu destino. Para todos estes, aqui nominados ou não, fica minha consideração perante Deus pela importância que tiveram em minha vida neste período de mestrado.

BIOGRAFIA

KATIA REGINA OSTROVSKI, filha de João Ostrovski e Wilma Ostrovski, nasceu em Curitiba, Paraná, no dia 14 de julho de 1977.

Realizou os estudos do Ensino Fundamental, nas escolas Colégio Estadual Professor Júlio Teodorico e Colégio Estadual Professor João Ricardo Von Borell Du Vernay, em Ponta Grossa, concluindo os estudos em 1992.

Em fevereiro de 1997, formou-se Técnica em Eletrônica pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná (2003, UTFPR), unidade descentralizada de Ponta Grossa.

Em fevereiro de ingressou no curso de Zootecnia na Universidade Estadual de Ponta Grossa, onde participou do programa de monitoria nas disciplinas de Nutrição Animal e Nutrição de Não-Ruminantes. Em agosto de 2007, concluiu o curso obtendo “honra ao mérito” do Conselho Regional de Medicina Veterinária do Paraná, pelo desempenho acadêmico.

Trabalhou como gerente de fábrica de ração para aves matrizes em empresa privada, como extensionista rural no Programa Universidade Sem Fronteiras e como docente no Curso Técnico em Agropecuária nas Escolas Reunidas Instituto Cristão.

Em março de 2009, iniciou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, nível de Mestrado, área de concentração: Produção Animal, na Universidade Estadual de Maringá, classificada em primeiro lugar no Índice de Comissão de Bolsas, realizando estudos na área de Produção Animal – Apicultura.

No dia 10 de fevereiro de 2012, submeteu-se à banca para defesa da dissertação.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE FIGURAS	x
RESUMO	xi
ABSTRACT	xiii
I – INTRODUÇÃO	1
1.1. Fatores que influenciam a produção de geleia real	3
1.2. Cronologia da seleção para produção de geleia real	4
REFERÊNCIAS	9
II – VALOR GENÉTICO PARA ABELHAS AFRICANIZADAS SELECIONADAS PARA GELEIA REAL COM MARCADORES MOLECULARES	14
Resumo	14
Abstract	15
INTRODUÇÃO	16
MATERIAL E MÉTODOS	17
Identificação do DNA genômico	17
Produção de rainhas e geleia real	18
Análise estatística	19
RESULTADOS	20
Classificação do desempenho	20
Predição dos valores genéticos	21
DISCUSSÃO	21

AGRADECIMENTOS	25
REFERÊNCIAS	25
III – CONSIDERAÇÕES FINAIS	32
APÊNDICE	34

LISTA DE TABELAS

	Página
II – VALOR GENÉTICO PARA ABELHAS AFRICANIZADAS SELECIONADAS PARA GELEIA REAL COM MARCADORES MOLECULARES	
Tabela 1. Probabilidade de classificação nas classes alto valor genético e baixo valor genético dos diferentes genótipos para as características de aceitação - ACE, geleia real total - GRT e geleia real por cúpula – GRC	30
Tabela 2. Média dos valores genéticos para as características avaliadas em relação aos diferentes genótipos	30

LISTA DE FIGURAS

	Página
II – VALOR GENÉTICO PARA ABELHAS AFRICANIZADAS SELECIONADAS PARA GELEIA REAL COM MARCADORES MOLECULARES	
Figura 1	Retirada do quadro porta-cúpulas para produção de rainhas 31
Figura 2.	Quadro porta-cúpulas com produção de geleia real 31

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi inferir o valor genético para produção de geleia real em *Apis mellifera* L. africanizadas com a compilação de dados coletados desde 2006 até o experimento em 2011. As informações genéticas das colônias selecionadas e avaliadas foram obtidas utilizando técnicas de extração do DNA total do tórax de abelhas operárias nutrizas com marcadores moleculares para proteína MRJP3, bem caracterizada em *Apis mellifera* L. Para as transferências de larvas na produção de rainhas e geleia real foi utilizada sala climatizada com temperaturas médias entre 30°C e 35°C e umidade relativa do ar acima de 60%. As larvas em idade entre 12 e 36h foram transferidas de sua célula de origem para cúpulas de acrílico. A coleta de geleia real foi feita de 66 à 72h com aparelho de sucção. A partir das informações das colônias e da estrutura genealógica foram preditos os valores genéticos das colônias e rainhas para as características aceitação de larvas transferidas - %, geleia real total - mg e geleia real por cúpula - mg. Foi utilizado o modelo animal com inferência bayesiana do software Multiple Trait Gibbs Sampling in Animal Models, cadeias de Gibbs de 58500 ciclos, resultantes de 650.000 ciclos, com intervalos de descarte e retirada de 65000 e 10, respectivamente. A partir dos valores genéticos preditos, as colônias foram classificadas em superior e inferior. Para comparar as médias dos valores genéticos em função dos genótipos, procedeu-se o teste de comparação múltipla de médias, implementado na rotina PROC GENMOD do Statistical Analysis System. Utilizando a mesma rotina foi estimada a probabilidade de classificação nas categorias superior e inferior desses genótipos considerando a distribuição de dados binomial com função de ligação logarítmica. As probabilidades de classificação para cada genótipo foram testadas por meio do teste T em nível de 5% de significância. Foram considerados os efeitos ambientais de ano, época e modelo de colônia (padrão Langstroth) como apresentando

distribuição plana, e de coleta como distribuição de qui-quadrado. As pesquisas mostraram um aumento dos alelos *C*, *D* e *E* nas abelhas matrizes que fazem parte deste sistema de avaliações quantitativas e moleculares na produção de geleia real, sendo os alelos *D* e *E* - referentes às MRJP's – encontrados no grupo de maior valor genético para produção. Os alelos *D*, *E* e *C* são os mais importantes quando avaliamos as características de aceitação, geleia real total e por cúpula, e que pontualmente, foi o genótipo *DE* que se destacou na produção de geleia real. Os genótipos *DE*, *DC* e *CE* são os que devem ser mantidos neste sistema de avaliações para produção de geleia real, e os demais genótipos devem ser descartados, pois apresentaram os piores desempenhos para as características avaliadas.

Palavras-chave: *Apis mellifera* L., MRJP3, inferência bayesiana, genótipos, avaliação genética.

ABSTRACT

The aim of this research was to evaluate the genetic value for royal jelly production in *Apis mellifera* L. Africanized with the compilation of data collected since 2006. The genetic informations of selected and evaluated colonies were obtained using techniques of full DNA extraction from nursing worker bee's thorax, with molecular markers for MRJP3 protein, which is well characterized in *Apis mellifera* L. For larvae transfer to produce queens and royal jelly a heated room was used, with temperature between 30°C and 35°C and air humidity above 60%. The larvae aged between 12 and 36h were transferred from its original cell to acrylic cups. The royal jelly collection was done after 66 to 72h with suction apparatus. From colonies information and genealogical structure, genetic values were predicted for colonies and queens considering the parameters: acceptance (%), total royal jelly (mg) and royal jelly per cup (mg). The Bayesian inference was used with the software Multiple Trait Gibbs Sampling in Animal Models, Gibbs chains with 58500 cycles, resulting in 650.000 cycles with disposal and removal intervals of 65000 and 10, respectively. The predicted genetic values from colonies were classified into superior and inferior. Comparing the genetic values averages as a function of genotypes, the test of multiple average comparisons were realized, implemented in routine PROC GENMOD of the Statistical Analysis System. Using the same routine the classification probability was estimated in superior and inferior categories of these genotypes, considering binomial distribution of data with log-link function. The classification probabilities for each genotype were tested by the T test at 5% significance. The environmental effects of year, time and type of colony were considered as having flat distribution and collection as qui-squared distribution. The results shown an increase of alleles *C*, *D* and *E* in matrices honeybee colonies in which, the alleles *D* and *E* (relating to MRJPs) had the most valuable genes for royal

jelly production. The alleles *D*, *E* and *C* are the most important when evaluating the parameters of production, acceptance, total royal jelly and royal jelly per cup, and promptly, the genotype *DE* had emphasis on royal jelly production. The genotypes *DE*, *DC* and *CE* should be maintained for royal jelly production, and other genotypes should be discarded because they had the worst performances.

Keywords: *Apis mellifera* L., MRJP3, bayesian inference, genotypes, genetic evaluation.

I – INTRODUÇÃO

A geleia real é uma substância glandular fluida de cor marfim, branca quando está fresca, e tem sabor ácido muito particular. Esta secreção das glândulas hipofaringeanas e mandibulares, localizadas na cabeça das abelhas operárias jovens, constitui a alimentação de todas as larvas de operárias até o terceiro dia e da rainha durante toda sua existência, e é produzida por operárias de cinco a 15 dias de idade, denominadas nutrizes, ocorrendo a produção com maior intensidade até o 11º dia de vida da abelha (Haydak, 1970; Brown, 1989; OPIDA, 2009). Sua secreção é promovida pela ingestão do pólen com adição de soluções regurgitadas do papo das operárias nutrizes, contendo principalmente açúcares (Haydak, 1970; Rembold et al., 1974; Knecht e Kaatz, 1990; Chen e Chen, 1995; Schmidt e Buchmann, 1997).

Segundo Fert (2011), a geleia real é um produto que regenera as células e os tecidos, normaliza a tensão arterial e estimula a produção de glóbulos vermelhos. Para Brown (1989), a geleia real é um produto apícola de destaque por promover vida saudável às pessoas e curar muitas doenças. Em termos gerais, é composta por 65% de água, 12% de proteínas e a mesma quantidade de açúcares, 5% de gordura e 1% de minerais.

O estímulo para produção de geleia real na colônia é a criação de novas rainhas, e nas abelhas nutrizes, vem a partir da ingestão de proteína, sendo uma das fontes importantes o pólen, o principal material necessário para que haja secreção de geleia real (Jianke et al., 2003). Segundo Fert (1997), a importância do pólen como nutriente da dieta para abelhas tem convencido criadores de rainhas e pesquisadores de sua utilização em todas as atividades de criação de rainhas.

Para produção de geleia real, especialmente em épocas de escassez natural de alimento, as abelhas vão precisar de mais proteína fornecida pelo pólen, que pode ser também obtida em produtos lácteos ou levedo de cerveja (Vantoor, 2006).

A geleia real é um alimento balanceado, que proporciona um rápido crescimento larval e que estimula a rainha ovopositar um número de ovos por dia, cujo peso é superior ao seu próprio corpo (Brown, 1989).

