

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

PRODUÇÃO DE GELEIA REAL EM COLÔNIAS COM
RAINHAS SELECIONADAS, DIFERENTES CÚPULAS E
CONSUMO DE RAÇÃO

Autor: Heber Luiz Pereira
Orientador: Prof. Dr. Vagner de Alencar Arnaut de Toledo

MARINGÁ
Estado do Paraná
fevereiro - 2017

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

PRODUÇÃO DE GELEIA REAL EM COLÔNIAS COM
RAINHAS SELECIONADAS, DIFERENTES CÚPULAS E
CONSUMO DE RAÇÃO

Autor: Heber Luiz Pereira
Orientador: Prof. Dr. Vagner de Alencar Arnaut de Toledo
Coorientadora: Prof^ª. Dr^ª. Maria Josiane Sereia

Tese apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá - área de concentração: Produção Animal

MARINGÁ
Estado do Paraná
fevereiro - 2017

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

P436p Pereira, Heber Luiz
Produção de geleia real em colônias com rainhas selecionadas, diferentes cúpulas e consumo de ração / Heber Luiz Pereira. - Maringá, 2017.
50 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Vagner de Alencar Arnaut de Toledo.
Coorientadora: Prof.a Dr.a Maria Josiane Sereia.
Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2017.

1. Abelha africanizada (*Apis mellifera* L.). 2. Abelha - Melhoramento genético. 3. Abelha - Produção de geleia real. I. Toledo, Vagner de Alencar Arnaut de, orient. II. Sereia, Maria Josiane, coorient. III. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. IV. Título.

CDD 22. ed. 638.1



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

**PRODUÇÃO DE GELÉIA REAL EM COLÔNIAS
COM RAINHAS SELECIONADAS, DIFERENTES
CÚPULAS E CONSUMO DE RAÇÃO**

Autor: Heber Luiz Pereira
Orientador: Prof. Dr. Vagner de Alencar Arnaut de Toledo

TITULAÇÃO: Doutor em Zootecnia - Área de Concentração Produção
Animal

APROVADA em 24 de fevereiro de 2017.

Prof^ª Dr^ª Maria Josiane Sereia

Prof. Dr. Diogo Francisco
Rossoni

Prof^ª Dr^ª Regina Conceição
Garcia

Prof. Dr. Emerson Dechechi
Chambó

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

“É impossível progredir sem mudança, e aqueles que não mudam suas mentes não podem mudar nada”.

George Bernard Shaw

A meu pai, Salvador Porfírio Pereira, que sempre se mostrou forte às adversas situações da vida e que a satisfação na profissão a seguir é o caminho do sucesso.

À minha mãe, Leonina Batista, pelo exemplo de vida, integridade e honestidade, fazendo sempre o possível para que eu tivesse condições de estudar e crescer como pessoa.

Aos professores, Maria de Fátima Falcão Gomes, por me incentivar e iniciar meu apreço pela apicultura e Breno Veríssimo Gomes, por despertar meu senso crítico e paixão pela ciência.

Ao professor Dr. Vagner de Alencar Arnaut de Toledo e sua esposa, Djanety de Araujo, mais que tudo, foram como uma família para mim em Maringá.

Ao Samuel Bezerra da Silva, por me aconselhar desde jovem a estudar e ser uma das pessoas mais compreensivas que conheci, um exemplo de pessoa que ama os animais e a natureza.

Ao meu amor, Vanessa Akemi Izumida, pela força em todos os momentos inclusive no meio das abelhas.

Aos meus tios, Alexandre Negri e Isabel Batista, pelo incentivo e exemplo de que o estudo nos leva longe!

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual de Maringá.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa de estudos.

Ao meu orientador professor Dr. Vagner de Alencar Arnaut de Toledo, pela dedicação integral, orientação tanto teórica como prática, dispondo de suas atividades se necessário e se deslocando até a FEI para oferecer seus ensinamentos, mostrando sua paixão pela apicultura.

À minha coorientadora, professora Dr^a. Maria Josiane Sereia, pelos ensinamentos, e professor Diogo Rossoni, que ajudou com as análises estatísticas que trazem sentido aos dados coletados.

Ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia (PPZ) e aos docentes que o compõem por proporcionarem condições para o aprendizado.

Aos funcionários Denilson dos Santos Vicentin, pela dedicação e atenção nos assuntos do PPZ, e Elizabete dos Santos, do Departamento de Zootecnia, pelo profissionalismo e amizade.

Aos funcionários da Fazenda Experimental de Iguatemi, por terem contribuído para a realização da prática do experimento, em especial, o coordenador, Vicente,

que sempre esteve disposto a ajudar, e o técnico do setor de Apicultura, Roberto Alvarez, que sempre tinham um jeitinho mais prático para as atividades trabalhosas.

Aos membros do Grupo de Pesquisa com Abelhas (GPBee/UEM), pelas reuniões e troca de conhecimentos especialmente entre os colegas da pós-graduação do PPZ e PGM que participam deste grupo. Deixo minha especial consideração aos colegas de Pós-graduação, Rejane StubsParpinelli, LudmillaRonqui, Erica Gomes de Lima e Pedro da Rosa Santos.

Aos colegas da graduação que participaram ativamente no trabalho a campo, Gustavo Henrique Simões Pereira, Gabriel Araújo, Victor Okabe (grande amigo), Isabela Busto Carneiro, Taisakesi Campos e Artur Barreiro.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

HEBER LUIZ PEREIRA, filho de Salvador Porfírio Pereira e Leonina Batista, nasceu em Mamborê, Paraná, no dia 26 de janeiro de 1989; realizou os estudos do ensino fundamental, na escola municipal desembargador Carlos Garcia de Queiroz, e ensino médio no colégio adventista Jardim dos Estados, em Campo Grande, Mato Grosso do Sul, concluindo em 2006.

Em 2007, ingressou no curso de Zootecnia na Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, participou como bolsista em projetos de extensão na área de apicultura e iniciação científica na área de genética e melhoramento dos animais domésticos, concluindo os estudos em 2010.

Em março de 2011, iniciou no Programa de Pós-graduação em Zootecnia, em nível de mestrado, área de concentração Produção Animal, na Universidade Estadual de Maringá, realizando estudos na subárea de apicultura. Defendeu a dissertação em 28 de fevereiro de 2013.

Em março de 2013 ingressou no Programa de Pós-graduação em Zootecnia, em nível de doutorado, área de concentração Produção Animal, na Universidade Estadual de Maringá, realizando estudos na subárea de apicultura. Submeteu-se ao exame geral de qualificação no mês de agosto de 2016.

No dia 24 de fevereiro de 2017, submeteu-se à banca para defesa da tese.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE FIGURAS	xi
RESUMO	xii
ABSTRACT	xiv
I - INTRODUÇÃO	1
1.1. Melhoramento e seleção de abelhas africanizadas	2
1.2. Produção de geleia real	4
1.3. Nutrição de abelhas <i>Apis mellifera</i>	5
Referências	8
II - Objetivos gerais.....	15
III - PRODUÇÃO DE GELEIA REAL EM COLÔNIAS DE ABELHAS AFRICANIZADAS COM RAINHAS SELECIONADAS, USO DE CÚPULAS DO MODELO CHINÊS E SUPLEMENTAÇÃO.....	16
Resumo	16
Abstract	17
Introdução	18
Material e métodos	19
Produção de rainhas.....	20
Produção de geleia real.....	21
Resultados e discussão	23
Conclusão.....	28
Referências	28
IV - EFEITO DE VARIÁVEIS AMBIENTAIS, QUALIDADE E CONSUMO DE RAÇÃO EM COLÔNIAS PRODUZINDO GELEIA REAL	31
Resumo	31

Abstract	32
Introdução	33
Material e métodos	34
Análises dos suplemento e ingredientes.....	34
Consumo de ração e produção de geleia real.....	36
Resultados e discussão	37
Conclusão	41
Referências	41

LISTA DE TABELAS

		Página
Produção de geleia real em colônias de abelhas africanizadas com rainhas selecionadas, uso de cúpulas do modelo chinês e suplementação		
Tabela 1.	Distribuição dos 12 tratamentos entre as 24 colônias do Ensaio I.....	19
Tabela 2.	Distribuição dos 8 tratamentos entre as 16 colônias do Ensaio II.....	20
Tabela 3.	Composição química analisada das rações fornecidas, Matéria seca (MS), Matéria mineral (MM) Proteína bruta (PB), Fibra bruta (FB), Extrato etéreo (EE) e Energia bruta (EB).....	23
Tabela 4.	Ensaio I: análise de regressão para variáveis de produção de geleia real com abelhas africanizadas de diferentes grupos genéticos, com cúpulas do modelo chinês em posições diferentes no quadro porta-cúpulas e dois tipos de rações.....	25
Tabela 5.	Ensaio II: análise de regressão para variáveis de produção de geleia real com abelhas africanizadas de diferentes grupos genéticos, com cúpulas do modelo chinês em posições diferentes no quadro porta-cúpulas e dois tipos de rações.....	27
Efeito de variáveis ambientais, qualidade e consumo de ração em colônias produzindo geleia real		
Tabela 1.	Coeficiente de correlação de Pearson (r^2) com suas respectivas probabilidades (P) entre as variáveis independentes temperatura máxima (T _{máx}) e mínima (T _{mín}), umidade relativa do ar (Umidade), precipitação pluviométrica (Precipitação) e as variáveis dependentes porcentagem de cúpulas aceitas (% Aceite de larvas), produção de geleia real por cúpula (Geleia por cúpula), e produção de geleia real por colônia (Geleia por colônia) em duas etapas de produção de geleia real.....	37
Tabela 2.	Composição analisada do pão de abelha, rações e ingredientes utilizados no preparo da ração formulada, Matéria seca (MS), Matéria mineral (MM) Proteína bruta (PB), Fibra bruta (FB), Extrato etéreo (EE) e Energia bruta (EB).....	38

Tabela 3.	Valores obtidos para cálculo do DGM (Diâmetro geométrico médio) e Índice de Uniformidade de duas amostras de cada ração utilizada nos ensaios.....	38
-----------	--	----

LISTA DE FIGURAS

	Página
Produção de geleia real em colônias de abelhas africanizadas com rainhas selecionadas, uso de cúpulas do modelo chinês e suplementação	
Figura 1. Medidas das cúpulas convencionais ‘A’ e modelo chinês ‘B’	22

RESUMO

Esta pesquisa foi realizada em dois ensaios para avaliar a produção de geleia real em colônias de abelhas africanizadas de diferentes genótipos, com dois tipos de cúpulas e dois tipos de suplementação alimentar. No ensaio I, três genótipos de abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.), selecionadas para a produção de geleia real, para mel e sem seleção, foram submetidas à produção de geleia real com dois tipos de cúpulas, um modelo convencional e um modelo chinês de maior volume, e dois tipos de alimentação artificial, uma formulada e outra comercial. Foram utilizadas 24 colônias tipo minirrecria, os tratamentos distribuídos aleatoriamente, dois sarrafos com 33 cúpulas do modelo chinês e 30 cúpulas convencionais, alternados na posição superior ou inferior do quadro. Foram realizados 12 ciclos de produção de geleia real. Os parâmetros avaliados foram porcentagem de aceitação de larvas, geleia por cúpula (mg) e geleia por colônia/coleta (g). No ensaio II foram utilizadas 16 colônias sendo oito com rainhas selecionadas a partir de colônias do grupo genético próprio para produção de geleia real que obtiveram melhores resultados para aceite de larvas no ensaio anterior e oito com rainhas sem seleção. Foram analisados os parâmetros produtivos em dez ciclos de produção e compilados os dados climáticos de ambos os ensaios. Nas análises bromatológicas foram verificadas a qualidade dos suplementos fornecidos, os ingredientes utilizados e do pão de abelha para comparação. Os dados foram analisados utilizando modelos de regressão múltipla e beta através do software R. As cúpulas chinesas não devem ser utilizadas para produzir geleia real com abelhas africanizadas por influenciar de forma negativa a produção de forma geral. Uma geração não foi suficiente para melhorar a aceitação de larvas em cúpulas do modelo chinês, porém as abelhas selecionadas para produção de geleia real depositam mais geleia por cúpula que colônias não selecionadas. As variáveis ambientais não exercem

correlação significativa sobre os parâmetros produtivos exceto as temperaturas máximas e mínimas no Ensaio I. A ração formulada gerou maior estímulo à produção, e foi mais consumida no Ensaio I, fato que pode ser atribuído a granulometria, menor teor de proteínas e gordura.