Abelhas italianas foram introduzidas na China no século XX (Zheng et al., 2009) e a geleia real é um dos mais importantes produtos da colônia para os apicultores chineses, que produzem mais de 2.000 toneladas/ano, que correspondem a 90% da produção total do mundo. Chen et al. (2002) desenvolveram um sistema de produção que envolve oito etapas para obter estes altos rendimentos, entre os quais a suplementação alimentar, habilidades de manipulação e adequado número de cúpulas artificiais por colônia.

As principais proteínas encontradas na geleia real – conhecidas por *Major Royal Jelly Proteins* (MRJPs) representam mais de 80% do total das proteínas hidrossolúveis de sua composição e cerca de 90% do total de proteínas (Schmitzová et al., 1998), sendo as cinco principais representantes desta família as MRJP1, MRJP2, MRJP3, MRJP4 e MRJP5 (Ohashi et al., 1997; Schmitzová et al., 1998; Simúth, 2001).

Os genes que codificam para as proteínas principais da geleia real começaram a ser identificados nos estudos de Kludiny et al. (1994) e Albert et al. (1996). Após esses estudos pioneiros, vários trabalhos objetivaram caracterizar novos genes codificadores das proteínas MRJPs (Schmitzová et al., 1998; Albert et al., 1999b; Albert e Kludiny, 2004).

As MRJPs foram caracterizadas em *A. mellifera* (Albert et al., 1996, 1999a; Schmitzová et al., 1998; Albert e Kludiny, 2004; Drapeau et al., 2006). Porém, Baitala (2007) relatou que dados na literatura sobre o uso das MRJPs como marcadores moleculares em estudos de estrutura genética de populações e como marcadores de seleção associados ao melhoramento da produção de geleia real ainda são escassos.

Conforme observou Casagrande-Pozza (2011), as MRJPs foram sugeridas por vários pesquisadores como marcadores genéticos em diferentes estudos de abelhas *A. mellifera*, especialmente em relação à *Mrjp3*.

1.1. Fatores que influenciam a produção de geleia real

Wielewski et al. (2012), que avaliaram parâmetros genéticos e fenotípicos para comportamento higiênico em abelhas africanizadas, relataram que vários países conduzem programas de melhoramento genético em *Apis mellifera* devido existir uma grande influência ambiental, além das diferenças genéticas nos níveis de acasalamento nesta espécie.

Alguns trabalhos relataram variação na produção de geleia real para abelhas *Apis mellifera* africanizadas de 188 a 234 mg/cúpula (Garcia et al., 2000; Queiróz et al., 2001; Mouro e Toledo, 2004; Toledo e Mouro, 2005; Faquinello et al., 2011), e 268 mg/cúpula, segundo Brown (1989). Toledo e Mouro (2005) afirmaram que a quantidade de geleia real obtida por cúpula varia conforme o tempo que esta é deixada dentro da colônia, e obtiveram médias de 253 mg/cúpula para as africanizadas e 198 mg/cúpula para as cárnicas.

Vantoor (2006) observou que, ao longo de um mês, a coleta após 48h da transferência da larva tem maiores rendimentos do que a coleta após 72h, e recomendou a técnica de duas colheitas, sendo a primeira após às 72h e a segunda 48h após. Este mesmo autor recomendou que colônias com rendimentos abaixo de 180 mg de geleia real/cúpula sejam substituídas.

Zheng et al. (2011) recomendaram que os novos padrões de avaliações para qualidade de geleia real na China considerem o tempo de colheita, pois encontraram diferenças significativas na qualidade de amostras colhidas 24, 48 e 72h após a transferência de larvas.

Azevedo (1996) verificou que as condições climáticas, como temperatura, umidade, precipitação e insolação, afetaram significativamente as áreas de cria e alimento e, conseqüentemente, a produção de geleia real, de modo que a precipitação pluviométrica teria efeito positivo sobre a produção.

Toledo e Mouro (2005) observaram as mesmas variáveis ambientais e relataram que a temperatura externa máxima e a umidade relativa do ar interferiram positivamente, ou seja, aumentaram a produção de geleia real, enquanto a precipitação pluviométrica influenciou negativamente.

Estudando variáveis influentes na produção, Toledo et al. (2010) afirmaram que a precipitação pluviométrica não influenciou a produção de geleia real assim como a

adição de suplemento proteico - 35%. Observaram também que a umidade relativa mínima do ar e a temperatura máxima afetaram negativamente o número de larvas aceitas e positivamente com a umidade relativa máxima.

Garcia e Nogueira-Couto (2005) relataram que há diferenças na aceitação de larvas para produção de geleia real realizada em diferentes períodos ao longo do ano.

A produção de geleia real é influenciada pelo número de coletas por temporada, a localização geográfica do apiário, a experiência do produtor e a origem genética das abelhas (OPIDA, 2009).

Em pesquisa que avalia a aceitação de larvas com a comparação entre grupos genéticos de origem italiana e africanizadas, Albarracín et al. (2006) não encontraram diferenças significativas entre eles, sendo a produção média de geleia real por colônia semelhante para ambos.

Sereia et al. (2010a) pesquisaram a utilização de suplementos com diferentes nutrientes na dieta apícola e concluíram que, por possuir uma origem glandular, a produção de geleia real varia de acordo com a qualidade nutricional das fontes disponíveis, e recomendaram a suplementação de abelhas africanizadas submetidas à produção de geleia real com viabilidade econômica ao apicultor. Inclusive, a influência das práticas de apicultura, como a utilização de alimentação artificial na produção de geleia real, é uma questão que faz parte das especificações da qualidade deste produto na França (OPIDA, 2009).

Pela qualidade nutricional de seis suplementos contendo diferentes fontes de óleo e proteína, Sereia et al. (2010b) indicaram a utilização de óleos de linhaça e palma combinados com levedo de cerveja para prolongar o tempo de vida de abelhas africanizadas.

A produção de geleia real envolve interações biológicas e comportamentais intrínsecas às abelhas, e sua variabilidade possui importantes componentes genéticos e ambientais internos e externos às colônias (Garcia e Nogueira-Couto, 2005; Toledo et al., 2010).

1.2. Cronologia da seleção para produção de geleia real

Como atividade do agronegócio em desenvolvimento no Brasil (Toledo et al., 2010), a apicultura tem atividades especializadas como a produção de geleia real que

tem alcançado interesse comercial em nosso país (Queiróz et al., 2001), embora ainda não seja considerada um produto da apicultura convencional (Sereia et al., 2010a).

A trajetória da apicultura técnica de exploração comercial no Brasil seguiu uma cronologia de introdução de abelhas de origem europeia, ocidental e africana, como descreveu Kerr (1972), comentando o histórico da apicultura no Brasil em fases: anterior a 1840 quando só cultivavam os meliponídeos, a partir de então com a introdução de abelhas *Apis mellifera* por imigrantes europeus, e de forma mais intensa após a introdução acidental de abelhas africanas *A. m. scutellata* em 1956.

Atualmente, há um poli-híbrido dessas subespécies de abelhas introduzidas no Brasil que passaram por processos de seleção natural e adaptaram-se, resultando no que denominamos hoje de abelhas *Apis mellifera* L. africanizadas (Kerr, 1957), com grande potencial de seleção pela sua diversidade genética (Toledo e Mouro, 2005).

Para Garcia e Nogueira-Couto (2005), as abelhas africanas adaptaram-se de modo excelente no Brasil pela semelhança das condições ambientais do território brasileiro com as de seu local de origem, pela alta capacidade adaptativa e pela capacidade de imprimir essa característica em seus descendentes de cruzamentos com outras subespécies, garantindo a expansão das abelhas africanizadas por todas as Américas.

No Brasil, a abelha africanizada apresentou desempenho superior às abelhas europeias presentes no continente. Além da alta capacidade de produção, essa nova abelha apresentou importantes características como rápida adaptação (apresentam alta herdabilidade para esta característica), desenvolvimento populacional, rusticidade, resistência a doenças, prolificidade, eficiência na polinização e maior capacidade de identificação de fonte de alimento (Gonçalves, 1974; Benson, 1985).

Nas regiões de Jaboticabal – São Paulo e Maringá- Paraná, Toledo (1997) e Mouro e Toledo (2004), respectivamente, encontraram maiores produções por colônias avaliando abelhas cárnicas híbridas em relação às africanizadas. Estes pesquisadores afirmaram que para conseguir aumento na produção de geleia real é indispensável selecionar as rainhas, e recomendaram que o critério a ser adotado para a seleção deve ser escolhido para não ocorrerem perdas em características adaptativas tais como a resistência a doenças. Também recomendaram a utilização de abelhas cárnicas híbridas como uma opção para os apicultores iniciarem a produção de geleia real durante o tempo em que a seleção de abelhas africanizadas não tiver sido efetuada.

Toledo e Mouro (2005), com experimentos realizados também em Maringá, de agosto de 1996 a março de 1998, utilizaram colônias de abelhas africanizadas coletadas

na natureza para a produção de geleia real. Após resultados iniciais, selecionaram as cinco colônias mais produtoras e as compararam com cinco colônias de rainhas cárnicas híbridas filhas de rainhas que vieram da Alemanha, e observaram que as abelhas africanizadas produziram mais geleia real comparadas às abelhas cárnicas.

As abelhas africanizadas, quando selecionadas, tanto para a produção de geleia real como para a produção de mel, mostraram-se mais efetivas na produção de geleia real que as abelhas cárnicas, e recomendaram como medida eficiente para elevar a produção, a seleção das colônias africanizadas em razão da diversidade genética dos enxames naturais dessas abelhas no Brasil, por apresentarem resultados significativos e serem aplicáveis à realidade do campo (Toledo e Mouro, 2005).

Em um experimento realizado nesta mesma região, comparando a produção de geleia real nos anos de 1996 e 1997 entre *A. mellifera* africanizadas e cárnicas híbridas, Mouro e Toledo (2004) observaram que a produção aumentou 109,19% na primeira geração após realizarem a seleção nas africanizadas.

Dados como estes confirmam os relatos de Pereira (1996), ao observar que as colônias descendentes das melhores produtoras de mel são mais efetivas na produção de geleia real que as descendentes das menos produtoras de mel, e também com os dados de Azevedo (1996) e Toledo (1997), que verificaram efeito genético na produção de geleia real e concluíram que colônias descendentes de outras melhores produtoras de geleia real apresentam também maior número de larvas aceitas e maior quantidade de geleia real depositada por cúpula.

De agosto de 2002 a fevereiro de 2003, Toledo et al. (2003) avaliaram a produção de geleia real em abelhas que receberam suplementação isoproteica a 30% e isolipídica a 5%, e observaram que ração contendo óleo de girassol pode aumentar a produção de geleia real produzida por colônia em 28,79%.

Vantoor (2006) relatou que se devem selecionar as colônias com produção de geleia real superior à média, considerando tamanho de colônias grande, alta produção de abelhas nutrizes e predisposição genética favorável.