Palavras-chave: aceitação de larvas, melhoramento genético, cúpulas chinesas

ABSTRACT

This research was carried out in two trials to evaluate the production of royal jelly in colonies of Africanized honeybees of different genotypes, with two types of cups and two types of food supplementation. In the Trial I, three Africanized honeybee genotypes (*Apis mellifera* L.), selected for production of royal jelly or honey and without selection, for a production of royal jelly with two types of cups, a conventional model and a Chinese model of higher volume, and two types of artificial feed being one formulated and another commercial. There were used 24 colonies and treatments were randomly distributed, two bars with 33 domes of the Chinese model and 30 conventional domes, alternated in the upper or lower position of the frame. Twelve cycles of royal jelly production were performed. The results were: percentage of larvae acceptance, jelly per cup (mg) and jelly per colony/collect (g). In Trial II were used 16 colonies, eight with queen selected from colonies of the selected genetic group to produce royal jelly that obtained better results for larvae acceptance in previous trial and eight with queens without selection. We analyzed the data produced in 10 production cycles and compiled the climatic data from both trials. Bromatological analyzes were done to check the quality of the supplements provided, the ingredients used and the honey bread for the results. The data were analyzed using the multiplicative and beta regression models through software R. The Chinese cups should not be used for the production of royal jelly with Africanized bees because it negatively influences the production in general. One generation was not sufficient to improve the acceptance of larvae in cups of the Chinese model but the bees selected for production of royal jelly deposit more jelly per cup than unselected colonies. The environmental variables do not exert a significant correlation on the productive effects except the maximum and minimum temperatures in Trial I. The main objective of this amendment is the production, quality and compliance

with the minimum requirements for the monitoring of the bread of bees analyzed. The ration formulated was the most consumed in Trial I, which can be attributed to grain size, lower protein and fat content.

Keywords: Larvae acceptance, bee breeding, Chinese cups.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38

I - INTRODUÇÃO

No Brasil podemos observar que as principais culturas agrícolas (soja, milho e trigo etc.) e criação de animais (bovinos, suínos, aves etc.) são constituídas de espécies exóticas, não diferente a espécie de abelhas mais criada é a *Apis mellifera*, esta é resultado das misturas de diferentes raças europeias e uma africana gerando um poli-híbrido conhecido como africanizada, essa raça africana foi introduzida em 1956 com o intuito de melhorar a produção de mel^[1].

Santos et al.^[2] levantaram indícios de que a chegada da abelha africanizada mudou a estrutura da rede de polinizadores nativos, monopolizando muitas interações, afirmando que podem exercer efeito negativo pelo fato de a abelha africanizada ser generalista e pode não ser um eficiente polinizador de muitas plantas nativas. No ano seguinte a esse estudo, Brittain et al.^[3] afirmaram que a interação entre *A. mellifera* e abelhas de outras espécies podem potencializar os efeitos da polinização da cultura da amêndoa, e que a biodiversidade é muito importante.

As abelhas africanizadas têm preferência por áreas desmatadas e foram encontradas significativamente com maior frequência fora da cobertura florestal em região de floresta amazônica sendo o desmatamento o mediador dos impactos da *A. mellifera* sobre os polinizadores nativos^[4]. Com a introdução de uma nova espécie, as nativas sofrem certo impacto e se adaptam a novas interações e as abelhas *A. mellifera* suplementaram ao invés de substituir a polinização por abelhas nativas. Segundo Garibaldi et al.^[5], essa integração irá favorecer a produção mundial das culturas.

O comportamento defensivo exacerbado foi um novo desafio para a apicultura que teve de se adaptar, e do ponto de vista da segurança pública. Dos Santos e Mendes^[6] caracterizam a abelha africanizada como espécie invasora exótica nociva, porém reconhecem sua importância e recomendam ações de recolhimento, de

39 destinação correta das colônias, visando seu aproveitamento para a produção de mel e
40 preservação da sua função biológica como espécie polinizadora.

41 Além do mel e do serviço de polinização, as abelhas têm muito mais a oferecer -
42 própolis, pólen, cera, geleia real e apitoxina são alguns dos produtos que se pode
43 explorar na criação de abelhas, sendo uma ótima alternativa de renda^[7].

44 Este trabalho trata da produção de geleia real com abelhas
45 *A.mellifera* africanizada, e os assuntos a seguir são as bases da produção animal, do
46 melhoramento genético, da nutrição e manejo para produção.

47

48

49 1.1.Melhoramento e seleção de abelhas africanizadas

50

51 O melhoramento genético é um processo que visa melhorar o potencial produtivo
52 das colônias de abelhas submetidas à produção, selecionando os melhores indivíduos
53 para serem utilizados como reprodutores das próximas gerações, e envolvem-se
54 cálculos, princípios científicos, biotecnologia, avanços em informática e tecnologia da
55 informação^[8].

56 As abelhas africanizadas possuem grande variabilidade genética com enorme
57 potencial de seleção, são resistentes a doenças e mais produtivas que abelhas
58 européias^[9], podendo ser dispensado tratamentos químicos contra o ácaro *Varroae* o
59 melhoramento genético para resistência ao *Varroa* que tem mostrado resultados
60 positivos^[10].

61 A rainha acasala com diversos machos no denominado voo nupcial e armazena o
62 sêmen na espermateca, essa característica faz com que as operárias tenham uma
63 variação de parentesco entre si. Bienefeld et al.^[11] atribuem o desempenho da colônia à
64 soma da contribuição da rainha e média da contribuição das operárias. A abelha rainha é
65 a peça chave da reprodução, responsável por manter a população de uma colônia, sendo
66 ela o principal alvo da seleção por ser de mais fácil controle e produção^[12].

67 Escolhendo a rainha como alvo de seleção, Costa^[13] estudou parâmetros genéticos
68 e fenotípicos em rainhas africanizadas por meio de inferência bayesiana, e obteve
69 estimativas altas de herdabilidade para características de peso, medidas de largura e
70 comprimento de asa e abdome, indicando que existe um potencial de seleção por

71 meiodessas características para esse poli-híbrido. Halak^[14] confirmou que características
72 como peso, comprimento e largura de abdome são passíveis de serem utilizadas como
73 critério de seleção em um programa de melhoramento.

74 Essas características fenotípicas são fortemente influenciadas por fatores
75 ambientais, clima e disponibilidade de recursos que podem afetar o desenvolvimento
76 das rainhas e seu potencial ser subestimado. Dessa forma indivíduos que possuem genes
77 de interesse podem ser descartados do programa de melhoramento se não possuem
78 caracterização genética que ligam a produção a marcadores moleculares^[15].

79 Vários autores usam métodos baseados em microsatélite e DNA mitocondrial para
80 caracterização genética^[16, 17, 18], mas ao se referir à produção de geleia real, o grupo de
81 proteínas conhecidas como *Major Royal Jelly Proteins* - MRJPs, que constituem entre
82 82 e 90% do total de proteínas da geleia, cujos genes codificadores estão localizados no
83 cromossomo 11 podem servir como marcadores moleculares^[19].

84 Destas proteínas (MRJP1, MRJP2, MRJP3, MRJP4 e MRJP5), cinco representam
85 aproximadamente 82% do conteúdo total de proteína da geleia real. Os genes que
86 codificam as proteínas MRJP3 e MRJP5 contêm regiões de sequências repetitivas
87 hipervariáveis (VNTR, *Variable Number of Tandem Repeats*) com diferentes tamanhos,
88 sequências e localizações, que podem mostrar alta variabilidade genética e, portanto,
89 podem ser usados para fazer genotipagens de indivíduos^[20].

90 A Universidade Estadual de Maringá, por meio do Programa de Pós-graduação
91 em Zootecnia e Pós-graduação em Genética e Melhoramento, vem realizando, desde
92 2003, estudos sobre o melhoramento de características produtivas como a produção de
93 mel e geleia real. Um dos primeiros trabalhos desenvolvidos foi o de Mouro e
94 Toledo^[21], cujo objetivo foi avaliar a produção de geleia real em colônias de abelhas
95 africanizadas e híbridas de cárnica na cidade de Maringá, Estado do Paraná.
96 Subsequentemente, Toledo e Mouro^[22] avaliaram a produção de geleia real em colônias
97 de abelhas europeias *Apis mellifera carnica* híbridas, em comparação às africanizadas
98 selecionadas para a produção de geleia real.

99 A partir de 2006, o programa de seleção passou a ser acompanhado pela
100 genotipagem dos melhores indivíduos associando o marcador MRJP3 com a produção
101 de geleia real^[15]. Parpinelliet al.^[23] verificaram que a seleção de rainhas de *A.*
102 *mellifera* africanizadas está mantendo os alelos *C*, *D* e *Edo* loco *MRJP3*, sendo que os
103 alelos *D* e *Edesse locus* estão em maior frequência nas rainhas analisadas com melhores
104 resultados produtivos.

105 Ostrovski-Tomporoskiet al.^[8]concluíram que os alelos *C*, *D* e *E*são os mais
106 importantes quando as características de produção avaliadas são a aceitação de larvas e
107 produção de geleia real total por colônia e por cúpula, e destaca os genótipos *DE*, *DC* e
108 *CE* que devem ser mantidos.Avaliando o grupo selecionado para geleia
109 real,Schafascheket al.^[24] observaram maior área de cria operculadae a infestação por
110 *Varroa destructor* menor aos 90 dias quando comparado com colônias sem seleção.

111

112

113 1.2.Produção de geleia real

114

115 Toda colônia privada da rainha inicia a produção de realeiras a partir de larvas
116 jovens com até três dias após a eclosão do ovo, nesse tipo de condição encontramos a
117 geleia real em quantidade significativa, o objetivo então é fazer com que as abelhas
118 operárias se sintam órfãs^[25].

119 A geleia pode ser coletada pelo apicultor simplesmente retirando a rainha da
120 colônia e após três a quatro dias colher a geleia real depositada nas realeiras
121 formadas,Toledo et al.^[26] observaram que a presença da rainha na colônia de abelhas
122 africanizadas, mesmo nova, não inibiu a construção de realeiras, tanto em épocas de
123 abundância de alimento como de escassez, comprovando o hábito enxameatório.
124 Portanto, teoricamente, seria fácil a indução artificial desse processo para produzir
125 rainhas ou geleia real em colônias de africanizadas.

126 O processo de produção de geleia real atualmente utilizado envolve a formação de
127 uma colônia que possa ser dividida com tela excludora em duas partes, uma parte não
128 recebe a visita da rainha e as operárias são estimuladas pela redução dos feromônios a
129 criar novas rainhas. São introduzidas células artificiais para rainhas, contendo larvas
130 recém-eclodidas, as abelhas operárias que possuem suas glândulas hipofaríngeas e
131 mandibulares no máximo desenvolvimento conhecidas como nutrizas são estimuladas a
132 depositar geleia real para alimentar as larvas em desenvolvimento^[27].

133 Para produzir geleia real, as operárias nutrizas precisam consumir pólen,
134 dependem de fatores internos, como área de cria e densidade populacional, e externos
135 como atividade de forrageamento das campeiras, para o estímulo à produção. Esse
136 *status* de nutriz possui certa flexibilidade permitindo às abelhas uma adaptação rápida

137 às necessidades e condições da colônia, podendo ocorrer transição funcional conhecida
138 como plasticidade fenotípica^[28, 29].

139 A produção de geleia real pode ser uma alternativa de renda para apicultores de
140 regiões onde a produção de mel é baixa, em períodos de pouca florada ou regiões
141 canavieiras onde o melato da cana tem menor aceitação e valor. Porém quando se
142 analisa a produção com abelhas africanizadas, observamos valores que ainda estão
143 distantes dos obtidos na China que atualmente é responsável por 90% da produção
144 mundial, com colônias que chegam a produzir 10kg por colônia ao ano ^[26, 30, 31, 32, 33].

145 A China, maior produtor mundial de geleia real, utiliza além de uma linhagem
146 selecionada por décadas a partir da *Apis mellifera ligustica*, materiais e técnicas para
147 maximizar a produção como uso de técnicas para produzir geleia sem a transferência
148 manual de larvas ^[34] e uso de cúpulas maiores, que chegam a ser preenchidas com
149 650mg de geleia, podendo aumentar de 20 a 30% a produção ^[35].