Utilizando as características como aceitação de larvas, produção de geleia real por cúpula e por colônia, Faquinello et al. (2011) observaram que a seleção baseada na avaliação genética de rainhas contribui para o aumento da produção de geleia real. Ter uma rainha de qualidade significa também maior produção de ovos, o que conseqüentemente fortalecerá a colônia otimizando a produção (Doolittle, 1889).

Desde 2006, na Universidade Estadual de Maringá, intensificou-se o sistema de avaliações em colônias de abelhas africanizadas, pela atuação conjunta da genética quantitativa com a genética molecular, objetivando subsídios para iniciar um programa de melhoramento genético com seleção de características de interesse econômico, como o aumento da produção de geleia real. Com as avaliações técnicas realizadas no Setor de Apicultura da Fazenda Experimental de Iguatemi, recebendo apoio do Laboratório de Biologia Celular, iniciou-se de forma mais efetiva a compilação de dados para a seleção das abelhas matrizes *Apis mellifera* L. africanizadas.

Em experimentos laboratoriais, Baitala (2007) identificou, utilizando técnicas com marcadores minissatélite, sete alelos de *Mrjp3* nas abelhas africanizadas, produtoras de geleia real no setor. Baitala (2007) confirmou também o aumento da frequência dos alelos *C*, *D* e *E* da *Mrjp3* nas matrizes selecionadas.

Utilizando marcadores microssatélites para os locos *Mrjp3*, *Mrjp5* e *Mrjp8* em abelhas *A. mellifera* africanizadas produtoras de geleia real, Baitala et al. (2010) mostraram que os alelos *C*, *D* e *E* do locus *Mrjp3* estão associados à produção de geleia real.

Nas amostras analisadas por Farias et al. (2009), foram detectados os alelos *B*, *C*, *D*, *E* e *F* para o locus *Mrjp3* e os genótipos *B*_, *CD* e *DE*. Os resultados de produção neste período das avaliações genéticas indicaram que as rainhas analisadas apresentavam produção semelhante de geleia real, sugerindo que não havia diferença para os alelos sob seleção para esta produção, mas que os genótipos escolhidos para as rainhas matrizes estavam sendo mantidos nas rainhas e zangões filhos produzidos.

Lala et al. (2010) verificaram que realmente os genótipos selecionados estão sendo mantidos no apiário das abelhas matrizes da Fazenda Experimental de Iguatemi, fato corroborado por Parpinelli (2011) que pesquisou a variabilidade genética dos locos *Mrjp3*, *Mrjp5* e *Mrjp8* das abelhas matrizes *A. mellifera* L. africanizadas, selecionadas desde 2006, e observou a fixação destes alelos durante o processo de reprodução selecionada. De acordo com Casagrande-Pozza (2011), os alelos *C*, *D*, *E*, *F* e *G* do locus *Mrjp3* apresentam alta porcentagem de identidade com os alelos das MRJP3.

Faquinello et al. (2011) utilizaram a análise bayesiana para estimar os componentes de variância, covariância e parâmetros genéticos para produção de geleia real em abelhas africanizadas considerando o genótipo da matriz em função das características de produção. Durante seu período experimental de 2006 a 2009, foram verificadas características de produção de geleia real de abelhas rainhas filhas das matrizes. As características verificadas foram porcentagem de aceitação das larvas, produção de

geleia real por colônia e por cúpula, em sistemas de recria e minirrecria. Os resultados de correlação genética indicaram que a seleção para aumentar a produção de geleia real por colônia aumentou a aceitação de larvas e a produção de geleia real por cúpula.

A análise bayesiana é uma ferramenta que contribui para programas de seleção eficiente e vem sendo utilizada na avaliação de animais para obtenção de estimativas mais precisas, tendo em conta a distribuição dos dados, permitindo a análise em conjuntos com variados tamanhos, propiciando estimativas acuradas dos componentes de variância, valores genéticos e intervalos de credibilidade (Van Tassel e Van Vleck, 1995; Faquinello et al., 2011).

Utilizando a metodologia bayesiana na avaliação de colônias de *Apis mellifera* africanizadas, Costa-Maia et al. (2010) recomendaram este tipo de abordagem na obtenção de estimativas mais acuradas para pesquisa em abelhas, pois pode ser aplicada sem restrições para dados desta natureza.

As pesquisas realizadas na Universidade Estadual de Maringá, para obter os melhores rendimentos na produção de geleia real, estão fundamentadas em avaliações com abelhas africanizadas ao longo de vários anos em colônias fecundadas naturalmente (Faquinello et al., 2011), análises quantitativas e moleculares, com seleção baseada nos marcadores genéticos para proteína MRJP3 (Baitala et al., 2010) que se relacionam às colônias que apresentam produções quantitativas mais significativas de geleia real.

Contribuições como as de Toledo et al. (2003), Mouro e Toledo (2004), Toledo e Mouro (2005), Farias et al. (2009), Baitala et al. (2010), Lala et al. (2010), Toledo et al. (2010), Casagrande-Pozza (2011), Faquinello et al. (2011) e Parpinelli (2011), juntamente com esta pesquisa contribuem para a continuidade desta linha de pesquisa realizando seleção utilizando cruzamentos controlados com técnicas de inseminação instrumental a fim de se alcançar a homozigose nos indivíduos para definição do alelo que mais contribui para o maior incremento da produção.

O objetivo desta pesquisa foi predizer o valor genético para produção de geleia real em *Apis mellifera* L. africanizada, baseada em informações genéticas das colônias avaliadas por meio das características de produção (aceitação de larvas e produção de geleia real total por colônia e por cúpula), com a compilação de dados coletados desde 2006 até o experimento em 2011.

REFERÊNCIAS

- Albarracín V.N., Funari S.R.C., Arouco E.M.R., Orsi R.O. (2006) - Acceptance of larvae from different genetic groups of *Apis mellifera* in queen bee production. Arch. Latinoam. Prod. Anim., 14(2): 33-41.
- Albert S., Klaudiny J. (2004) - The MRJP/yellow protein family of *Apis mellifera*: identification of new members in the EST library. J. Insect Physiol., 50(1): 51-59.
- Albert S., Klaudiny J., Simúth J. (1996) - Newly discovered features of the updated sequence of royal jelly protein RJP57-1, longer repetitive region on C-terminus and homology to *Drosophila melanogaster* yellow protein. J. Apic. Res., 35(2): 63-68.
- Albert S., Klaudiny J., Simúth J. (1999a) - Molecular characterization of MRJP3, highly polymorphic protein of honeybee (*Apis mellifera*) royal jelly. Insect. Biochem. Mol. Biol., 29(5): 427-434.
- Albert S., Klaudiny J., Simúth J., Schmitzová J., Bhattacharya D. (1999b) - The family of major royal jelly proteins and its evolution. J. Mol. Evol., 49(2): 290-297.
- Azevedo A.L.G. (1996) - Estudos de parâmetros relacionados com a produção de geleia real em colmeias de *Apis mellifera* mais e menos produtivas. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 88 pp.
- Baitala T.V. (2007) - Análise genética das proteínas principais da geleia real (MRJPs) em abelhas *Apis mellifera*, africanizadas produtoras de geleia real. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá. 88 pp.
- Baitala T.V., Faquinello P., Toledo V.A.A., Mangolin C.A., Martins E.N., 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(2): 160-168.
- Brown R. (1989) - Hive products: pollen, propolis and royal jelly. Bee World, 70(3): 109-117.
- Benson K. (1985) - Africanized honey bees: their tactics of conquest. Am. Bee J., 125: 435-437.

Casagrande-Pozza A.P.B. (2011) - Sequenciamento dos alelos das proteínas principais da geleia real de abelhas *Apis mellifera* africanizadas. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá. 52 pp.

Chen L.C., Chen S.Y. (1995) - Changes in protein components and storage stability of royal jelly under various conditions. *Food Chem.*, 54(2): 195-200.

Chen S., Su S., Lin X. (2002) - An introduction to high-yielding royal jelly production methods in China. *Bee World.*, 83(2): 69-77.

Costa-Maia F.M., Lino D.A., Martins E.N., Toledo V.A.A., Faquinello P., Sereia M.J., Halak A.L., Meteorima F.N., Oliveira A.P.N.Z., Ostrovski K.R. (2010) - Modelagem da probabilidade de aceite e fecundação de rainhas africanizadas em mini-núcleos. In *Anais do 9º Encontro Sobre Abelhas, Brasil - Ribeirão Preto, 28-31 de julho, 2010*. pp.617.

Drapeau M.D., Albert S., Kucharski R., Prusko C., Maleszka R. (2006) - Evolution of the yellow/major royal jelly protein family and the emergence of social behavior in honey bees. *Genome Res.*, 16(11): 1385-1394.

Doolittle, G.M. (1889) - *Scientific queen-rearing*, Thomas G. Newman and Son, Chicago. 185 pp.

Faquinello P., Toledo V.A.A., Martins E.N., Oliveira C.A.L., Sereia M.J., Costa-Maia F.M., Ruvolo-Takasusuki M.C.C. (2011) - Parameters for royal jelly production in Africanized honeybees. *Sociobiology*, 57(3): 1-15.

Farias D.C.L., Ruvolo-Takasusuki M.C.C., Mangolim C.A., Faquinello P., Toledo V.A.A. (2009) - Genótipos de rainhas *Apis mellifera* L. africanizadas selecionadas para produção de geleia real. In *Anais do 18º EAIC, Brasil - Maringá, 30 setembro a 2 outubro, 2009*. pp. 1-3.

Fert G. (2011) - *Cría de reinas*. Campo e Abejas, Buenos Aires. 128 pp.

Fert G. (1997) - *Breeding queens*, O.P.I.D.A., Argagnon. 104 pp.

Garcia R.C., Nogueira-Couto R.H. (2005) - Produção de geleia real por abelhas *Apis mellifera* italianas, africanizadas e descendentes de seus cruzamentos. *Acta Sci. Anim. Sci.*, 27(1): 17-22.

Garcia R.C., Nogueira-Couto R.H., Malerbo-Souza D.T. (2000) - Cúpulas comerciais para produção de geleia real e rainhas em colmeias de abelhas *Apis mellifera*. *Sci. Agric.*, 57(2): 367-370.

Gonçalves L.S. (1974) - The introduction of the African bees (*Apis mellifera adansonii*) into Brazil and some comments on their spread in South America. *Am. Bee. J.*, 114: 414-419.

Haydak M.H. (1970) - Honey bee nutrition. *Annu. Rev. Entomol.*, 15:143-156.

Jianke L., Shenglu C., Boxiong Z., Songrun S. (2003) - Optimizing royal jelly production. Good queens are a must! *Am. Bee. J.*, 143(3): 221-223.