150 O nível tecnológico é um fator determinante e as inovações são imprescindíveis
151 para os ganhos de competitividade ^[36], a suplementação, por exemplo, aumenta a
152 aceitação de larvas transferidas e a produção de geleia real ^[26], e o uso de colônias
153 minirrecrias com três corpos e a tela entre o primeiro e segundo corpo com as
154 transferências no terceiro pode aumentar a produção em 50% utilizando colônias
155 selecionadas ^[37].

156 Garcia e Nogueira-Couto ^[38] e Toledo et al. ^[39] obtiveram resultados que indicam
157 influência de fatores ambientais, como temperatura máxima e umidade relativa do ar
158 sobre aceitação das larvas transferidas. Faquinello et al. ^[40] confirmam que a produção
159 de geleia real sofre grande influência do ambiente e afirmam que a seleção para
160 aumentar a produção por colônia aumentará a aceitação de larvas e a quantidade de
161 geleia por cúpula.

162

163

164 1.3. Nutrição de abelhas *Apis mellifera*

165

166 A nutrição desempenha papel importante na resistência ao estresse fisiológico e
167 ajustando o consumo de nutrientes, como proteínas e carboidratos, muitos animais
168 podem resistir melhor ao estresse. Uma nutrição deficiente pode contribuir para a

169 diminuição da população de abelhas, aumentando a sua vulnerabilidade a fatores de
170 estresse abióticos como pesticidas e bióticos como doenças ^[41].

171 As necessidades nutricionais das abelhas são supridas por carboidratos do néctar,
172 proteínas e outros nutrientes no pólen, mas pouco se sabe sobre como as abelhas
173 alcançam o equilíbrio nutricional ^[42]. Abelhas alimentadas com uma dieta rica em
174 proteínas tiveram melhor capacidade de sobreviver com agentes estressores, porém
175 quando permitida a escolha da alimentação, operárias não buscaram alimento rico em
176 proteína mesmo sobre estresse ^[41].

177 A relação proteína:carboidrato foi estudada por Pirk et al. ^[43] que observaram
178 maior longevidade quanto menor essa relação, melhores resultados foram obtidos com
179 carboidratos puros. Essa melhor resposta pode ser pela alta taxa metabólica de abelhas
180 mesmo em condições de repouso ^[42].

181 O pólen, principal recurso proteico, é fortemente correlacionado com o
182 desenvolvimento glandular e a produção de geleia real ^[44]. Di Pasquale et al. ^[45]
183 compararam o efeito da qualidade do pólen monofloral e polifloral sobre a fisiologia das
184 abelhas nutrizas (desenvolvimento das glândulas hipofaríngeas e níveis de
185 vitelogenina) e tolerância ao *Nosemaceranae* avaliando longevidade e atividade de
186 diferentes enzimas (glutathione-S-transferase (detoxificação); fenoloxidase (imunidade);
187 e fosfatase alcalina (metabolismo), tanto a fisiologia das abelhas nutrizas quanto a
188 tolerância a doenças foram influenciadas pela qualidade do pólen, porém estas mesmas
189 características não foram influenciadas pela diversidade do pólen.

190 A transformação do pólen em pão de abelha ajuda na conservação, acidificando o
191 meio, pão de abelha elaborado por abelhas africanizadas é menos ácido que de
192 europeias, e tem maior concentração de aminoácido do que o pólen apícola ^[46], assim
193 melhora a digestibilidade para as abelhas, porém foi o substrato mais correlacionado
194 com contaminação fúngica, segundo Keller et al. ^[47]; em contrapartida o processo de
195 fermentação influencia a atividade da enzima glicose oxidase, enzima importante para a
196 saúde da colônia pelo seu efeito antimicrobiano, conservando o pão de abelha na
197 colônia e ajudando no controle de doenças ^[48].

198 Sereia et al. ^[29] pesquisaram a utilização de suplementos com diferentes nutrientes
199 na dieta apícola e concluíram que, por possuir uma origem glandular, a qualidade de
200 geleia real independe do tipo de suplementação. Estes autores recomendaram a
201 suplementação de abelhas africanizadas submetidas à produção de geleia real com
202 viabilidade econômica ao apicultor.

203 Considerando estas informações, a produção de geleia real deve ser vista de forma
204 mais profissional visando maiores índices de produtividade, o melhoramento genético e
205 a nutrição que aliados a novas técnicas irá tornar rentável esse tipo de exploração.

206
207
208
209
210
211
212
213
214
215
216
217
218
219
220
221
222
223
224
225
226
227
228
229
230
231
232
233
234
235
236
237
238
239
240
241
242
243
244
245
246
247
248
249
250
251
252
253

Referências

1. Faita MR, Carvalho RMMC, Alves-Junior VV, Chaud-Netto J. Defensive behavior of africanized honeybees (Hymenoptera: Apidae) in Dourados-MatoGrosso do Sul, Brazil. *Revista Colombiana de Entomología*. 2014; 40(2): 235-240.
2. Santos GMDM, Aguiar CM, Genini J, Martins CF, Zanella FC, Mello MA. Invasive Africanized honeybees change the structure of native pollination networks in Brazil. *Biological Invasions*. 2012;14(11): 2369-2378.
3. Brittain C, Williams N, Kremen C, Klein AM. Synergistic effects of non-Apis bees and honey bees for pollination services. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*. 2013; 280(1754): 20122767.
4. Brown JC, Mayes D, Bhatta C. Observations of Africanized honey bee *Apis mellifera scutellata* absence and presence within and outside forests across Rondonia, Brazil. *Insectes Sociaux*. 2016; 63(4): 603-607.
5. Garibaldi LA, Steffan-Dewenter I, Winfree R, Aizen MA, Bommarco R, Cunningham SA, Bartomeus I. Wild pollinators enhance fruit set of crops regardless of honey bee abundance. *Science*. 2013; 339(6127): 1608-1611.
6. Dos Santos AMM, Mendes EC. Abelha africanizada (*Apis mellifera* L.) em áreas urbanas no Brasil: necessidade de monitoramento de risco de acidentes. *Revista Sustinere*. 2016; 4(1): 117-143.
7. Nogueira-Couto RHN, Couto LA. *Apicultura: manejo e produtos*. 3a ed. Jaboticabal: Funep; 2006.
8. Ostrowski-Tomporoski KR, Faquinello P, Costa-Maia FM, Ruvolo-Takasusuki MCC, Santos PR, Toledo VAA. Breeding program design principles for royal jelly. In: Chambó ED, editor. *Beekeeping and bee conservation – Advances in research*. 1a ed. Rijeka: InTech; 2016. p. 39-62.
9. Mendoza Y, Antúnez K, Branchiccela B, Anido M, Santos E, Invernizzi C. *Nosemaceranae* and RNA viruses in European and Africanized honeybee colonies (*Apis mellifera*) in Uruguay. *Apidologie*. 2014; 45(2): 224-234.

- 254 10. Lattorff HMG, Buchholz J, Fries I, Moritz RF. A selective sweep in a *Varroa*
255 *destructor* resistant honeybee (*Apis mellifera*) population. Infection, Genetics and
256 Evolution. 2015; 31: 169-176.
257
- 258 11. Bienefeld K, Ehrhardt K, Reinhardt F. Genetic evaluation in the honey bee
259 considering queen and worker effects - A BLUP - Animal Model approach.
260 Apidologie. 2007; 38(1): 77-85.
261
- 262 12. Tautz J. The buzz about bees: biology of a superorganism. Berlin: Springer; 2008.
263
- 264 13. Costa FM. Estimativas de parâmetros genéticos e fenotípicos para peso e medidas
265 morfométricas em rainhas *Apis mellifera* africanizadas [dissertação de mestrado].
266 Maringá: Universidade Estadual de Maringá; 2005.
267
- 268 14. Halak AL. Parâmetros e correlações genéticas e fenotípicas para peso e medidas
269 morfométricas em rainhas *Apis mellifera* africanizadas [dissertação de mestrado].
270 Maringá: Universidade Estadual de Maringá; 2012.
271
- 272 15. Ruvolo-Takasusuki MCC, Pozza APBC, Oliveira APNZ, Parpinelli RS, Costa-
273 Maia FM, Faquinello P, et al. Improvement and selection of honeybees assisted by
274 molecular markers. In: Chambó ED, editor. Beekeeping and bee conservation –
275 Advances in research. 1a ed. Rijeka: InTech; 2016. p. 63-75.
276
- 277 16. Papachristoforou A, Rortais A, Bouga M, Arnold G, Garnery L. Genetic
278 characterization of the cyprian honey bee (*Apis mellifera cypria*) based on
279 microsatellites and mitochondrial DNA polymorphisms. Journal of Apicultural
280 Science. 2013; 57(2): 127-134.
281
- 282 17. Oleksa A, Tofilski A. Wing geometric morphometrics and microsatellite analysis
283 provide similar discrimination of honey bee subspecies. Apidologie. 2015; 46(1):
284 49-60.
285
- 286 18. Techer MA, Clémencet J, Turpin P, Volbert N, Reynaud B, Delatte H. Genetic
287 characterization of the honeybee (*Apis mellifera*) population of Rodrigues Island,
288 based on microsatellite and mitochondrial DNA. Apidologie. 2015; 46(4): 445-454.
289
- 290 19. Drapeau MD, Albert S, Kucharski R, Prusko C, Maleszka R. Evolution of the
291 yellow/major royal jelly protein family and the emergence of social behavior in
292 honey bees. Genome Research. 2006; 16(11): 1385-1394.
293
- 294 20. Baitala TV, Faquinello P, Toledo VAA, Mangolin CA, Martins EN, Ruvolo-
295 Takasusuki MCC. Potential use of major royal jelly proteins (MRJPs) as molecular
296 markers for royal jelly production in africanized honeybee colonies. Apidologie.
297 2010; 41(2): 160-168.
298
- 299 21. Mouro GF, Toledo VAA. Evaluation of *Apis mellifera* Carniolan and Africanized
300 honey bees in royal jelly production. Brazilian Archives of Biology and
301 Technology. 2004; 47(3): 469-476.
302

- 303 22. Toledo VAA, Mouro GF. Produção de geléia real com abelhas africanizadas
304 selecionadas e cárnicas híbridas. Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia.
305 2005; 34(6): 2085-2092.
306
- 307 23. Parpinelli RS, Ruvolo-Takasusuki MCC, Toledo VAA. MRJP microsatellite
308 markers in Africanized *Apis mellifera* colonies selected on the basis of royal jelly
309 production. Genetics and Molecular Research. 2014; 13(3): 6724-6733.
310
- 311 24. Sereia MJ, Toledo VAA, Furlan AC, Faquinello P, Costa-Maia FM, Wielewski P.
312 Alternative sources of supplements for Africanized honeybees submitted to royal
313 jelly production. Acta Scientiarum. Animal Sciences. 2013; 35(2): 165-171.
314
- 315 25. Fert G. Cria de reinas.[local desconhecido]:Mundi Prensa; 2003.
316
- 317 26. Toledo VAA, Nogueira-Couto RH, Malheiros EB, Faquinello P, Sereia MJ.
318 Produção de realeiras em colônias híbridas de *Apis mellifera* L. e longevidade de
319 rainhas. Global Science and Technology. 2012; 5(2): 176-185.
320
- 321 27. Van Toor RF. Producing royal jelly: a guide for the commercial and
322 hobbyist beekeeper. Tauranga, NZ: Bassdrum Books; 2006.
323
- 324 28. Ament SA, Wang Y, Robinson GE. Nutritional regulation of division of labor in
325 honey bees: toward a systems biology perspective. Wiley Interdisciplinary
326 Reviews: Systems Biology and Medicine. 2010; 2(5): 566-576.
327
- 328 29. Schafaschek TP, Hickel ER, Pereira HL, Oliveira CAL, Toledo VAA. Performance
329 of Africanized honeybee colonies settled by queens selected for different traits.
330 Acta Scientiarum. Animal Sciences. 2016; 38(1): 91-100.
331
- 332 30. Queiroz ML, Barbosa SBP, Azevedo M. Produção de geleia real e desenvolvimento
333 de abelhas *Apis mellifera*, na região semi-árida de Pernambuco. Revista Brasileira
334 de Zootecnia. 2001; 30(2): 449-453.
335
- 336 31. Blomstedt W. A curious beekeeper travels through China - part III - royal jelly
337 production and science. American Bee Journal. 2013; 153(11): 1171-1175.
338
- 339 32. Sereia MJ, Toledo VAA, Ruvolo-Takasusuki MCC, Sekine ES, Faquinello P,
340 Costa-Maia FM. Viabilidade financeira da produção de geleia real com abelhas
341 africanizadas suplementadas com diferentes nutrientes. Acta Scientiarum. Animal
342 Sciences. 2010; 32(4): 467-474.
343
- 344 33. Cao LF, Zheng HQ, Pirk CWW, Hu FL, Xu ZW. High royal jelly-producing
345 honeybees (*Apis mellifera ligustica*) (Hymenoptera: Apidae) in China. Journal of
346 Economic Entomology. 2016; 109(2): 510-514.
347
- 348 34. Wu XB, Zhang F, Guan C, Pan QZ, Zhou LB, Yan WY, et al. A new method of
349 royal jelly harvesting without grafting larvae. Entomological News. 2015; 124(4):
350 277-281.
351

- 352 35. Chen S, Su S, Lin X. An introduction to high-yielding royal jelly production
353 methods in China. *Bee World*. 2002; 83(2): 69-77.
354
- 355 36. Khan AS, Matos VD, Lima PVPS. Desempenho da apicultura no estado do
356 Ceará: competitividade, nível tecnológico e fatores condicionantes. *Revista de*
357 *Economia e Sociologia Rural*. 2009; 47(3): 651-676.
358
- 359 37. Pereira HL. Produção de geleia real em colônias com rainhas selecionadas,
360 diferentes manejos rainhas selecionadas, diferentes manejos [dissertação de
361 mestrado]. Maringá: Universidade Estadual de Maringá; 2013.
362
- 363 38. Garcia RC, Nogueira-Couto RH. Produção de geleia real por abelhas *Apis mellifera*
364 italianas, africanizadas e descendentes de seus cruzamentos. *Acta Scientiarum.*
365 *Animal Sciences*. 2005; 27(1): 17-22.
366
- 367 39. Toledo VAA, Neves CA, Alves EM, Oliveira JR, Ruvolo-Takasusuki
368 MCC, Faquinello P. Produção de geleia real em colônias de abelhas africanizadas
369 considerando diferentes suplementos proteicos e a influência de fatores ambientais.
370 *Acta Scientiarum. Animal Sciences*. 2010; 32(1): 93-100.
371
- 372 40. Faquinello P, Toledo VAA, Martins EM, Oliveira CAL, Sereia MJ, Costa-Maia
373 FM, et al. Parameters for royaljellyproduction in Africanizedhoneybees.
374 *Sociobiology*. 2011; 57(3): 495-509.
375
- 376 41. Archer CR, Pirk CW, Wright GA, Nicolson SW. Nutrition affects survival in
377 African honeybees exposed to interacting stressors. *Functional ecology*. 2014;
378 28(4): 913-923.
379
- 380 42. Altaye SZ, Pirk CW, Crewe RM, Nicolson SW. Convergence of carbohydrate-
381 biased intake targets in caged worker honeybees fed different protein
382 sources. *Journal of Experimental Biology*. 2010; 213(19): 3311-3318.
383
- 384 43. Pirk CWW, Boodhoo C, Human H, Nicolson SW. The importance of protein type
385 and protein to carbohydrate ratio for survival and ovarian activation of caged
386 honeybees (*Apis mellifera* scutellata). *Apidologie*. 2010; 41(1): 62-72.
387
- 388 44. Keller IP, Fluri P, Imdorf A. Pollen nutrition and colony development in honey
389 bees - part II. *Bee World*. 2005; 86(2): 27-34.
390
- 391 45. Di Pasquale G, Salignon M, Le Conte Y, Belzunces LP, Decourtye A, Kretzschmar
392 A, et al. Influence of pollen nutrition on honey bee health: do pollen quality and
393 diversity matter? *PloSone*. 2013; 8(8): e72016.
394
- 395 46. DeGrandi-Hoffman G, Eckholm BJ, Huang MH. A comparison of bee bread made
396 by Africanized and European honey bees (*Apis mellifera*) and its effects on
397 hemolymph protein titers. *Apidologie*. 2013; 44(1): 52-63.
398
- 399 47. Keller KM, Deveza MV, Koshiyama AS, Tassinari WS, Barth OM, Castro RN, et
400 al. Fungi infection in honeybee hives in regions affected by Brazilian sac

- 401 brood. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. 2014; 66(5): 1471-
402 1478.
- 403
- 404 48. Čeksterytė V, Kurtinaitienė B, Jansen EH, Belova O. Melissopalynological analysis
405 and biochemical assessment of the nectariferous plants in Lithuania. Baltic
406 Forestry. 2014; 20(2): 218-229.

II - OBJETIVOS GERAIS

A) Avaliar a produção de geleia real em três genótipos de abelhas africanizadas com dois tipos de cúpulas e dois tipos de suplementação alimentar e o efeito destes na porcentagem de aceite das larvas transferidas nos sarrafos superior e inferior, geleia por cúpula, e geleia por colônia/coleta.

B) Verificar o efeito de variáveis ambientais sobre a produção de geleia real, o potencial de seleção de colônias com maior afinidade por cúpulas do modelo chinês e a qualidade das rações utilizadas como suplemento para colônias em produção.

1 **III - Produção de geleia real em colônias de abelhas africanizadas com rainhas**
2 **selecionadas, uso de cúpulas do modelo chinês e suplementação**
3

4 **RESUMO**

5 Esta pesquisa foi realizada para avaliar a produção de geleia real em dois ensaios. No
6 Ensaio I foram avaliados três genótipos de abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.),
7 submetidas à produção de geleia real, com dois tipos de cúpulas de tamanho e volume
8 diferentes (convencional e modelo chinês) e dois tipos de suplementos (01 comercial e
9 outro formulado). Foram utilizadas 24 colônias minirrecrias, dois sarrafos com
10 diferentes cúpulas cada, alternados entre a posição superior ou inferior do quadro. No
11 Ensaio II, 18 colônias, dois genótipos, os dois tipos de cúpulas e dois tipos de
12 suplemento. Os parâmetros avaliados foram porcentagem de aceite de larvas nos
13 sarrafos superior e inferior, geleia por cúpula (mg), e geleia por colônia/coleta (g). As
14 cúpulas chinesas não foram bem aceitas, fato que influenciou de forma negativa a
15 produção de forma geral; colônias selecionadas foram mais sensíveis à mudança de
16 cúpulas. Colônias de abelhas africanizadas não estão preparadas para produzir em
17 cúpulas de maior volume.

18

19 Palavras-chave: aceitação de larvas, cúpulas chinesas, suplementos

20 **III - Royal jelly production in Africanized colonies with selected queens, use of**
21 **cups of Chinese model and supplementation**

22

23 **ABSTRACT**

24 This research was carried out to evaluate the royal jelly production in three genotype
25 of Africanized honeybees (*Apis mellifera* L.), submitted to the production of royal jelly,
26 with two types of cups of different size and volume (conventional and Chinese
27 model) and two types of supplements (one commercial and one formulated). Twenty-
28 four colonies were used, two bars with different cups each, alternating between the
29 upper or lower position of the frame. In Trial II, 18 colonies, two genotypes, two types
30 of cups and two types of supplement. The evaluated parameters were: percentage of
31 larvae accepted in upper and lower bars, jelly per cup (mg), and jelly per
32 colony/collection (g). The Chinese cups were not well accepted, fact that influenced in a
33 negative way the production of general form, selected colonies were more sensible to
34 the change of cups. Colonies of Africanized bees are not prepared to produce in cups of
35 greater volume.

36 **Keyword:** larvae acceptance, Chinese cups, supplements.

37 **Introdução**

38

39 A geleia real é uma substância composta por uma mistura de secreções das
40 glândulas hipofaringeanas e mandibulares, localizadas na cabeça das abelhas operárias
41 de *Apis mellifera*. É durante a fase conhecida como ‘nutriz’ entre o 4-12 dia de vida que
42 as operárias atingem o completo desenvolvimento dessas glândulas e secretam proteínas
43 essenciais que fazem parte da alimentação de todas as crias na fase inicial e da rainha ao
44 longo de sua vida ^[1, 2].

45 Para produzir geleia real as operárias nutrizas precisam consumir pólen,
46 dependem também de fatores internos, como área de cria e densidade populacional, e
47 externos como atividade de forrageamento das campeiras, para o estímulo à produção.
48 Essa possui certa flexibilidade permitindo às abelhas uma adaptação rápida às
49 necessidades e condições da colônia, podendo ocorrer transição funcional conhecida
50 como plasticidade fenotípica ^[3, 4].

51 A produção de geleia real pode ser uma alternativa de renda para apicultores de
52 regiões onde a produção de mel é baixa, em períodos de pouca florada ou regiões
53 canavieiras onde o melato da cana tem menor aceitação e valor. Porém, quando se
54 analisa a produção com abelhas africanizadas, observamos valores que ainda estão
55 distantes dos obtidos na China que atualmente é responsável por 90% da produção
56 mundial, com colônias que chegam a produzir 10kg por colônia ao ano ^[5, 6, 7, 8, 9].

57 As bases para melhorar a produção são a seleção genética, a nutrição e o manejo;
58 o nível tecnológico é um fator determinante e as inovações são imprescindíveis para os
59 ganhos de competitividade ^[10], a suplementação, por exemplo, aumenta a aceitação de
60 larvas transferidas e a produção de geleia real ^[6], e o uso de colônias minirrecrias com
61 três corpos e a tela entre o primeiro e segundo corpo com as transferências no terceiro
62 pode aumentar a produção em 50% utilizando colônias selecionadas ^[11].

63 Como maior produtor mundial de geleia real, a China utiliza além de uma
64 linhagem selecionada por décadas, materiais e técnicas para maximizar a produção
65 como cúpulas maiores que chegam a ser preenchidas com 650mg de geleia e podem
66 aumentar de 20 a 30% a produção ^[12]. O setor de apicultura da Universidade Estadual
67 de Maringá pratica seleção para a produção de geleia real desde 2003, acompanha o

68 progresso pela avaliação anual da produção e introdução de novas técnicas que se
69 adaptem às abelhas africanizadas.

70 Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar modelos de cúpulas usadas na
71 China e as convencionais usadas em colônias de abelhas africanizadas com rainhas
72 selecionadas e não selecionadas suplementadas.

73

74 **Material e métodos**

75

76 A pesquisa foi realizada na Fazenda Experimental de Iguatemi da Universidade
77 Estadual de Maringá (FEI-UEM), no setor de apicultura, situada a 554,9m de altitude,
78 nas seguintes coordenadas geográficas: 23°25' de latitude Sul e 52°20' de longitude
79 Oeste, o Ensaio I no período de novembro de 2014 a maio de 2015 e o Ensaio II no
80 período de novembro de 2014 a maio de 2016.

81 **Ensaio I:** Foram utilizadas 24 colônias minirrecrias com rainhas selecionadas a
82 partir de colônias de linhagens próprias para produção de mel, geleia real, e sem
83 seleção, dois tipos de cúpulas, convencional acrílica e modelo chinês, dois tipos de
84 ração, uma comercial (BeeFood®) e outra formulada conforme Sereia et al. [4] com
85 adaptação, totalizando 12 tratamentos (Tabela 1).

86

Tabela 1. Distribuição dos 12 tratamentos entre as 24 colônias do Ensaio I

Genética	Posição das cúpulas chinesas	Ração
Selecionadas para produção de geleia real (8)	Sarrafo superior (4)	Formulada (2)
		Comercial (2)
	Sarrafo inferior (4)	Formulada (2)
		Comercial (2)
Selecionadas para produção de mel (8)	Sarrafo superior (4)	Formulada (2)
		Comercial (2)
	Sarrafo inferior (4)	Formulada (2)
		Comercial (2)
	Sarrafo superior (4)	Formulada (2)
		Comercial (2)

Sem seleção (8)	Sarrafo inferior (4)	Formulada (2)
		Comercial (2)

87

88

89 **Ensaio II:** foram utilizadas 18 colônias minirrecrias com rainhas filhas de colônias
 90 selecionadas para produção de geleia real com melhores resultados para aceitação de
 91 cúpulas do modelo chinês obtidos no Ensaio I e filhas de colônias sem seleção oriundas
 92 de captura, submetidas à produção com dois tipos de cúpulas artificiais, convencional e
 93 modelo chinês, como também dois tipos de ração, comercial (BeeFood®) e formulada,
 94 conforme Sereia et al. [4, 8] com modificações. Os tratamentos foram distribuídos
 95 aleatoriamente (Tabela 2).