Kerr W.E. (1957) - Introdução de abelhas africanas no Brasil. *Brasil Apicola*, 3: 211-213.

Kerr W.E. (1972) - Melhoramento em abelhas. in: Camargo J.M.F (ed) *Manual de apicultura*, Agronômica Ceres, São Paulo, pp. 97-115.

Klaudiny J., Hanes J., Kulifajova J., Albert S., Simúth J. (1994) - Molecular cloning of two cDNAs from the head of the nurse honey bee (*Apis mellifera* L.) coding for related proteins of royal jelly. *J. Apic. Res.*, 33(2): 105-111.

Knecht D., Kaatz H.H. (1990) - Patterns of larval food production by hypopharyngeal glands in adult worker honey bee. *Apidologie*, 21(5): 457-468.

Lala B.S., Ruvolo-Takasusuki M.C.C., Casagrande A.P.B., Parpinelli R.S., Ostrovski K.R., Toledo V.A.A. (2010) - Determinação do genótipo de operárias de *Apis mellifera* africanizadas selecionadas para produção de geleia real. In *Anais do 19º EAIC*, Brasil, Guarapuava, 28-30 de outubro, 2010. pp. 1-4.

Mouro G.F., Toledo V.A.A. (2004) - Evaluation of *Apis mellifera* Carniolan and Africanized honey bees in royal jelly production. *Braz. Arch. Biol. Technol.*, 47(3): 469-476.

Ohashi K., Natori S., Kubo T. (1997) - Change in the mode of gene expression of the hypopharyngeal gland cells with an age-dependent role change of the worker honeybee *Apis mellifera* L. *Eur. J. Biochem.*, 249(3): 797-802.

OPIDA (2009) - Le guide technique du producteur de gelée royale, Office Pour L'information et la Documentation en Apiculture, Lion (France), 117 pp.

Parpinelli R.S. (2011) - Avaliação de marcadores microsatélites MRJPS em colônias de *Apis mellifera* africanizadas selecionadas para a produção de geleia real. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá. 54 pp.

Pereira F.M. (1996) - Estudos de fatores relacionados à produção de geleia real em colmeias de *Apis mellifera*, selecionadas para produção de mel. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 168 pp.

Queiróz M.L., Barbosa S.B.P., Azevedo M. (2001) - Produção de geleia real e desenvolvimento de abelhas *Apis mellifera*, na região semi-árida de Pernambuco. *Rev. Bras. Zootec.*, 30(2): 449-453.

Rembold H., Czoppelt C.H., Rao P.J. (1974) - Effect of juvenile hormone treatment on caste differentiation in honeybee *Apis mellifera*. *J. Insect Physiol.*, 20(7): 1193-1202.

Schmidt J.O., Buchmann S.L. (1997) - Other products of the hive. in: Graham J. M. (Ed.) *The hive and the honeybee*, Dadant and Sons, Hamilton (Illinois), pp. 927-988.

Schmitzová J., Klaudiny J., Albert S., Schröder W., Schreckengost W., Hanes J., Jůdová J., Simúth J. (1998) - A family of major royal jelly proteins of the honeybee *Apis mellifera* L. Cell. Mol. Life Sci., 54(9): 1020-1030.

Sereia M.J., Toledo V.A.A., Ruvolo-Takasusuki M.C.C., Sekine E.S., Faquinello P., Costa-Maia F.M. (2010a) - Viabilidade financeira da produção de geleia real com abelhas africanizadas suplementadas com diferentes nutrientes. Acta Sci. Anim. Sci., 32(4): 467-474.

Sereia M.J., Toledo V.A.A., Faquinello P., Costa-Maia F.M., Satilla E.S.C., Ruvolo-Takasusuki M.C.C., Furlan A.C. (2010b) - Lifespan of Africanized honey bees fed with various proteic supplements. J. Apic Sci., 54(2): 37-49.

Simúth J. (2001) - Some properties of the main protein of honeybee (*Apis mellifera*) royal jelly. Apidologie, 32(1): 69-80.

Toledo V.A.A. (1997) - Estudo comparativo de parâmetros biológicos e de produção de cera e geleia real em colônias de abelhas *Apis mellifera* africanizadas, cárnicas, italianas e seus híbridos. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 196 pp.

Toledo V.A.A., Mouro G.F. (2005) - Produção de geleia real com abelhas africanizadas selecionadas e cárnicas híbridas. Rev. Bras. Zootec., 34(6): 2085-2092.

Toledo V.A.A., Mello A. I. P., Sales P. J. P., Costa F. M., Ruvolo-Takasusuki M. C. C., Furlan A. C. (2003) - Ration containing sunflower oil rise royal jelly production in *Apis mellifera* Africanized honeybee colonies. In proceedings of 38th Apimondia Congress, Slovenia - Ljubljana, 24-29 August, 2003. pp. 1-3.

Toledo V.A.A., Neves C.A., Alves E.M., Oliveira J.R., Ruvolo-Takasusuki M.C.C., Faquinello P. (2010) - Produção de geleia real em colônias de abelhas africanizadas considerando diferentes suplementos proteicos e a influência de fatores ambientais. Acta Sci. Anim. Sci., 32(1): 93-100.

Van Tassel C.P., Van Vleck L.D. (1995) - A manual for use of MTGSAM. A set of fortran programs to apply gibbs sampling to animal models for variance component estimation, Departament of Agriculture/ Agricultural Research Service, Lincon, 86 pp.

Vantoor R.F. (2006) - Producing royal jelly, Bassdrum Books, Tauranga (New Zealand), 103 pp.

Wielewski P., Toledo V.A.A., Martins E.N., Costa-Maia F.M., Faquinello P., Lino-Lourenço D.A., Ruvolo-Takasusuki M.C.C., Oliveira C.A.L., Sereia M.J. (2012) - Relationship between hygienic behavior and *Varroa destructor* mites in colonies producing honey or royal jelly. Sociobiology, 59(1): 251-274.

Zheng H.Q., Jin S.H., Hu F.L., Pirk C.W.W., Dietemann V. (2009) - Maintenance and application of multiple queen colonies in commercial beekeeping. J. Apic. Res., 48(4): 290-295.

Zheng H.Q., Hu F.L., Dietmann V. (2011) - Changes in composition of royal jelly harvested at different times: consequences for quality standards. *Apidologie*, 42: 39-47.

II – VALOR GENÉTICO PARA ABELHAS AFRICANIZADAS SELECIONADAS PARA GELEIA REAL COM MARCADORES MOLECULARES

Resumo

O objetivo desta pesquisa foi estimar o valor genético para *Apis mellifera* L. africanizadas selecionadas utilizando-se marcadores moleculares, produção de geleia real, com a compilação de dados coletados de 2006 a 2011. As informações genéticas das colônias selecionadas e avaliadas foram obtidas utilizando técnicas de extração do DNA com marcadores moleculares para proteína MRJP3. Para as transferências de larvas na produção de rainhas e geleia real, foi utilizada sala climatizada com temperaturas médias entre 30°C e 35°C e umidade relativa do ar acima de 60%. A coleta de geleia real foi feita de 66 a 72h após. A partir das informações das colônias e da estrutura genealógica foram preditos valores genéticos para as características aceitação - %, geleia real total - g e geleia real por cúpula - mg. Foi utilizado o software de modelo animal Multiple Trait Gibbs Sam a análise bayesiana pling in Animal Models, cadeias de Gibbs de 58.500 ciclos, resultantes de 650.000 ciclos, com intervalos de descarte 65.000 e retirada de 10. As colônias foram classificadas em superior e inferior em função da média dos valores genéticos obtidos. Para comparar as médias dos valores genéticos em função dos genótipos, procedeu-se o teste de comparação múltipla de médias na rotina PROC GENMOD do Statistical Analysis System (SAS, 2007). Com a mesma rotina, foi estimada a probabilidade de classificação nas categorias superior e inferior desses genótipos considerando a distribuição de dados binomial com função de ligação logarítmica. As probabilidades de classificação foram testadas por meio do teste de T em 5% de significância. Foram considerados os efeitos ambientais de ano, época e modelo de colônia como apresentando distribuição plana, e de coleta como distribuição de qui-quadrado. Os alelos *D* e *E* tiveram maior valor genético para produção de geleia real. O genótipo *DE* se destacou, e junto aos *DC* e *CE* devem ser mantidos neste sistema de avaliações. Os demais genótipos devem ser descartados, pois apresentaram os piores desempenhos para as características avaliadas.

Palavras-chave: *Apis mellifera* L., MRJP3, inferência bayesiana, genótipos, avaliação genética.

THE GENETIC VALUE FOR AFRICANIZED HONEYBEES SELECTED FOR ROYAL JELLY WITH MOLECULAR MARKERS

Abstract

The aim of this research was to evaluate the genetic value for royal jelly production in *Apis mellifera* L. Africanized with the compilation of data collected since 2006. The genetic information of selected and evaluated colonies were obtained using techniques of DNA extraction with molecular markers for MRJP3 protein. For larvae transfer to produce queens and royal jelly a heated room was used, with temperatures between 30°C and 35°C and air humidity above 60%. The royal jelly collection was done after 66 to 72h with suction apparatus. From colonies information and genealogical structure, genetic values were predicted for parameters of: acceptance (%), total royal jelly (mg) and royal jelly per cups (mg). It was used the software Multiple Trait Gibbs Sampling in Animal Models, Gibbs chains with 58500 cycles, resulting in 650.000 cycles with disposal and removal intervals of 65000 and 10, respectively. The colonies were classified into superior and inferior. Comparing the genetic values averages as a function of genotypes, the test of multiple average comparison were realized, implemented in routine PROC GENMOD of the Statistical Analysis System (SAS, 2007). With the same routine the classification probability was estimated in superior and inferior categories of these genotypes, considering binomial distribution of data with log-link function. The classification probabilities were tested by T test at 5% significance. The environmental effects of year, time and type of colony were considered as having flat distribution and collection as qui-squared distribution. The alleles *D*, *E* and *C* are the most important when evaluating the parameters of production, acceptance, total royal jelly and royal jelly per cup, and promptly, the genotype *DE* had emphasis on royal jelly production. The genotype *DE* had a contrast, and should be maintained along with *DC* and *CE* in this evaluations system and other genotypes should be discarded because they had the worst performances.

Keywords: *Apis mellifera* L., MRJP3, bayesian inference, genotypes, genetic evaluation

INTRODUÇÃO

Após processos de seleção natural e adaptação, formou-se um poli-híbrido de subespécies de abelhas europeias e africanas introduzidas no Brasil. Atualmente denominado como abelhas *Apis mellifera* L. africanizadas (Kerr, 1957), com grande potencial de seleção pela diversidade genética (Toledo e Mouro, 2005). Vários países conduzem programas de melhoramento genético em *Apis mellifera* L. pela grande influência ambiental, além das diferenças genéticas nos níveis de acasalamento nesta espécie (Wielewski et al., 2012).