96

Tabela 2. Distribuição dos 8 tratamentos entre as 16 colônias do Ensaio II

Genética	Posição das cúpulas chinesas	Ração
Selecionadas para produção de geleia real (8)	Sarrafo superior (4)	Formulada (2)
		Comercial (2)
	Sarrafo inferior (4)	Formulada (2)
		Comercial (2)
Sem seleção (8)	Sarrafo superior (4)	Formulada (2)
		Comercial (2)
	Sarrafo inferior (4)	Formulada (2)
		Comercial (2)

97

98

99 **Produção de rainhas**

100 Para padronizar as colônias em ambos os ensaios com cinco favos de cria, dois de
 101 pólen, dois de mel e um quadro porta cúpulas, foram primeiramente produzidas rainhas
 102 a partir de nove colônias mãe selecionadas por marcador molecular MRJP. Para isso
 103 utilizaram-se oito colônias minirrecria, iniciadoras e terminadoras, cada uma com dois

104 núcleos sobrepostos e separados por uma tela excludora de rainha. O método utilizado
105 para a produção das rainhas foi o descrito por Doolittle^[13], que consiste na transferência
106 de larvas de operárias do favo de cria para cúpulas artificiais acrílicas contendo geleia
107 real, diluída a 50%. As larvas transferidas tinham menos de 48h para melhor
108 aceitação^[14].

109 No núcleo superior de cada minirrecria usada para produção de rainhas, foi
110 colocado um caixilho porta-cúpulas, contendo 45 cúpulas com larvas de diferentes
111 genealogias devidamente identificadas e distribuídas aleatoriamente. Dez dias após a
112 transferência de larvas, as realeiras foram retiradas das minirrecrias e alocadas
113 verticalmente em frascos de vidro de 20 mL com papel e alimento tipo cândi,
114 identificando-se a genealogia e o número da minirrecria. Em seguida, foram colocadas
115 em estufa própria para criação de rainhas com temperatura entre 34 e 35°C ^[15]e umidade
116 de 60%.

117 As rainhas recém-emergidas foram anestesiadas com CO₂ e registrado o peso vivo
118 (mg) em balança de precisão de 0,001 g, selecionando as rainhas sem defeitos e com
119 peso acima de 200 mg, marcando elas no tórax com cores escolhidas conforme a sua
120 genealogia. Em seguida, foram alojadas em gaiolas tipo JZsBZs™ e distribuídas
121 aleatoriamente nos núcleos orfanados para fecundação com 24 a 72h de antecedência à
122 introdução da nova rainha. No momento da introdução, os favos foram inspecionados
123 quanto à presença de realeiras e estas destruídas. As rainhas foram aceitas e
124 confirmaram postura após dez a 15 dias.

125

126 **Produção de geleia real**

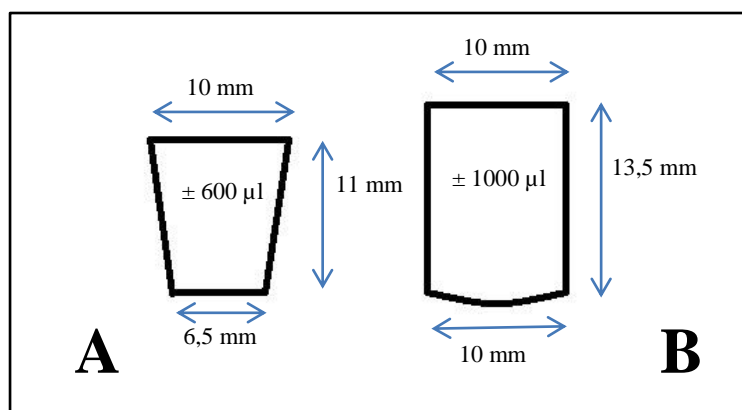
127

128 O sistema de produção de geleia real avaliado neste trabalho foi ode minirrecria,
129 composta por dois núcleos sobrepostos, formadas a partir dos núcleos de fecundação
130 que se desenvolveram no período de 50 dias em que a população de operárias era
131 substituída por filhas da nova rainha, para que a população avaliada fosse da genética da
132 rainha introduzida; a produção de geleia real por colônia foi avaliada após este período.

133 Para a produção de geleia real o processo foi semelhante ao de produção de
134 rainhas, sendo que neste caso, o processo é interrompido 68-72h após a transferência e a
135 geleia real é coletada. Para obtenção de larvas apropriadas para a transferência foi feita
136 a introdução de um favo vazio quatro dias antes da transferência no centro de diferentes

137 colônias. Assim, no momento da transferência, o favo continha larvas recém-eclodidas
 138 com um dia de idade e/ou ovos. Após a transferência das larvas, os sarrafos de
 139 transferência foram cuidadosamente devolvidos cada um a sua respectiva minirrecria.
 140 Foram realizadas, no Ensaio I 18.144, transferências de larvas e 288 coletas observadas,
 141 e no Ensaio II 10.080 transferências de larvas e 160 coletas observadas.

142 Cada minirrecria foi composta de nove favos, sendo cinco favos no corpo inferior,
 143 separado por tela excludora do segundo com quatro favos mais um quadro porta-
 144 cúpulas com dois sarrafos. Os sarrafos eram compostos de cúpulas convencionais
 145 acrílicas (10/6,5 mm de diâmetro x 11 mm altura, com volume de cerca 600 μ l) com 30
 146 cúpulas cada ou modelo chinês (10/10 mm x 13,5 mm, com volume de cerca 1000 μ l)
 147 de 33 cúpulas, em posições alternadas (sarrafo superior ou inferior) conforme Figura 1,
 148 e alimentador de cobertura.
 149



150 **Figura 1.** Medidas das cúpulas convencionais 'A' e
 151 modelo chinês 'B'
 152

153 A coleta da geleia real foi realizada 68 a 72h após a transferência com um sistema
 154 de sucção mediante bomba de vácuo, sem o contato manual com a geleia real. Foram
 155 avaliadas a porcentagem de aceitação de larvas transferidas no sarrafo superior e
 156 inferior (% das cúpulas aceitas de cada sarrafo), peso das larvas descartadas (mg), a
 157 produção de geleia real por colônia/coleta (g) e por cúpula (mg). A geleia real coletada
 158 foi pesada em balança de precisão de 0,001 g, acondicionada em potes de 100 g e
 159 congelada. Em seguida, feita nova transferência de larvas.

160 Ao serem devolvidas as transferências a suas respectivas colônias foi fornecida a
 161 alimentação energética com solução 1:1 água e açúcar (sacarose), mais 38 g de
 162 suplemento à base de óleos de linhaça e palma, proteína concentrada de soja e levedo de

163 cerveja adaptado de Sereia et al. ^[16], com 16,24% de proteína bruta (PB) ou uma outra
 164 comercial (BeeFood[®]) com 23,75% de PB (Tabela 3). O consumo de ração foi
 165 calculado com base na matéria seca, diferença do peso seco inicial e peso seco das
 166 sobras.
 167

Tabela 3. Composição química analisada das rações fornecidas, Matéria seca (MS),
 Matéria mineral (MM) Proteína bruta (PB), Fibra bruta (FB), Extrato etéreo (EE) e
 Energia bruta (EB)

Ração	MS (%)	MM (%)	PB (%)	FB (%)	EE (%)	EB (cal/g)
Formulada	87,77	1,86	16,24	0,85	4,22	4133,70
Comercial	74,86	2,90	23,75	1,48	6,89	4080,21

168

169 Os dados obtidos foram analisados utilizando o software R ^[17], com regressão
 170 beta para as variáveis de aceitação de cúpulas por possuir com valores muitos
 171 Overdadeiros e regressão múltipla para explicar as demais variáveis, e para comparar as
 172 médias dessas últimas foi utilizado o teste de Tukey com nível de significância de 5%
 173 para comparação dos tratamentos.
 174

174

175 **Resultados e discussão**

176

177 A inclusão de cúpulas chinesas influenciou os dados coletados em relação aos
 178 parâmetros produtivos. Pois seja na posição superior ou inferior, com ração comercial
 179 ou formulada, com abelhas selecionadas ou não, sempre que tínhamos as cúpulas
 180 chinesas, a aceitação de larvas, a quantidade de geleia real por cúpula e o total de geleia
 181 real produzida por colônia em cada coleta eram baixos, quando não eram nulos.

182 O valor médio para peso por cúpula de geleia real, no Ensaio I, quando utilizadas
 183 as cúpulas tradicionais foi de 210,5 mg, e para porcentagem de aceite de larvas 42,37%
 184 valor superior ao encontrado por Toledo et al. ^[18] que obtiveram 213,5 mg por cúpula e
 185 29,2% de aceitação de larvas usando abelhas africanizadas não selecionadas um
 186 progresso considerável que teve um sentido oposto com cúpulas chinesas que atingiu o

187 valor médio de 126,42 mg de geleia real por cúpula e 7,66% das cúpulas aceitas.
188 Jiankee Aiping^[19] relatam que a produção de geleia real por colônia possui uma
189 correlação positiva com o número de cúpulas aceitas ($r=0,95$), mas a quantidade de
190 geleia real por cúpula apresenta uma correlação negativa com número de cúpulas
191 aceitas, fato não observado com esse tipo de cúpula ($r=0,14$).

192 Estas linhagens foram as mesmas testadas por Toledo e Mouro^[20] em comparação
193 com abelhas cárnicas, que foram superiores às duas linhagens, porém estas não
194 diferiram entre si na produção de geleia real, o que pode ser atribuído a uma correlação
195 genética para estas características, o que confirma os resultados de Faquinello et al.^[21],
196 que encontraram correlação genética de 0,42 para a seleção de rainhas melhores para
197 estas duas características.

198 No Ensaio I o tipo de ração não exerceu efeito sobre a produção de geleia real por
199 colônia (Tabela 4). Sahinleret al.^[22], trabalhando com colônias de
200 *Apis mellifera caucasica*, obtiveram para o tratamento com suplementação um aumento
201 de 19,0% e 28,4% para peso de geleia real por cúpula e por colônia, respectivamente,
202 neste estudo as rações comercial e formulada influenciaram a aceitação de larvas, a
203 quantidade de geleia depositada por cúpula e o consumo de ração.

204 A ração utilizada por Sereia et al.^[4] foi testada quanto ao custo-benefício e
205 mostrou melhorias na produção de geleia real, em outro trabalho. Sereia et al.^[16]
206 verificaram que suplementos como este, contendo uma mistura de poli-insaturados e
207 ácidos graxos saturados com óleo de linhaça, óleo de palma, proteína isolada de soja e
208 levedura de cerveja, resultava em maior longevidade e menor taxa de mortalidade do
209 que os suplementos elaborados somente com as fontes de poli-insaturados ou ácidos
210 graxos saturados. Isto justifica os dados encontrados por Toledo et al.^[18] em que a
211 adição de suplemento proteico (35%) não aumentou a produção de geleia real em
212 colônias de abelhas africanizadas.

213 Estudando o desenvolvimento de colônias na região de Maringá, Costa et al.^[23]
214 encontraram teor de proteína bruta entre 20 a 25% para o período de abril a maio,
215 justificando o baixo consumo da suplementação proteica nessa época.

216 Garcia e Nogueira-Couto^[24] relataram que há diferenças na aceitação de larvas e
217 produção de geleia real realizada em diferentes períodos ao longo do ano e esta medida
218 está correlacionada com a produção por colônia. Esse aumento pode estar mais ligado ao
219 crescimento das colônias que ao final do Ensaio I estavam fortes e poucas ainda
220 continham algum favo com cera alveolada.