Mouro e Toledo (2004) utilizaram a genética clássica para avaliações quantitativas, em experimentos realizados a partir de 1997 na cidade de Maringá-PR e afirmaram que para conseguir aumento na produção de geleia real é indispensável selecionar as rainhas, pois observaram que a produção aumentou 109,19% na primeira geração após realizarem a seleção em abelhas africanizadas. Utilizando colônias de abelhas africanizadas coletadas na natureza, estas quando selecionadas para produção de geleia real mostraram-se mais efetivas que abelhas cárnicas (Toledo e Mouro, 2005). Avaliando características como aceitação de larvas, produção de geleia real por cúpula e por colônia, Faquinello et al. (2011) observaram que a seleção baseada na avaliação genética de rainhas contribuíram para o aumento da produção de geleia real.

A contribuição da genética molecular neste sistema de avaliações ocorreu com a identificação das proteínas MRJPs, que são bem caracterizadas em *A. mellifera* L. (Albert et al., 1996; 1999; Schmitzová et al., 1998; Albert e Klaudiny, 2004; Drapeau et al., 2006). Casagrande-Pozza (2011) observou que as MRJPs foram sugeridas por vários pesquisadores como marcadores genéticos em diferentes estudos de abelhas *A. mellifera* L., especialmente em relação à *Mrjp3*. Durante todos os anos de avaliações, o processo de reprodução ocorreu com acasalamentos orientados pela seleção por desempenho, sendo possível observar que a partir de 2006 ocorreu aumento da frequência dos alelos *C*, *D* e *E* do locus *Mrjp3* e a fixação destes alelos nas abelhas matrizes produtoras de geleia real no Setor de Apicultura da Fazenda Experimental de Iguatemi (Farias et al., 2009; Baitala et al. 2010; Lala et al., 2010; Parpinelli, 2011).

Para Resende (1994), o conhecimento dos valores genéticos é um fator decisivo na maximização do ganho genético dos indivíduos submetidos a melhoramento. Este mesmo autor define o termo valor genético como o mérito genético aditivo dos indivíduos, que é estimado com a utilização de todas as informações disponíveis sobre

esses candidatos. Esta predição de valores genéticos foi possível com a coleta de dados de pesquisas realizadas ao longo de cinco anos com cruzamentos por meio de fecundação natural, e seleção baseada nos marcadores genéticos que se relacionam com as colônias que apresentam produções mais significativas de geleia real. Estas avaliações fazem parte de um processo de seleção para se determinar as colônias mais produtoras.

O processo de seleção com avaliações em colônias africanizadas na Universidade Estadual de Maringá – UEM vem sendo realizado com análises quantitativas e moleculares, utilizando marcadores genéticos para proteína MRJP3. O objetivo deste trabalho foi predizer o valor genético para produção de geleia real em *Apis mellifera* L. africanizadas com a compilação de dados coletados de experimentos realizados de 2006 a 2011, e determinar se houve diferenças significativas entre as características avaliadas na produção, aliada aos valores genéticos preditos para as colônias produtoras.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido na Fazenda Experimental de Iguatemi - FEI, pertencente a UEM, de janeiro a abril de 2011, e os dados que contribuíram para o sistema de avaliações de abelhas africanizadas para predição dos valores genéticos nos parâmetros avaliados na produção de geleia real foram coletados de 2006 a 2011, concomitante com as extrações de DNA genômico das mesmas colônias selecionadas, com marcadores genéticos moleculares.

Identificação do DNA genômico

As informações genéticas das colônias selecionadas e avaliadas foram obtidas no Laboratório de Biologia Celular e Genética da UEM por Farias et al. (2009), Baitala et al. (2010), Lala et al. (2010) e Parpinelli (2011). Todos estes autores seguiram o método para extração do DNA total do tórax de abelhas operárias nutrizas, descrito por Bardakci e Skibinski (1994) e adaptado para ser utilizada em *Apis mellifera* L.

As reações de PCR - Polymerase Chain Reaction - foram realizadas usando *primers* específicos sintetizados para amplificar as regiões repetitivas do locus *Mrjp3* (Albert et al., 1999), sendo as reações de amplificação realizadas em um termociclador Techne

TC-512, e as condições de amplificações para o *primer* MRJP3 baseada no método descrito por Albert e Schmitz (2002).

Produção de rainhas e geleia real

A produção de rainhas foi realizada na FEI, em laboratório especializado para desenvolver tal atividade, em ambiente climatizado para as transferências de larvas, com temperaturas médias entre 30°C e 35°C e umidade relativa do ar acima de 60%. Tanto na produção de rainhas como na produção de geleia real foi utilizado o método Doolittle (1889) adaptado para transferência de larvas.

Na produção de rainhas, foram utilizados quadros porta-cúpulas contendo dois sarrafos com 15 cúpulas artificiais, que recebiam transferência representativa de um dos genótipos identificados. Cada quadro porta-cúpulas contava com dois sarrafos e 15 repetições (Fig. 1), totalizando 30 transferências de larvas para produção de rainhas por colônia.

Na produção de geleia real, em cada colônia produtora foi introduzido um quadro contendo três sarrafos e 100 cúpulas artificiais no total. As coletas foram realizadas de 66 a 72h após a transferência.

A produção de geleia real foi realizada utilizando colônias mantidas para esse propósito. O modelo de colônia recomendado e utilizado para produção de geleia real foi o de minirrecria por favorecer o manejo, inclusive com melhor controle da defensividade da colônia (Laidlaw e Eckert, 1962).

As rainhas foram removidas, introduzidos os quadros contendo as realeiras artificiais, cada uma com larvas de idade entre 12 e 36h, transferidas de sua célula de origem para cúpulas de acrílico contendo geleia real diluída em água destilada em proporções iguais (Schmidt e Buchmann, 1997; Wielewski et al., 2012). Após 66 a 72h os quadros eram removidos (Fig. 2), as larvas descartadas e a geleia real coletada com aparelho de sucção.

As transferências de larvas foram programadas, baseadas no cronograma seguido por Wielewski et al. (2012).

Logo após o nascimento das rainhas, elas foram introduzidas em núcleos para sua fertilização ou em colônias, substituindo as rainhas de má qualidade. Esta introdução ocorria após, no mínimo, 24h de orfanção da colônia receptora da nova rainha, preferencialmente à noite, para evitar risco de pilhagem e por ser um período de maior

aceite (Doolittle, 1889). O início da postura era monitorado e as avaliações com produção de geleia real iniciavam-se 50 dias após o início da postura, para garantir a substituição da genética, pois a longevidade média de uma operária africanizada é de 26,3 dias (Terada et al., 1975).

Análise estatística

A partir das informações das colônias e da estrutura genealógica foram preditos os valores genéticos das colônias e rainhas para as características ACE – aceitação em %, GRT - geleia real total em g e GRC - geleia real por cúpula em mg.

Para tanto foi utilizado o modelo animal do software MTGSAM - Multiple Trait Gibbs Sampling in Animal Models - desenvolvido por Van Tassel e Van Vleck (1995), utilizado para estimar a estrutura de (co) variâncias e parâmetros genéticos e para produzir os valores genéticos das colônias.

Na estratégia de análise, utilizaram-se cadeias de Gibbs de 58.500 ciclos, resultantes de 650.000 ciclos, com intervalos de descarte e retirada de 65.000 e 10, respectivamente.

A convergência das cadeias foram testadas por meio do teste de Heidelberger e Welch (1983), implementado na Biblioteca CODA - Convergence Diagnosis and Output Analysis - no software R. - versão 2.12.1.

De posse dos valores genéticos preditos, as colônias foram classificadas em superior e inferior, considerando as médias dos valores genéticos das características como critério de classificação.

Para cada genótipo, foi estimada a probabilidade de classificação nas categorias superiores e inferiores, a partir da rotina PROC GENMOD do Statistical Analysis System (SAS, 2007), em que se considerou a distribuição de dados binomial com função de ligação logarítmica.

As probabilidades de classificação para cada genótipo foram testadas por meio do teste de T, utilizando a rotina PROC GENMOD em nível de 5% de significância.

Para comparar as médias dos valores genéticos em função dos genótipos, procedeu-se o teste de comparação múltipla de médias, implementado na rotina PROC GENMOD.

Para reduzir efeitos de interferências ambientais na produção de geleia real, no modelo utilizado para predição dos valores genéticos, foram considerados os efeitos

ambientais de ano – 2006 a 2011, época - as quatro estações do ano, e tipo - modelo de colônia, como apresentando distribuição plana; e de coleta como distribuição de qui-quadrado.

Foi utilizada análise bayesiana com o uso do software MTGSAM como ferramenta para definir a genealogia e predizer os valores genéticos de cada colônia em relação às características avaliadas, como aceitação total de larvas por transferência – ACE %; produção total de geleia real por colônia – GRT g, e por cúpula - GRC mg. A utilização deste tipo de análise é apropriada para elevar a acurácia de conjunto de dados que seguem este tipo de protocolo de análise apícola.

O software SAS foi utilizado para determinar as diferenças entre as características de produção em relação aos valores genéticos preditos para as colônias avaliadas.

Considerando que cada colônia representa um superorganismo (Moritz e Southwick, 1992), foi trabalhado para as análises em questão com diferentes indivíduos – 78 unidades de repetição, num período correspondente a seis anos desde 2006 até 2011.

Os genótipos identificados que aparecem com maior frequência ao longo dos anos de seleção nas colônias submetidas para produção de geleia real são: *DE*, *DC*, *CE*, *EF* e *FG* (Parpinelli, 2011).

RESULTADOS

Classificação do desempenho

Na Tab. 1 encontram-se as diferenças estatísticas encontradas para as colônias selecionadas avaliadas pelas as características de produção, entre as classes de alto e baixo valor genético, considerando os genótipos.

Foi observado que não existiram diferenças estatísticas para a característica de aceitação (%) entre as categorias dos genótipos de *DE* a *EF*, sendo o genótipo *FG* aquele classificado como o que obteve o pior desempenho para esta característica com chances totais de aparecer abaixo da média obtida. Neste caso, o genótipo *DC* destacou-se por ter 71% de chance de estar classificado acima da média dos valores encontrados para aceitação.

Para a característica de produção de geleia real total por colônia (g) por colônia repetiram-se praticamente as mesmas condições de desempenho entre os genótipos e, embora não tenham havido diferenças estatísticas, o destaque ficou por conta do genótipo *DE* com 48% de chances em ser classificado como de alto valor genético para esta característica.

Quando avaliada a produção de geleia real por cúpula, o genótipo *DE* obteve a melhor classificação por apresentar 60% de probabilidade em estar acima da média, diferenciando significativamente do genótipo *EF* e não dos demais. O genótipo *EF* apresentou a pior classificação por existir 78% de possibilidade deste genótipo ser classificado como de baixo valor genético para tal característica.

Predição dos valores genéticos

As médias dos valores genéticos preditos para cada genótipo encontram-se na Tab. 2.

Para característica de aceitação de larvas, os valores genéticos dos genótipos *DE* e *DC* foram superiores em relação aos genótipos *CE*, *EF* e *FG*. Por não haver diferença entre o genótipo *DE* e todos os demais. O genótipo *DC* diferiu significativamente do genótipo *FG*, o qual apresentou o pior desempenho nesta característica.

A produção de geleia real total por colônia, o genótipo *DE* foi superior não se diferenciando apenas do genótipo *DC*, e diferenciando significativamente dos demais. Os genótipos *DC*, *CE*, *EF* e *FG* não diferenciaram significativamente entre si.

Na deposição de geleia real por cúpula, foi novamente o genótipo *DE* que se destacou como superior, diferenciando significativamente dos genótipos *DC* e *CE* e não significativamente dos genótipos *EF* e *FG*.

DISCUSSÃO

Dentre os fatores que afetam a produção de geleia real estão os fatores internos da colônia, como postura e aceitação de larvas, fatores externos como a nutrição e as condições climáticas de temperatura, precipitação e umidade, e ainda os fatores genéticos (Nogueira-Couto, 1992; Sereia et al., 2010; Toledo et al., 2010; Faquino et al., 2011).

Segundo Faquinello et al. (2011), para obter estimativas mais precisas, tendo em conta a distribuição dos dados e a possibilidade de trabalhar com um pequeno tamanho da amostra, a análise bayesiana está sendo cada vez mais utilizada em experimentações zootécnicas apícolas, pois produz estimativas precisas dos componentes de variância, valores genéticos (Rekaya et al., 2003) e intervalos de credibilidade, contribuindo para um programa de seleção eficiente. Porém, estudos com esses métodos não foram realizados para produção de geleia real em abelhas. Costa-Maia et al. (2010) recomendaram esta metodologia sem restrições para dados desta natureza, e sua utilização como ferramenta na obtenção de estimativas mais acuradas para pesquisa em abelhas.

Técnicas que usam duas coletas de geleia real por transferência não são recomendadas (Vantoor e Littlejohn, 1994), pois quanto maior a idade das larvas, maior é o consumo da geleia real. Muli et al. (2005), ao avaliar o potencial de produção de geleia real entre duas subespécies de *A. mellifera* L. africanas, verificaram que a coleta após três dias obteve maiores rendimentos de GRC - 349,5 mg - do que a coleta após dois dias - 236,3 mg. O número de cúpulas utilizadas deve ser definido conforme o status da colônia (Jianke, 2000).

Todas as pesquisas laboratoriais indicaram que certos alelos estão desaparecendo enquanto outros estão se mantendo, o que pode ser observado pelo aumento da frequência dos alelos relevantes na produção de geleia real. Após extração de DNA de abelhas operárias nutrizas, Baitala et al. (2010) e Parpinelli (2011) verificaram aumento na frequência dos alelos *C*, *D* e *E* nas abelhas matrizes que fazem parte deste sistema de avaliações genéticas fenotípicas e moleculares para produção de geleia real.

De acordo com Parpinelli (2011) a seleção baseada na produção de geleia real para a MRJPs está levando a homozigose desses loci, em especial a MRJP3 que apresentou o menor valor de heterozigosidade observada. A redução da heterozigosidade contribui com o fato dos alelos *C*, *D* e *E* terem aparecido com maior frequência e a redução da frequência para os alelos *F* e *G*.

Observando a característica de produção de geleia real total por colônia é possível perceber que o alelo *D* tem uma contribuição importante, pois foram os genótipos *DE* e *DC* que se destacaram. Análises anteriores também relacionam o genótipo *DE* com a maior produção de geleia real (Farias et al., 2009).

Durante todo o período em que foram realizadas as avaliações genéticas para produção de geleia real, os alelos que mais se relacionam com o aumento da produção

são mantidos ao longo do processo de seleção, concordando com a afirmação de Parpinelli (2011) de que a seleção de rainhas de *A. mellifera* L. africanizadas, melhores produtoras de geleia real, está mantendo os alelos *C*, *D* e *E* do locus *Mrjp3*, sendo que os alelos *D* e *E* desse locus estão em maior frequência nas rainhas analisadas.

Faquinello et al. (2011) encontraram a média da aceitação de larvas 52,13%, o que concorda com o desempenho de quase todos os genótipos nesta pesquisa, pois para esta característica apenas o genótipo *FG* foi classificado como inferior, sendo os demais superiores, destacando o genótipo *DC* com 71% de chances de ser assim classificado. Em uma pesquisa que compara o método Doolittle e o ‘Starter’ para produção de geleia real, Baumgratz et al. (2002) encontraram porcentagens de aceitação das larvas da ordem de 63% para o primeiro e 50% para o segundo, valores estes superiores aos 29,20%, observados por Toledo et al. (2010).

Doolittle (1889) foi pioneiro na criação de rainhas, e seu sistema se baseou na progressão ordenada dia após dia, da postura dos ovos até o momento da eclosão. Segundo Fert (1997), não há nenhuma diferença significativa no número de ovariolos em rainhas produzidas desta maneira, e a diferença de qualidade ainda não é comprovada.

A mesma classificação repetiu-se para a característica GRT, cuja média para Faquinello et al. (2011) foi de 6,26 g.

A média de GRC de 190,07 mg, encontrada por Faquino et al. (2011), relaciona-se com o fato do genótipo *DE* ter diferido estatisticamente apenas do genótipo *EF*, não havendo diferença entre os demais. Este fato concorda com Faquinello et al. (2011) que encontraram correlações positivas entre as características de produção de geleia real GRT e GRC, ACE e GRT, e baixa entre ACE e GRC.

A produção de geleia real sofre grande influência do ambiente. Os resultados de correlação genética em Faquinello et al. (2011) indicaram que a seleção aumentou a produção de geleia real por colônia, a aceitação de larvas e a produção de geleia real por cúpula.

É importante que em seleções realizadas, com base no desempenho das colônias, as características genéticas sejam estimadas (Calderone e Fondrk, 1991).

O valor genético é a parte do valor genotípico transmitida dos pais para os filhos. A predição dos valores genéticos auxilia as avaliações entre as análises estatísticas em genética quantitativa com a genética molecular. Segundo Costa-Maia et al. (2011), a

estimação acurada de parâmetros genéticos possibilita a predição do valor genético do animal e conseqüentemente a identificação dos animais geneticamente superiores.

Na média obtida para os valores genéticos, o genótipo *DE* obteve valores positivos para as três características estudadas, seguido pelo genótipo *DC* que também apresentou o valor médio de aceitação das larvas de forma positiva, ou seja, classificados como superiores.

Todos os demais genótipos apresentaram valores negativos em relação à média do valor genético, e isso significa que foram classificados como inferiores.

Para a aceitação de larvas na transferência, apenas existiram diferenças entre os genótipos *DC* e *FG*, sendo o genótipo *DC* foi superior aos demais.

Na produção de geleia real total por colônia, o genótipo *DE* classificado como superior apenas não diferiu estatisticamente do genótipo *DC*, e este não diferiu de todos os demais genótipos.

Na característica geleia real por cúpula, o genótipo *DE* foi superior, mas não diferenciou estatisticamente dos genótipos *EF* e *FG*, apenas do *DC* e do *CE*. Jianke (2000) encontrou menores valores de correlações genéticas entre ACE e GRC. Baumgratz et al. (2002) observaram produções por cúpula de 268 e 269 mg.

Quando a aceitação total de cúpulas é pequena pode ocorrer aumento na produção de geleia real total da colônia pelo aumento na quantidade de geleia depositada por cúpula (Jianke, 2000).

Foram preditos os valores genéticos para produção de geleia real e a utilização de técnicas de avaliação genética demonstraram que os alelos *D* e *E* - referentes às MRJP's - são os de maior valor genético para produção de geleia real.

As particularidades das abelhas como as influências ambientais e diferenças genéticas em nível de acasalamento, dificultam o melhoramento genético (Bienefeld et al., 2007). A produção de geleia real é uma característica genética controlada (Jianke e Aiping, 2005) e pelo seu elevado valor comercial, há uma necessidade de ferramentas para o estabelecimento de programas de melhoramento genético (Toledo et al., 2011).

Segundo Harbo e Rinderer (2005), a seleção de abelhas com genótipos superiores envolve o uso de técnicas de substituição de rainhas melhoradas, inseminação instrumental e seleção assistida por marcadores moleculares. Contudo, na literatura há poucos dados disponíveis associando marcadores moleculares a produção de geleia real (Toledo et al., 2011).

As contribuições em pesquisas como de Toledo (1997), Toledo et al. (2003), Mouro e Toledo (2004), Toledo e Mouro (2005), Farias et al. (2009), Baitala et al. (2010), Lala et al. (2010), Toledo et al. (2010), Casagrande-Pozza (2011), Faquinello et al. (2011), Parpinelli (2011) e deste presente estudo com a predição dos valores genéticos, são importantes em programas de melhoramento.

Estes dados contribuem para a continuidade desta linha de pesquisa com seleção baseada na predição dos valores genéticos das colônias selecionadas. No entanto, com cruzamentos controlados utilizando técnicas de inseminação instrumental, a fim de serem obtidos indivíduos homozigotos para definição do alelo que mais contribui para o maior incremento da produção de geleia real.

Em função das análises realizadas, conclui-se que os alelos *D*, *E* e *C* são os mais importantes quando as características de produção avaliadas são a aceitação de larvas e produção de geleia real total por colônia e por cúpula. Pontualmente, é o genótipo *DE* que se destacou na produção de geleia real.

Os genótipos *DE*, *DC* e *CE* devem ser mantidos no sistema de avaliações para produção de geleia real, e os demais genótipos devem ser descartados, pois apresentaram os piores desempenhos para as características avaliadas, importantes na produção.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Pesquisa Científica (CNPq), processo nº 303345/2008-0 e Fundação Araucária (FA) – protocolo 15095, convênio 422, pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

Albert S., Klaudiny J. (2004) - The MRJP/yellow protein family of *Apis mellifera*: identification of new members in the EST library. *J. Insect Physiol.*, 50(1): 51-59.

Albert S., Klaudiny J., Simúth J. (1996) - Newly discovered features of the updated sequence of royal jelly protein RJP57-1, longer repetitive region on C-terminus and homology to *Drosophila melanogaster* yellow protein. *J. Apic. Res.*, 35(2): 63-68.