221

Tabela 4. Ensaio I: análise de regressão para variáveis de produção de geleia real com abelhas africanizadas de diferentes grupos genéticos, com cúpulas do modelo chinês em posições diferentes no quadro porta-cúpulas e dois tipos de rações

	Modelos de regressão	Variáveis significativas a 5%	R ² Ajustado
	Regressão beta		
AT	-1,36638+0,0392(DAT)+0,5158(GEN)+0,2711(ALI)+0,5756(CUP) - 0,0591(T.máx)+0,2538(T.mín)-0,0436(UMI)+0,0326(PREC)	GEN, ALI, CUP, T. mín, UMI, PREC	24,07
	Regressão múltipla		
GC	0,95048-0,0243(DAT)-0,001(GEN)-0,025(ALI)+0,034(CUP) - 0,021(T.máx)-0,06(T.mín)+0,001(UMI)+0,001(PREC)	DAT, ALI, CUP, T. máx	27,24
GT	14,9619-0,0365(DAT)+1,2091(GEN)+0,2513(ALI)+1,1534(CUP) - 0,4243(T.máx)+0,6663(T.mín)-0,01682(UMI)+0,0933(PREC)	GEN, CUP, T. máx, T. mín, UMI, PREC	26,63
CRR	29,2888-2,1884(DAT)-1,4671(GEN)-4,2250(ALI)+1,1838(CUP)- 0,8489(T. máx)-1,2345(T. mín)+0,5270(UMI)+0,1063(PREC)	DAT, ALI, T. mín, UMI	44,72

AT-aceitação total de larvas (sarrafo superior e inferior); GC-geleia real por cúpula; GT-geleia real por colônia; CRR-consumo real de ração; GEN-grupo genético; DAT-ciclo de produção; CUP-posição das cúpulas do modelo chinês (sarrafo superior ou inferior); ALI-tipo de suplemento fornecido (formulado ou comercial); T.máx-temperatura máxima no ciclo; T.mín-temperatura mínima no ciclo; UMI-umidade relativa média no ciclo; PREC-precipitação no ciclo (mm).

222

223 No Ensaio II verificamos que o grupo genético não influenciou a aceitação de
224 larvas e a produção de geleia real por colônia por coleta, apenas parâmetro geleia real
225 por cúpula ($p < 0,001$), 197 mg/cúpula com abelhas selecionadas para produção de geleia
226 real e 155 mg/cúpula com colônias não selecionadas (Tabela 5).

227 Fica claro que uma geração não foi suficiente para obter efeitos positivos sobre
228 todos os parâmetros, a grande diferença é que as abelhas africanizadas são um poli-
229 híbrido com pouca seleção, mas adaptadas ao meio ambiente, diferente das europeias
230 que são subespécies selecionadas por muitos e muitos anos como pode ser visto nas
231 abelhas italianas na China ^[9]. Faquinello et al. ^[21] afirmaram que a produção de geleia
232 real sofre grande influência do ambiente e que a seleção para aumentar a produção por
233 colônia aumentará a aceitação de larvas e a quantidade de geleia por cúpula.

234 O tipo de ração teve efeito significativo sobre a quantidade de geleia real
235 depositada por cúpula ($p = 0,0197$) e geleia por colônia/coleta ($p = 0,0353$), com melhores
236 resultados as colônias que consumiam a ração formulada.

237

238

239

240

241

242

243

Tabela 5. Ensaio II: análise de regressão para variáveis de produção de geleia real com abelhas africanizadas de diferentes grupos genéticos, com cúpulas do modelo chinês em posições diferentes no quadro porta-cúpulas e dois tipos de rações

	Modelos de regressão	Variáveis significativas a 5%	R ² Ajustado
	Regressão beta		
AT	-2,6712-0,0320(DAT)-0,1774(GEN)-0,2018(ALI)-0,0546(CUP) +0,2814(T.máx)-0,3046(T.mín)+0,0019(UMI)+0,0203(PREC)	T. máx, T. mín	28,92
	Regressão múltipla		
GC	-0,0530+0,0011(DAT)+0,0383(GEN)-0,0219(ALI)-0,0019(CUP) +0,0187(T.máx)-0,0180(T.mín)+0,001(UMI)+0,0005(PREC)	GEN, ALI, T. máx, T. mín	22,63
GT	-1,3216-0,1453(DAT)+0,0498(GEN)-0,6844(ALI)-0,4398(CUP) +0,9144(T.máx)-0,9566(T.mín)-0,0093(UMI)+0,0714(PREC)	ALI, T. máx, T. mín, PREC	36,33
CRR	-1,7886-2,2004(DAT)+1,6979(GEN)-2,2383(ALI)+1,6850(CUP)- 0,0333(T. máx)+0,3800(T. mín)+0,3606(UMI)-0,20005(PREC)	DAT	47,97

AT-aceitação total de larvas (sarrafo superior e inferior); GC-geleia real por cúpula; GT-geleia real por colônia; CRR-consumo real de ração; GEN-grupo genético; DAT-ciclo de produção; CUP-posição das cúpulas do modelo chinês (sarrafo superior ou inferior); ALI-tipo de suplemento fornecido (formulado ou comercial); T.máx-temperatura máxima no ciclo; T.mín-temperatura mínima no ciclo; UMI-umidade relativa média no ciclo; PREC-precipitação no ciclo (mm).

244

245 **Conclusão**

246

247 Uma geração não foi suficiente para melhorar a aceitação de larvas em cúpulas do
248 modelo chinês, porém as abelhas selecionadas depositam mais geleia por cúpula que
249 colônias não selecionadas. As abelhas africanizadas ainda não estão preparadas para
250 trabalhar em cúpula de maior volume e a seleção deve ser feita para se identificar
251 colônias com maior afinidade por esse tipo de cúpula. A razão formulada gerou maior
252 estímulo a produção.

253

254

255 **Referências**

256

- 257 1. Nogueira-Couto RHN, Couto LA. Apicultura: manejo e produtos. 3a ed.
258 Jaboticabal: Funep; 2006.
- 259 2. Feng M, Fang Y, Li J. Proteomic analysis of honeybee worker (*Apis mellifera*)
260 hypopharyngeal gland development. BMC Genomics. 2009; 10(645): 1-12.
- 261 3. Ament SA, Wang Y, Robinson GE. Nutritional regulation of division of labor in
262 honey bees: toward a systems biology perspective. Wiley Interdisciplinary
263 Reviews: Systems Biology and Medicine. 2010; 2(5): 566-576.
- 264 4. Sereia MJ, Toledo VAA, Ruvolo-Takasusuki MCC, Sekine ES, Faquinello P,
265 Costa-Maia FM. Viabilidade financeira da produção de geleia real com abelhas
266 africanizadas suplementadas com diferentes nutrientes. Acta Scientiarum. Animal
267 Sciences. 2010; 32(4): 467-474.
- 268 5. Queiroz ML, Barbosa SBP, Azevedo M. Produção de geleia real e desenvolvimento
269 de abelhas *Apis mellifera*, na região semi-árida de Pernambuco. Revista Brasileira
270 de Zootecnia. 2001; 30(2): 449-453.
- 271 6. Toledo VAA, Nogueira-Couto RH, Malheiros EB, Faquinello P, Sereia MJ.
272 Produção de realeiras em colônias híbridas de *Apis mellifera* L. e longevidade de
273 rainhas. Global Science and Technology. 2012; 5(2): 176-185.
- 274 7. Blomstedt W. A curious beekeeper travels through China - part III - royal jelly
275 production and Science. American Bee Journal. 2013; 153(11): 1171-1175.
- 276 8. Sereia MJ, Toledo VAA, Furlan AC, Faquinello P, Costa-Maia FM, Wielewski P.
277 Alternative sources of supplements for Africanized honeybees submitted to royal
278 jelly production. ActaScientiarum. Animal Sciences. 2013; 35(2): 165-171.
- 279 280
281
282
283
284
285
286

- 287 9. Cao LF, Zheng HQ, Pirk CWW, Hu FL, Xu ZW. High royal jelly-producing
288 honeybees (*Apis mellifera ligustica*) (Hymenoptera: Apidae) in China. Journal of
289 Economic Entomology. 2016; 109(2): 510-514.
290
- 291 10. Khan AS, Matos VD, Lima PVPS. Desempenho da apicultura no estado do
292 Ceará: competitividade, nível tecnológico e fatores condicionantes. Revista de
293 Economia e Sociologia Rural. 2009; 47(3): 651-676.
294
- 295 11. Pereira HL. Produção de geleia real em colônias com rainhas selecionadas,
296 diferentes manejos rainhas selecionadas, diferentes manejos [dissertação de
297 mestrado]. Maringá: Universidade Estadual de Maringá; 2013.
298
- 299 12. Chen S, Su S, Lin X. An introduction to high-yielding royal jelly production
300 methods in China. Bee World. 2002; 83(2): 69-77.
301
- 302 13. Doolittle GM. Scientific queen rearing. Chicago: Thomas G Newman & Son; 1889.
303
- 304 14. Abd Al-Fattah MA, Ei-Basiony MN, Mahfouz HM. Some environmental factors
305 affecting the quality of artificial reared queens, (*Apis mellifera* L.) in North Sinai
306 region, Egypt. Journal of Agricultural Science Mansoura University. 2003; 28(8):
307 6407-6417.
308
- 309 15. Medrzycki P, Sgolastra F, Bortolotti L, Bogo G, Tosi S, Padovani E, et al. Influence
310 of brood rearing temperature on honey bee development and susceptibility to
311 poisoning by pesticides. Journal of Apicultural Research. 2010; 49(1): 52-59.
312
- 313 16. Sereia MJ, Toledo VAA, Faquinello P, Costa-Maia FM, Castro SES, Ruvolo-
314 Takasusuki MCC, et al. Lifespan of Africanized honey bees fed with various proteic
315 supplements. Journal of Apicultural Science. 2010; 54(2): 37-49.
316
- 317 17. R Core Team. R: a language and environment for statistical computing. Vienna: R
318 Foundation for Statistical Computing; 2016. Disponível em: [https://www.R-](https://www.R-project.org/)
319 [project.org/](https://www.R-project.org/)
320
- 321 18. Toledo VAA, Neves CA, Alves EM, Oliveira JR, Ruvolo-Takasusuki
322 MCC, Faquinello P. Produção de geleia real em colônias de abelhas africanizadas
323 considerando diferentes suplementos proteicos e a influência de fatores ambientais.
324 Acta Scientiarum. Animal Sciences. 2010; 32(1): 93-100.
325
- 326 19. Jianke L, Aiping W. Comprehensive technology for maximizing royal jelly
327 production. American Bee Journal. 2005; 145(8): 661-664.
328
- 329 20. Toledo VAA, Mouro GF. Produção de geleia real com abelhas africanizadas
330 selecionadas e cárnicas híbridas. Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia.
331 2005; 34(6): 2085-2092.
332
- 333 21. Faquinello P, Toledo VAA, Martins EM, Oliveira CAL, Sereia MJ, Costa-Maia
334 FM, et al. Parameters for royal jelly production in Africanized honeybees.
335 Sociobiology. 2011; 57(3): 495-509.
336

- 337 22. Sahinler N, Gul A, Sahin A. Vitamin E supplement in honey bee colonies to
338 increase cell acceptance rate and royal jelly production. *Journal of Apicultural*
339 *Research*. 2005; 44(2): 58-60.
340
- 341 23. Costa FM, Miranda SB, Toledo VAA, Ruvolo-Takasusuki MCC, Chiari WC,
342 Hashimoto JH. Desenvolvimento de colônias de abelhas *Apis mellifera*
343 africanizadas na região de Maringá, Estado do Paraná. *Acta Scientiarum. Animal*
344 *Sciences*. 2007; 29(1): 101-108.
345
- 346 24. Garcia RC, Nogueira-Couto RH. Produção de geleia real por abelhas *Apis mellifera*
347 italianas, africanizadas e descendentes de seus cruzamentos. *Acta Scientiarum.*
348 *Animal Sciences*. 2005; 27(1): 17-22.

349 **IV –Efeito de variáveis ambientais, qualidade e consumo de raçãoem colônias**
350 **produzindo geleia real**

351

352 **RESUMO**

353

354 Esta pesquisa teve por objetivo verificar o efeito de variáveis externas sobre a produção
355 de geleia real e avaliar a qualidade e consumo de duas rações fornecidas a colônias de
356 abelhas africanizadas (*Apis mellifera*L.) submetidas à produção de geleia real. Foram
357 utilizados os dados climáticos dos períodos, as rações foram analisadas e fornecidas em
358 dois ensaios de produção de geleia real; os parâmetros avaliados foram a porcentagem
359 de aceite de larvas nos sarrafos superior e inferior, a geleia por cúpula (mg), a geleia por
360 colônia/coleta (g) e estes comparados com o consumo de ração. As variáveis ambientais
361 não exercem forte correlação sobre os parâmetros produtivos sendo a temperatura mais
362 importante para a produção de geleia real.A qualidade dos suplementos foi próxima ao
363 pão de abelha analisado e a ração formulada foi mais consumida no primeiro ano, fato
364 que pode ser atribuídoàgranulometria, menor teor de proteínas e gordura.

365

366 Palavras-chave: aceitação de larvas, cúpulas chinesas, suplementos

367 **Quality and feed intake in colonies producing royal jelly**

368

369 **ABSTRACT**

370 This research aimed to verify the effect of external variables on the production of royal
371 jelly and to evaluate the quality and consumption of two rations supplied to colonies of
372 Africanized bees (*Apis mellifera* L.) submitted to the production of royal jelly. The
373 rations were analyzed and supplied in two periods of production of royal jelly, the
374 parameters evaluated were: percentage of larvae accepted in upper and lower frame,
375 jelly per cup (mg), jelly per colony/collect (g) and these were compared with the feed
376 consumption. The environmental variables do not exert a strong correlation on the
377 productive parameters, being the maximum and minimum temperature more important
378 for the production. The quality of the supplements was close to the analyzed bee bread
379 and the formulated ration was more consumed in the first year, a fact that can be
380 attributed to granulometry, lower content of proteins and fat.

381

382 **Keyword:** larvae acceptance, Chinese cups, supplements.

383

384

1 **Introdução**

2

3 Uma colônia de abelhas *Apis mellifera* é considerada um superorganismo pois um
4 conjunto de criaturas únicas possui a organização funcional tal qual as células de um
5 organismo termorregulam como um mamífero, e um enxame toma decisão da mesma
6 forma que um cérebro ^[1, 2, 3].

7 Como um superorganismo endotérmico, para manter a temperatura da colônia, as
8 abelhas necessitam de um extremo gasto de energia que poderia ser convertida em
9 trabalho melhorando a produção de geleia real conforme constatado por Garcia e
10 Nogueira-Couto ^[4] e Toledo et al. ^[5]. Estes autores obtiveram resultados que indicam
11 influência de fatores ambientais, como temperatura máxima e umidade relativa do ar
12 sobre aceitação das larvas transferidas.

13 As abelhas utilizam néctar e pólen para sua nutrição, sendo o pólen a principal
14 fonte de proteína, está diretamente relacionado com a saúde da abelha adulta e sua
15 longevidade ^[6, 7]. Através do consumo destes as operárias nutrizas produzem a geleia
16 real, produto sintetizado e secretado pelas glândulas mandibulares e hipofaríngeas
17 que possui complexa composição de proteínas, aminoácidos, ácidos orgânicos,
18 hormônios esteroides, fenóis, açúcares, minerais, vitaminas e outros componentes ainda
19 não identificados ^[8, 9].

20 A geleia real é utilizada para a alimentação de larvas com até três dias e da rainha
21 por toda sua vida ^[10]. É utilizada na alimentação humana por seus componentes
22 bioativos com propriedades que promovem o bom funcionamento do corpo ^[11], e sua
23 produção pode ser uma alternativa para ampliar a renda dos apicultores ^[12].

24 Para assegurar a produtividade e lucro é necessária a suplementação, fornecendo
25 às colônias tanto suplemento energético como proteico, pois uma deficiência de
26 quantidade e qualidade do pólen e néctar leva à redução do número de abelhas nas
27 colônias e da quantidade de colônias em uma região ^[13, 14].

28 O consumo do suplemento proteico depende da quantidade de recursos que a
29 natureza disponibiliza, da quantidade de crias e abelha adultas, da granulometria e
30 palatabilidade ^[5], a escassez de recursos naturais e a baixa aceitação do suplemento pode
31 prejudicar o desempenho da colônia.

32 O objetivo desta pesquisa foi verificar o efeito de variáveis externas sobre a
33 produção de geleia real e avaliar a qualidade e consumo de duas rações fornecidas a
34 colônias de abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.) submetidas à produção de geleia
35 real.

36

37 **Material e métodos**

38

39 A pesquisa foi realizada na Fazenda Experimental de Iguatemi da Universidade
40 Estadual de Maringá (FEI-UEM), no setor de apicultura, situada a 554,9m de altitude,
41 nas seguintes coordenadas geográficas: 23°25' de latitude Sul e 52°20' de longitude
42 Oeste, o Ensaio I no período de novembro de 2014 a maio de 2015 e o Ensaio II no
43 período de novembro de 2014 a maio de 2016.

44 **Ensaio I:** foram utilizadas 24 colônias minirrecrias com rainhas selecionadas a
45 partir de colônias de linhagens selecionadas para produção de mel, geleia real, e sem
46 seleção, dois tipos de cúpulas, convencional acrílica e modelo chinês, dois tipos de
47 ração, uma comercial (BeeFood®) e outra formulada, conforme Sereia et al. [7] com
48 adaptação, totalizando 12 tratamentos.

49 **Ensaio II:** foram utilizadas 18 colônias minirrecrias com rainhas filhas de colônias
50 selecionadas para produção de geleia real com melhores resultados para aceitação de
51 cúpulas do modelo chinês obtidos no Ensaio I e filhas de colônias sem seleção oriundas
52 de captura, submetidas à produção com dois tipos de cúpulas artificiais, convencional e
53 modelo chinês, como também dois tipos de ração, comercial (BeeFood®) e formulada,
54 conforme Sereia et al. [7, 12] com modificações. Os tratamentos foram distribuídos
55 aleatoriamente.

56 Foram utilizados dados climáticos, obtidos do banco de dados da Fazenda
57 Experimental de Iguatemi e analisadas amostras dos ingredientes utilizados, do pão de
58 abelha e das rações no laboratório de análise de alimentos e nutrição animal (LANA) da
59 Universidade Estadual de Maringá; os métodos utilizados foram conforme Detmann et
60 al. [15].

61

62

63 **Análises dos suplementos e ingredientes**

64

65 Matéria seca e matéria mineral:

66

67 As amostras foram retiradas após homogeneização destas e analisadas em
68 triplicata, em balança analítica foi pesada 2 g de cada amostra em cadinhos de porcelana
69 limpos e secos. Após 15h em estufa a 104°C os cadinhos foram transferidos para um
70 dessecador até atingirem temperatura ambiente, sendo novamente pesadas e a diferença
71 de peso usada para o cálculo da matéria seca da amostra. Estes mesmos cadinhos foram
72 levados ao forno mufla com temperatura de 600°C por 3-4 horas até a completa
73 combustão da matéria orgânica, os cadinhos com as cinzas pesados após atingir
74 temperatura ambiente em dessecador, a diferença de peso corresponde à matéria
75 mineral.

76

77 Proteína bruta:

78 O teor de proteína foi determinado em destilador de nitrogênio (TECNAL),
79 método de Kjeldahl. Fundamenta-se na transformação do nitrogênio da amostra em
80 sulfato de amônio, por meio de digestão ácida e posterior destilação com liberação da
81 amônia, que é fixada em solução ácida e titulada. O nitrogênio fixado é determinado por
82 titulação com ácido e a concentração de N é convertida em equivalente proteico por
83 meio de um fator de correção (6,25), obtendo o valor de proteína bruta.

84

85 Fibra bruta:

86 As amostras foram submetidas à digestão em detergente neutro e detergente ácido,
87 o filtrado seco em estufa, os pesos anotados e incinerados em mufla para a determinação
88 por diferença da fibra bruta.

89

90 Extrato etéreo:

91 A determinação da fração de lipídeos ou extrato etéreo das amostras foi realizada
92 em determinador Soxhlet. O método baseia-se na remoção dos lipídeos de uma amostra
93 de 02 g encartado em papel filtro qualitativo e os lipídeos removidos por refluxo
94 contínuo de um solvente orgânico (éter de petróleo P.A.), os tubos de vidro que recebem
95 os resíduos secos em estufa a 104°C por 30 min e o peso obtido em balança analítica. A
96 diferença de peso representa a quantidade de extrato etéreo.

97

98 Energia bruta:

99 A obtenção dos valores de energia bruta foi pela queima das amostras em bomba
100 calorimétrica Parr 6200. As amostras sólidas foram queimadas em cadinhos de metal e
101 as líquidas em cadinhos de acetobutirato (Ika Works) de peso e energia conhecida.

102

103 Atividade de água(Aw):

104 Relação entre a pressão de vapor de água em equilíbrio sobre o alimento (Ps) e a
105 pressão de vapor da água pura (Po), à mesma temperatura, que expressa o teor de água
106 livre no alimento. Foi aferida no aparelho Novasina-LabSwift-aw a 21,6°C.

107

108 Diâmetro geométrico médio (DGM):

109 Esse procedimento consiste no peneiramento de 200g da amostra seca em estufa a
110 105°C por 24 h. As amostras em duplicata foram colocadas sobre um conjunto de
111 peneiras com diferentes malhas de diâmetro decrescente (1,80; 0,60; 0,50; 0,30; 0,18;
112 0,15 mm) em um vibrador de peneiras, agitando por 10 minutos, gera informações que
113 possibilitam as determinações do Módulo de Finura (MF), do Índice de Uniformidade
114 (IU) que é a proporção de entre partículas > 0,60 mm, entre 0,60 – 0,30 e menores que
115 0,30 mm, e do Diâmetro Geométrico Médio (DGM).

116

117 Consumo de ração e produção de geleia real

118

119 As colônias minirrecrias submetidas à produção de geleia real receberam duas rações
120 em forma de pasta no alimentador de cobertura a cada três dias, ou a cada início de ciclo
121 de produção de geleia real e as sobras recolhidas para avaliar o consumo ao fim de cada
122 ciclo. As sobras podem incorporar água ou desidratar dependendo das condições
123 ambientais; dessa forma foi considerado como consumo real a diferença do peso seco da
124 ração fornecida e peso seco das sobras.

125 O sistema de produção de geleia real foi o e de minirrecria, composta por dois
126 núcleos sobrepostos, com nove favos, sendo cinco favos no corpo inferior, separado por
127 tela excludora do segundo com quatro favos mais um quadro porta-cúpulas com dois
128 sarrafos. A produção consiste na transferência de larvas de operárias do favo de cria
129 para cúpulas artificiais acrílicas contendo geleia real, diluída a 50% como descrito por

130 Doolittle^[16]. O processo é interrompido 68-72h após a transferência das larvas, estas
131 descartadas e a geleia real é coletada.

132 Os dados obtidos foram analisados, utilizando o software R ^[17], com regressão
133 múltipla e beta, usando teste de médias com nível de significância de 5% para
134 comparação dos tratamentos.

135

136 **Resultados e discussão**

137

138 As variáveis climáticas que influenciaram a aceitação de larvas foram apenas as
139 temperaturas máximas e mínimas em 2015 (Tabela 1). A aceitação de larvas é melhor
140 com temperaturas elevadas, assim como a quantidade de geleia por cúpula e geleia por
141 colônia ($p < 0,01$), porém os valores de r^2 são baixos, devendo as variáveis de produção
142 serem melhor explicadas por outras variáveis.

143 Toledo et al. ^[5] também observaram que a precipitação pluviométrica não
144 influenciou ($p > 0,05$) a produção de geleia real. Eles utilizaram modelos que
145 evidenciaram efeito negativo da temperatura máxima e umidade relativa mínima do ar
146 com número de larvas aceitas, provavelmente pela época em que realizaram o
147 experimento entre novembro e março, período de elevadas temperaturas.

148 Para manter a temperatura da colônia as abelhas necessitam de um extremo gasto
149 de energia, abelhas regulam a temperatura do próprio corpo em resposta
150 à disponibilidade de alimento ao forragear, quando maior a disponibilidade gastam mais
151 energia elevando a temperatura do corpo para aumentar a taxa de sucção, otimizando o
152 processo ^[18, 19]. Da mesma forma gastam energia no comportamento de ventilação para
153 manter a temperatura do ninho inferior a 36°C, uma vez que as larvas podem
154 desenvolver más formações e morrer, podendo impactar diretamente na produção de
155 geleia real ^[5, 20].