Albert S., Klaudiny J., Simúth J. (1999) - Molecular characterization of MRJP3, highly polymorphic protein of honeybee (*Apis mellifera*) royal jelly. *Insect. Biochem. Mol. Biol.*, 29(5): 427-434.

Albert S., Schmitz J. (2002) - Characterization of major royal jelly protein-like DNA sequences in *Apis dorsata*. *J. Apic. Res.*, 41(3-4): 75-85.

Baitala T.V., Faquinello P., Toledo V.A.A., Mangolin C.A., Martins E.N., 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(2): 160-168.

Bardakci F., Skibinski D.O. (1994) - Application of the RAPD technique in tilapia fish: species and subspecies identification. *Heredity*, 73: 117-123.

Baumgratz L.L., Marchini L.C., Moreti A.C C.C (2002) - Efeito do método 'Starter' e da origem das larvas de abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L., 1758) em minirecrias para produção de geleia real. *Bol. Ind. Anim.*, 59(1): 71-77.

Bienefeld K., Ehrhardt K., Reinhardt F. (2007) - Genetic evaluation in the honey bee considering queen and worker effects – A BLUP- Animal Model approach. *Apidologie*, 38(1): 77-85.

Calderone N.W., Fondrk M.K. (1991) - Selection for high and low, colony weight gain in the honey bee, *Apis mellifera*, using selected queens and random males. *Apidologie* 22(1): 49-60.

Casagrande-Pozza A.P.B. (2011) - Sequenciamento dos alelos das proteínas principais da geleia real de abelhas *Apis mellifera* africanizadas. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá. 52 pp.

Costa-Maia F.M., Lino D.A., Martins E.N., Toledo V.A.A., Faquinello P., Sereia M.J., Halak A.L., Meteorima F.N., Oliveira A.P.N.Z., Ostrovski K.R. (2010) - Modelagem da probabilidade de aceite e fecundação de rainhas africanizadas em mini-núcleos. In *Anais do 9º Encontro Sobre Abelhas, Brasil - Ribeirão Preto, 28-31 julho, 2010*. pp. 617.

Costa-Maia F.M., Martins E.N., Toledo V.A.A., Lino-Lourenço D.A., Martins J.R., Sereia M.J., Faquinello P. (2011) – Questões decisivas para a melhoria genética da produção de mel. In *Memorias 5º Seminário Internacional de Apicultura Africanizada y Jornada de Divulgación de Resultados de Proyectos Financiados por el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, Colômbia - Bogotá, 21-22 Julio, 2011*. pp. 1-8.

Drapeau M.D., Albert S., Kucharski R., Prusko C., Maleszka R. (2006) - Evolution of the yellow/major royal jelly protein family and the emergence of social behavior in honey bees. *Genome Res.*, 16(11): 1385-1394.

Doolittle, G.M. (1889) - *Scientific queen-rearing*, Thomas G. Newman and Son, Chicago. 185 pp.

Faquinello P., Toledo V.A.A., Martins E.N., Oliveira C.A.L., Sereia M.J., Costa-Maia F.M., Ruvolo-Takasusuki M.C.C. (2011) - Parameters for royal jelly production in Africanized honeybees. *Sociobiology*, 57(3): 1-15.

Farias D.C.L., Ruvolo-Takasusuki M.C.C., Mangolim C.A., Faquinello P., Toledo V.A.A. (2009) - Genótipos de rainhas *Apis mellifera* L. africanizadas selecionadas para produção de geleia real. In Anais do 18º EAIC, Brasil - Maringá, 30 setembro a 2 outubro, 2009. pp. 1-3.

Fert G. (1997) - Breeding queens, O.P.I.D.A., Argagnon. 104 pp.

Harbo J.R., Rinderer T.E. (2005) - Breeding and genetics of honeybees, ARS, USDA, Agriculture Handbook No. 335: 49-57.

Heidelberger P., Welch P.D. (1983) - Simulation run length control in the presence of an initial transiente. Bull. Oper. Res. Soc. Am., 31(6): 1109-1144.

Jianke L. (2000) - Technology for royal jelly production. Am. Bee. J., 140(6): 469-472.

Jianke L., Aiping W. (2005) - Comprehensive technology for maximizing royal jelly production. Am. Bee J., 145: 661-664.

Kerr W.E. (1957) - Introdução de abelhas africanas no Brasil. Brasil Apicola, 3: 211-213.

Laidlaw H. H., Eckert, J.E. (1962) - Queen rearing, University of California Press, Berkeley.

Lala B.S., Ruvolo-Takasusuki M.C.C., Casagrande A.P.B., Parpinelli R.S., Ostrovski K.R., Toledo V.A.A. (2010) - Determinação do genótipo de operárias de *Apis mellifera* africanizadas selecionadas para produção de geleia real. In Anais do 19º EAIC, Brasil - Guarapuava, 28-30 outubro. 2010. pp 1-4.

Moritz R.F.A., Southwick E.E. (1992) – Bees as superorganisms, Springer-Verlag, New York. 395 pp.

Mouro G.F., Toledo V.A.A. (2004) - Evaluation of *Apis mellifera* carniolan and africanized honey bees in royal jelly production. Braz. Arch. Biol. Technol., 47(3): 469-476.

Muli E.M., Raina S. K., Mueke J.M. (2005) - Royal jelly production in East Africa: performance potential of the honey bees, *Apis mellifera scutellata* and *Apis mellifera monticola* in Kenya. J. Apic. Res. 44(4): 137-140.

Nogueira-Couto R.H. (1992) - Alguns fatores que afetam a produção de geleia real em colmeias de *Apis mellifera*. In: Anais do 1º Encontro Brasileiro Sobre Biologia de Abelhas e Outros Insetos Sociais, Brasil - Rio Claro-Ribeirão Preto, 1992. pp. 90-96.

Prpinelli R.S. (2011) - Avaliação de marcadores microssatélites MRJPS em colônias de *Apis mellifera* africanizadas selecionadas para a produção de geleia real. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá. 54 pp.

Rekaya R., Weigel K.A., Gianola D. (2003) - Bayesian estimation of parameters of a structural model for genetic covariances between milk yield in five regions of the United States. *J. Dairy Sci.*, 86: 1837-1844.

Resende M.D.V., Higa A.R. (1994) - Estimacão de valores genéticos no melhoramento de *Eucalyptus*: seleo em um carter com base em informao es do indivduo e de seus parentes. *Bol. Pesqui. Florest.*, (28/29): 11-36.

SAS - Statistical Analysis System (2007) - SAS user's guide version 8, 13th ed., Statistical Analysis System Institute, Cary, 2007.

Schmidt J.O., Buchmann S.L. (1997) - Other products of the hive. in: Graham J. M. (Ed.) *The hive and the honeybee, and the honey bee*, Dadant and Sons, Hamilton, pp. 927-988.

Schmitzová J., Klaudiny J., Albert S., Schröder W., Schreckengost W., Hanes J., Jdov J., Simúth J. (1998) - A family of major royal jelly proteins of the honeybee *Apis mellifera* L. *CMLS*, 54: 1020-1030.

Sereia M.J., Toledo V.A.A., Faquinello P., Costa-Maia F.M., Satilla E.S.C., Ruvolo-Takasusuki M.C.C., Furlan A.C. (2010) - Lifespan of Africanized honey bees fed with various proteic supplements. *J. Apic. Sci.*, 54(2): 37-49.

Terada Y., Garofalo C.A., Sakagami S.F. (1975) - Age-survival curves for workers of two eusocial bees (*Apis mellifera* and *Plebeia droryana*) in a subtropical climate, with notes on worker polytheism in *P. droryana*. *J. Apic. Res.*, 14(3/4): 161-170.

Toledo V.A.A. (1997) - Estudo comparativo de parâmetros biológicos e de produo de cera e geleia real em colônias de abelhas *Apis mellifera* africanizadas, cárnicas, italianas e seus híbridos. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 196 pp.

Toledo V.A.A., Mouro G.F. (2005) - Produo de geleia real com abelhas africanizadas selecionadas e cárnicas híbridas. *Rev. Bras. Zootec.*, 34(6): 2085-2092.

Toledo V.A.A., Mello A. I. P., Sales P. J. P., Costa F. M., Ruvolo-Takasusuki M. C. C., Furlan A.C. (2003) - Ration containing sunflower oil rise royal jelly production in *Apis mellifera* Africanized honeybee colonies. In *Proceedings of 38th Apimondia Congress*, Slovenia - Ljubljana, 24-29 august, 2003. pp. 1-3.

Toledo V.A.A., Neves C.A., Alves E.M., Oliveira J.R., Ruvolo-Takasusuki M.C.C., Faquinello P. (2010) - Produo de geleia real em colnias de abelhas africanizadas considerando diferentes suplementos proteicos e a influncia de fatores ambientais. *Acta Sci. Anim. Sci.*, 32(1): 93-100.

Toledo V.A.A., Faquinello P., Sereia M.J., Costa-Maia F.M., Martins E.N., Ruvolo-Takasusuki M.C.C., Parpinelli R.S., Ostrovski K.R. (2011) - Seleo de abelhas africanizadas para produo de geleia real. In *Memorias 5º Seminário Internacional de Apicultura Africanizada y Jornada de Divulgación de Resultados de Proyectos Financiados por el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural*, Colmbia - Bogotá, 21-22 julio, 2011. pp 1-9.

Van Tassel C.P., Van Vleck L.D. (1995) - A manual for use of MTGSAM. A set of fortran programs to apply gibbs sampling to animal models for variance component estimation, Departament of Agriculture/ Agricultural Research Service, Lincon, 86 pp.

Vantoor R.F., LittleJohn R.P. (1994) - Evaluation of hive management techniques in production of Royal jelly by honey bees (*Apis mellifera*) in New Zealand. J. Apic. Res., 33(3): 160-166.

Wielewski P., Toledo V.A.A., Martins E.N., Costa-Maia F.M., Faquinello P., Lino-Lourenço D.A., Ruvolo-Takasusuki M.C.C., Oliveira C.A.L., Sereia M.J. (2012) - Relationship between hygienic behavior and *Varroa destructor* mites in colonies producing honey or royal jelly. Sociobiology, 59(1): 251-274.

Tabela 1.
Probabilidade de classificação nas classes alto valor genético e baixo valor genético dos diferentes genótipos para as características de aceitação - ACE, geleia real total - GRT e geleia real por cúpula - GRC.