156

Tabela 1. Coeficiente de correlação de Pearson (r^2) com suas respectivas probabilidades (P) entre as variáveis independentes temperatura máxima (T_{máx}) e mínima (T_{mín}), umidade relativa do ar (Umidade), precipitação pluviométrica (Precipitação) e as variáveis dependentes porcentagem de cúpulas aceitas (% Aceite de larvas), produção de geleia real por cúpula (Geleia por cúpula), e produção de geleia real por colônia (Geleia por colônia) em duas etapas de produção de geleia real

Variáveis	T _{máx}	T _{mín}	Umidade	Precipitação
2015				
% Aceite de larvas	r ² = 0.21793 P= 0.00019	r ² = 0.24903 P= 0.00001	r ² = -0.04553 P= 0.4415	r ² = 0.00941 P= 0.8736
Geleia por cúpula	r ² = 0.17052 P= 0.0055	r ² = 0.20375 P= 0.00088	r ² = 0.15187 P= 0.01368	r ² = 0.05209 P= 0.4001
Geleia por colônia	r ² = 0.26386 P< 0.0001	r ² = 0.29281 P<0.0001	r ² = -0.01916 P= 0.7461	r ² = 0.04013 P= 0.4975
2016				
% Aceite de larvas	r ² = 0.11269 P= 0.1559	r ² = -0.02798 P= 0.7254	r ² = 0.00484 P= 0.9515	r ² = -0.01671 P= 0.8339
Geleia por cúpula	r ² = 0.05578 P= 0.4863	r ² = -0.04057 P= 0.6127	r ² = 0.00314 P= 0.9687	r ² = -0.01582 P= 0.8436
Geleia por colônia	r ² = 0.18958 P= 0.01704	r ² = 0.03635 P= 0.6502	r ² = -0.05302 P= 0.5082	r ² = -0.05643 P= 0.4812

157

158 Os resultados das análises dos alimentos são apresentados na Tabela 2,
159 considerando os alimentos com base na matéria natural, serviram para comparar as
160 rações fornecidas com o alimento natural das abelhas o pão de abelha.

161 Como visto na Tabela 1 a ração formulada, com base em Sereia et al. ^[12], teve um
162 déficit de proteína devido ao ingrediente proteína isolada de soja ter sido substituído por
163 proteína texturizada de soja. A qualidade dos ingredientes pode variar muito conforme o
164 fornecedor e armazenamento, sendo importante a análise de cada lote antes da avaliação
165 a campo.

166

Tabela 2. Composição analisada do pão de abelha, rações e ingredientes utilizados no preparo da ração formulada, Matéria seca (MS), Matéria mineral (MM) Proteína bruta (PB), Fibra bruta (FB), Extrato etéreo (EE) e Energia bruta (EB).

Ração/ingrediente	MS (%)	MM (%)	PB (%)	FB (%)	EE (%)	EB (cal/g)
Pão de abelha	76,31	2,00	19,35	1,79	0,79	3866,63
Ração formulada	87,77	1,86	16,24	0,85	4,22	4133,70
Comercial (BeeFood [®])	74,86	2,90	23,75	1,48	6,89	4080,21

Proteína isolada soja*	94,00	2,00	88,10	2,00	2,00	3540,00
Proteína texturizada	94,22	6,80	51,33	2,97	0,66	4423,19
Levedura de cerveja	92,98	5,57	40,30	1,09	1,41	4332,18
Pólen apícola	86,80	2,32	24,15	0,66	3,09	4611,58
Lecitina de soja	99,48	7,56	-	-	92,73	4835,43
Mel	83,63	0,05	0,75	0,21	-	2152,63
Óleo de palma	100,00	-	-	-	100,00	5719,12
Óleo de linhaça	100,00	-	-	-	100,00	5734,26
Açúcar	100,00	-	-	-	-	4000,00

*Ingrediente utilizado na formulação original de Sereia et al. [12] e composição fornecida pela empresa Bremil

167

168 A atividade de água foi de 0,639 para a ração formulada e 0,778 na ração
 169 comercial. Esses valores estão acima do recomendado por Bonverí e Jordà que
 170 recomendam para o pólen apícola valores abaixo de 0,600 de forma a evitar o
 171 desenvolvimento de microrganismo e metabólitos como aflatoxinas. Os valores foram
 172 elevados pelo preparo em forma de pasta das rações. A ração comercial fornecida para
 173 colônias próximas a uma fonte de água no apiário experimental apresentou o
 174 desenvolvimento de fungos e bolores. Igualmente o pão de abelha foi identificado como
 175 o mais correlacionado à contaminação fúngica^[22].

176 O valor de DGM foi menor para a ração formulada (Tabela 3) e pode estar
 177 associado ao maior consumo deste suplemento.

178

Tabela 3. Valores obtidos para cálculo do DGM (Diâmetro geométrico médio) e Índice de Uniformidade de duas amostras de cada ração utilizada nos ensaios.

Furos das		Ração formulada	BeeFood®
-----------	--	-----------------	----------

peneiras (mm)	K	Peso retido (g)	% Retida	K* %Retida	Peso retido (g)	% Retida	K* %Retida
1,80	6	48,24	24,06	144,38	54,22	27,01	162,11
0,60	5	48,62	24,25	121,25	90,45	45,07	225,37
0,50	4	51,62	25,73	102,94	52,77	26,30	105,21
0,30	3	40,25	20,08	60,25	2,95	1,47	4,41
0,18	2	11,57	5,77	11,55	0,23	0,11	0,22
0,15	1	0,13	0,06	0,06	0,02	0,01	0,01
0,00	0	0,03	0,01	0,00	0,01	0,00	0,00
Total		200,48	100,0	440,46	200,66	100	497,35
DGM (μm)		2205,73			3273,98		
IU		48,31	45,82	5,84	72,09	27,77	0,12

179

180 A ração formulada teve os melhores resultados para índice de uniformidade com
181 48,31% de partículas grandes, 45,82% de médias e 5,84 de partículas pequenas, para a
182 ração comercial 72,09% das partículas eram grandes, 27,77% médias e apenas 0,12% de
183 partículas pequenas. Humanet al. ^[23], estudando a influência da qualidade do pólen sobre
184 o desenvolvimento de ovários, observaram indícios de melhor digestão relacionados ao
185 tamanho dos grãos de pólen.

186 O consumo do suplemento formulado pode ter sido maior devido ao baixo teor de
187 proteína, pois as abelhas podem regular o consumo para suprirem suas necessidades,
188 sendo necessário menor ingestão quando os níveis de proteína são altos^[5].

189 Para Toledo et al. ^[5], a adição de suplemento proteico (35%) não aumentou a
190 produção de geleia real das colônias de abelhas africanizadas e seu uso para esta
191 finalidade foi economicamente inviável. Zenget al. ^[24] recomendam dietas com 29,5-34%
192 de proteína bruta para maximizar a taxa reprodutiva das colônias no início da
193 primavera.

194 O consumo de ração foi maior quando fornecida a ração formulada no Ensaio I
195 ($p < 0,001$), porém não foi diferente no Ensaio II ($p = 0,0822$). Durante a produção, ambos
196 os ensaios tiveram efeito do tempo sobre o consumo, provavelmente pelas diferenças na
197 disponibilidade de recursos na natureza.

198

199

200 **Conclusão**

201

202 As variáveis ambientais não exercem forte correlação sobre os parâmetros
 203 produtivos sendo a temperatura mais importante para a produção de geleia real. A
 204 qualidade dos suplementos precisa ser ajustada para ficar próxima ao pão de abelha
 205 analisado, a ração formulada gerou maior estímulo à produção e foi mais consumida no
 206 primeiro ano, fato que pode ser atribuído à granulometria, menor teor de proteínas e
 207 gordura.

208

209

210 **Referências**

211

- 212 1. Tautz J. The buzz about bees: biology of a superorganism. Berlin: Springer; 2008.
- 213
- 214 2. Seeley TD. Honeybee democracy. Princeton:Princeton University Press; 2010.
- 215
- 216 3. Moritz RFA, Southwick EE. Bees as superorganisms: an evolutionary reality. [local
 217 desconhecido]: Springer Science & Business Media, 2012.
- 218
- 219 4. Garcia RC, Nogueira-Couto RH. Produção de geleia real por abelhas *Apis mellifera*
 220 italianas, africanizadas e descendentes de seus cruzamentos. Acta Scientiarum.
 221 Animal Sciences. 2005; 27(1): 17-22.
- 222
- 223 5. Toledo VAA, Neves CA, Alves EM, Oliveira JR, Ruvolo-Takasusuki
 224 MCC, Faquinello P. Produção de geleia real em colônias de abelhas africanizadas
 225 considerando diferentes suplementos proteicos e a influência de fatores ambientais.
 226 Acta Scientiarum. Animal Sciences. 2010; 32(1): 93-100.
- 227
- 228 6. Frias BED, Barbosa CD, Lourenço AP. Pollen nutrition in honey bees
 229 (*Apis mellifera*): impact on adult health. Apidologie. 2016;47(1): 15-25.
- 230
- 231 7. Sereia MJ, Toledo VAA, Faquinello P, Costa-Maia FM, Castro SES, Ruvolo-
 232 Takasusuki MCC, et al. Lifespan of Africanized honey bees fed with various
 233 proteic supplements. Journal of Apicultural Science. 2010; 54(2): 37-49.
- 234
- 235 8. Martos MV, Navajas YR, López JF, Álvarez JAP. Functional properties of honey,
 236 propolis, and royal jelly. Journal of Food Science. 2008; 73(9): 117-124.
- 237

- 238 9. Wang Y, Ma L, Zhang W, Cui X, Wang H, Xu B. Comparison of the nutrient
239 composition of royal jelly and worker jelly of honey bees
240 (*Apis mellifera*). *Apidologie*. 2016; 47(1): 48-56.
241
- 242 10. Buttstedt A, Moritz RFA, Erler S. Origin and function of the major royal jelly
243 proteins of the honeybee (*Apis mellifera*) as members of the yellow gene
244 family. *Biological Reviews*. 2014; 89(2): 255-269.
245
- 246 11. Ramadan MF, Al-Ghamdi A. Bioactive compounds and health-promoting
247 properties of royal jelly: A review. *Journal of Functional Foods*. 2012; 4(1): 39-52.
248
- 249 12. Sereia MJ, Toledo VAA, Ruvolo-Takasusuki MCC, Sekine ES, Faquinello P,
250 Costa-Maia FM. Viabilidade financeira da produção de geleia real com abelhas
251 africanizadas suplementadas com diferentes nutrientes. *Acta Scientiarum. Animal
252 Sciences*. 2010; 32(4): 467-474.
253
- 254 13. Pereira FM, Freitas BM, Vieira NJM, Lopes MTR, Barbosa AL, Camargo RCR.
255 Desenvolvimento de colônias de abelhas com diferentes alimentos proteicos.
256 *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 2006; 41(1): 1-7.
257
- 258 14. Pires CSS, Pereira FM, Lopes MTR, Nocelli RCF, Malaspina O, Pettis JS, et al.
259 Enfraquecimento e perda de colônias de abelhas no Brasil: há casos de
260 CCD?. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 2016; 51(5): 422-442.
261
- 262 15. Detmann E, Souza MA, Valadares Filho SC, Queiroz AC, Berchielli TT, Saliba
263 EOS, et al. Métodos para análise de alimentos - ICNT-Instituto Nacional de Ciência
264 e Tecnologia de Ciência Animal. Visconde do Rio Branco: Suprema; 2012.
265
- 266 16. Doolittle GM. *Scientific queen rearing*. Chicago: Thomas G Newman & Son; 1889.
267
- 268 17. R Core Team. *R: A language and environment for statistical computing*. Vienna: R
269 Foundation for Statistical Computing; 2016. Disponível em: [https://www.R-
270 project.org/](https://www.R-project.org/)
271
- 272 18. Stabentheiner A, Kovac H. Energetic optimisation of foraging honeybees: flexible
273 change of strategies in response to environmental challenges. *PloSone*. 2014; 9(8):
274 e105432.
275
- 276 19. Stabentheiner A, Kovac H. Honeybee economics: optimisation of foraging in a
277 variable world. *Scientific Reports*. 2016; 6(28339).
278
- 279 20. Cook CN, Kaspar RE, Flaxman SM, Breed MD. Rapidly changing environment
280 modulates the thermoregulatory fanning response in honeybee groups. *Animal
281 Behaviour*. 2016; 115: 237-243.
282
- 283 21. Bonvehí JS, Jordà RE. Nutrient composition and microbiological quality of
284 honeybee-collected pollen in Spain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
285 1997; 45(3): 725-732.
286

- 287 22. Keller KM, Deveza MV, Koshiyama AS, Tassinari WS, Barth OM, Castro RN, et
288 al. Fungi infection in honeybee hives in regions affected by Brazilian sac
289 brood. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 2014; 66(5): 1471-
290 1478.
- 291 23. Human H, Nicolson SW, Strauss K, Pirk CWW, Dietemann V. Influence of pollen
292 quality on ovarian development in honeybee workers
293 (*Apis mellifera scutellata*). *Journal of Insect Physiology*. 2007; 53(7): 649-655.
294
- 295 24. Zheng B, Wu Z, Xu B. The effects of dietary protein levels on the population
296 growth, performance, and physiology of honey bee workers during early
297 spring. *Journal of Insect Science*. 2014; 14(191).
298