Genótipo	Classe	Características avaliadas		
		ACE (%)	GRT (g)	GRC (mg)
<i>DE</i>	Alto valor genético	0,50a	0,48 ^a	0,60 ^a
	Baixo valor genético	0,50	0,52	0,40
<i>DC</i>	Alto valor genético	0,71a	0,43 ^a	0,43ab
	Baixo valor genético	0,29	0,57	0,57
<i>CE</i>	Alto valor genético	0,50a	0,25 ^a	0,25ab
	Baixo valor genético	0,50	0,75	0,75
<i>EF</i>	Alto valor genético	0,44a	0,33 ^a	0,22b
	Baixo valor genético	0,56	0,67	0,78
<i>FG</i>	Alto valor genético	0b	0b	0,33ab
	Baixo valor genético	1	1	0,67

Médias seguidas por letras iguais dentro das classes, na mesma coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste T ($P > 0,05$)

Tabela 2.
Média dos valores genéticos para as características avaliadas em relação aos diferentes genótipos.

Genótipo	Valores genéticos		
	ACE (%)	GRT (g)	GRC (mg)
<i>DE</i>	0,8043ab	0,4505a	0,0234a
<i>DC</i>	2,3118 ^a	-0,0955ab	-0,007b
<i>CE</i>	-6,7991ab	-1,1013b	-0,0388b
<i>EF</i>	-4,2494ab	-0,612b	-0,0109ab
<i>FG</i>	-9,2538b	-1,2472b	-0,0283ab

Médias seguidas por letras iguais, na mesma coluna, não diferem estatisticamente entre si ($P > 0,05$)



Fig. 1. Retirada do quadro porta-cúpulas para produção de rainhas.



Fig. 2. Quadro porta-cúpulas com produção de geleia real.

III – CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ao longo dos anos em que várias pesquisas vêm sendo realizadas no Setor Apícola da Universidade Estadual de Maringá, a linha de pesquisa que visa à seleção de abelhas africanizadas para produção de geleia real vem evoluindo para a implementação de um programa de melhoramento genético.

O sistema de avaliações, inicialmente, baseado em análises quantitativas e na seleção de rainhas das colônias com produções superiores de geleia real, recebeu contribuição significativa a partir do momento em que a seleção passou a ser assistida por marcadores moleculares como a *Mrjp3*, comprovando desta maneira a ocorrência de uma seleção, pela identificação do material genético nas abelhas matrizes desse apiário.

Em função das análises realizadas, conclui-se que os alelos *D*, *E* e *C* são os mais importantes quando as características de produção avaliadas são a aceitação de larvas transferidas e as produções de geleia real total por colônia e por cúpula.

Pesquisas dirigidas por Toledo (1997), Toledo et al. (2003), Mouro e Toledo (2004), Toledo e Mouro (2005), Farias et al. (2009), Baitala et al. (2010), Lala et al. (2010), Toledo et al. (2010), Casagrande-Pozza (2011), Faquinello et al. (2011), Parpinelli (2011) e deste estudo com a predição dos valores genéticos das colônias avaliadas, contribuíram com dados importantes para manutenção desse material genético existente, e para seleção e descarte das colônias que apresentaram genótipos superiores ou inferiores.

Os genótipos *DE*, *DC* e *CE* devem ser mantidos no sistema de avaliações para produção de geleia real, e os demais genótipos devem ser descartados, pois apresentaram os piores desempenhos para as características avaliadas. O genótipo *DE* destacou-se na produção de geleia real.

Estes dados contribuem para a continuidade desta linha de pesquisa e possibilitam a adoção de novas estratégias para o direcionamento ao programa de melhoramento genético, como a utilização de cruzamentos controlados, com técnicas de inseminação instrumental, a fim de serem obtidos indivíduos homozigotos para definição do alelo que mais contribui para o maior incremento da produção de geleia real.

APÊNDICE

APÊNDICE A

Journal of Apicultural Science - Instructions for authors

Journal of Apicultural Science is a scientific journal intended to publish in English original papers in the field of the broad-sense beekeeping science. Submission of a paper implies that it reports original unpublished work, that it has not been accepted and is not under consideration for publication elsewhere. All authors must have read and approved the manuscript.

Submission of manuscripts

Manuscripts should be no longer than ten pages as a rule, i.e. about 30 000 characters (spaces excluded), including tables and figures (see template for more information).

Manuscripts should be submitted by e-mail: beata.panasiuk@man.pulawy.pl

Manuscripts should comply with the Instructions and be submitted as a MS Word 2000-2003 or 2007 file containing text, references, tables and figures (RTF or PDF files can be also accepted). The file should be labelled with the corresponding author's name, for example: Woyke_2010.doc. The manuscript should be typed in Times New Roman (12 single-spaced with margins of 2.5 cm at top, bottom and sides for editor's markings. Use italics only for latin names of organisms. The Editorial Board requests that authors whose native language is not English, have their manuscripts checked by an English-speaking person prior to submission. The Editorial Board maintains the option of returning, before evaluation, manuscripts which do not meet the instructions and/or acceptable standards of English.

Reviews

All manuscripts are examined initially by the Editorial Board for their appropriateness to the journal. Those which do not match the scope of journal or are of insufficient general interest are sent back promptly to their authors. The editor reserves the right to choose the reviewer/s. Each initially accepted manuscript is reviewed by one expert chosen by the handling editor. Reviewers are invited to present their comments and/or suggestions within 4 weeks after reception of the manuscript. Reviewers' comments are marked in Reviewer evaluation form and manuscript in reviewer mode and sent to the authors without their names to remain anonymous. The authors should correct

manuscript in accordance with the reviewers comments and must indicate in which ways the comments and suggestions were taken into account or why they were not taken into account. The corrected version should be returned to the handling editor within 3 months after the decision has been made. After this delay, it will be considered as a new manuscript. Corrected papers are sent to the experts from Associate Board for final acceptance.

Structure of manuscripts

The manuscript should be organized in the following way: title, author(s), author affiliation, brief summary with keywords, introduction, materials and methods, results, discussion, conclusions, acknowledgments, references, extended summary with keywords in Polish, figure captions, tables, figures, photos. The results and discussion should not be combined. Tables and figures, with their captions, should not appear in the text, but be placed together on separate sheets at the end of the manuscript.

Title of the paper should be as short as possible, clear and consistent with the subject. No abbreviations are allowed in the title save for the authors of taxonomic descriptions.

Surnames of authors are preceded by full first names. If there is more than one first name an initial of the second name is given. Below are full names and addresses of institutions at which the work was done. If authors affiliations do not clearly follow from the order of names and institutions the names and the institutions should be marked by the same character e.g a numeral. E-mail address of the corresponding author should be given.

Brief summary (not exceeding 2,000 characters, space including) should be in a form suitable for abstracting services. It should give a short account of the paper's content. It should contain no paragraphs, footnotes, references, crossreferences to figures and tables and undefined abbreviations

Keywords derived either from the title or from the main text ought to be informative of the subject. They should be placed at the end of summaries. The keywords, not to exceed seven, should be in the first case and in singular if possible. They should be written in lowercase letters, separated by comma.

Introduction needs to be very concise, well structured, and inclusive of all the information needed to follow the subject of the manuscript (including the objectives of the work).

Materials and Methods should briefly state the protocols used and describe the experimental materials clearly enough for the reader to be able to reproduce faithfully a similar study.

Results should be reported very concisely without detailed discussion of data contained in the tables. An emphasis should be put on the significance of differences or the phenomena described. The same data must not be simultaneously contained in tables and figures (graphs).

Discussion should state authors' interpretations and opinions, explain the implications of described findings, and make suggestions for future research. Its main function is to answer the questions posed in the Introduction (the subject), explain how the results support the answers and, how the answers fit in with existing knowledge on the topic.

Conclusions should generalize the results obtained. They should not be the summary of the paper or the recommendations for commercial beekeeping.

References

In the text, refer to author(s) name(s) and year of publication. When there are more than two authors, give the first author's name followed by et al. References cited together in the text should be arranged chronologically. Ex.: (Chmielewski, 2005, 2006; Hrassing and Crailsheim, 2009; Frączek et al., 2010).

In the reference list, the references should appear in alphabetical order. If there is more than one author, the order is as follows: publications of a single author in chronological order; publications of the same author with one co-author in chronological order; publications of the author with more than one co-author in chronological order.

Proceedings of articles submitted for publication, unpublished data, personal communications should not appear in the reference list but should be cited in the text as unpubl. data. All entries in the reference list must correspond to references in the text and vice versa.

The titles of journals should be abbreviated according to the rules of Biosciences Information Service (Biosis) or those of the Liste d'abréviations de mots des titres de publications en série (conforming to ISO 4, Centre international de ISSN, Paris). Words for which no abbreviation is given should be written in full. Examples are given below of the layout and punctuation to be used in the references:

Article

Frączek R., Żółtkowska K., Lipiński Z. (2009) - The activity of nineteen hydrolases in extracts from *Varroa destructor* and in hemolymph of *Apis mellifera carnica* worker bees. *J. apic. Sci.*, 53(1): 43-51.

Book

Morse R.A., Nowogrodzki R. (1990) - Honey bee pests, predators, and diseases, Cornell University Press, New York. Chapter in book Shimanuki H. (1990) - Viruses, in: Morse R.A., Nowogrodzki R. (Ed.) Honey bee pests, predators, and diseases, Cornell University Press, New York, pp. 12-26.

Electronic material

Bogdanov S. (2002) - Harmonised method of the International Honey Commission, [online]
http://www.apiculturacluj.com/ApiculturaCluj/italiano/Documents/IHCmethods_e.pdf
(accessed on 25 July 2010).

Conference proceedings

Bieńskowska M., Panasiuk B., Gerula D., Węgrzynowicz P. (2009) - Weight of honeybee queens and its effect on the quality of instrumentally inseminated queens. In Proceedings of 41st Apimondia congress, France - Montpellier, 15-20 September, 2009. pp. 135.

Extended summary (for translation into Polish) with paper title, initials and full surnames of authors and with keywords - not to exceed 3,000 characters of text. It gives a brief account of methods, results and conclusions. Polish authors should prepare it in Polish.

Tables, Figures and Photos

Tables presented in paper ought to be self-explanatory i.e. it should be comprehensible without making references to the main text. The headings must not contain symbols which are not generally known and the wording of headings must be concise. Tables and figures should be accompanied with descriptions. Tables - should be designed in such a way as to stand reduction to publication size (125 x 200 mm) without compromising legibility and should be referred to in the text by their number Tab. 1.

Figures (drawings, graphs) should be prepared on a white background and a size of 125 x 200 mm; larger illustrations will be reduced to publication size of which due allowance should be made (if scaled down to required size small print may become illegible). The figures must be identified by placing a number on the back e.g. Fig. 1, Fig. 2 etc. Graphs should be submitted as MS Excel 2000 files or in the TIF format scanned at 300 dpi resolution.

Photos should be supplied a grayscale JPG or TIF file scanned at 300 dpi resolution acceptable for Adobe Photoshop Image file format.