

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

MANEJO DE COLÔNIAS COM DUAS RAINHAS PARA  
PRODUÇÃO DE GELEIA REAL

Autor: Jessica Carolina Camargo López  
Orientador: Prof. Dr. Vagner de Alencar Arnaut de Toledo

MARINGÁ  
Estado do Paraná  
Fevereiro– 2020

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

MANEJO DE COLÔNIAS COM DUAS RAINHAS PARA  
PRODUÇÃO DE GELEIA REAL

Autor: Jessica Carolina Camargo López  
Orientador: Prof. Dr. Vagner de Alencar Arnaut de Toledo

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  
Fevereiro– 2020

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)  
(Biblioteca Central - UEM, Maringá - PR, Brasil)

C172m

Camargo López, Jessica Carolina

Manejo de colônias com duas rainhas para produção de geleia real / Jessica Carolina Camargo López. -- Maringá, PR, 2020.  
xii, 31 f.: il. color., figs., tabs.

Orientador: Prof. Dr. Vagner de Alencar Arnaut de Toledo.  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Zootecnia, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2020.

1. Abelha africanizada (*Apis mellifera*) - Produção de geleia real. 2. *Apis mellifera* africanizadas - Colônias com duas rainhas. 3. *Apis mellifera* africanizadas - Manejo vertical. I. Toledo, Vagner de Alencar Arnaut de, orient. II. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias. Departamento de Zootecnia. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. III. Título.

CDD 23.ed. 638.1



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

MANEJO DE COLÔNIAS COM DUAS RAINHAS PARA  
PRODUÇÃO DE GELEIA REAL

Autor: Jessica Carolina Camargo López  
Orientador: Prof. Dr. Vagner de Alencar Arnaut de Toledo

TITULAÇÃO: Mestre em Zootecnia - Área de Concentração Produção  
Animal

APROVADA em 27 de fevereiro de 2020.

Prof. Dr. Jorge Euclides Tello  
Durán

Dr. Heber Luiz Pereira

Prof. Dr. Vagner de Alencar Arnaut de Toledo  
Orientador

## Ficha catalográfica

Um dia, quando olhar para trás, os anos de luta lhe parecerão os mais bonitos.

**Sigmund Freud**

A

Deus pela vida, pelas infinitas bênçãos e por cada pessoa maravilhosa que coloca no meu caminho.

Aos

Meus pais, Pablo Exequiel Camargo Malaver e Martha López Muñeton, por todo o apoio, ajuda e amor em todos os momentos.

À

Minha irmã Ginna Paola Camargo López, exemplo de dedicação e luta. Palavras não são suficientes para expressar o tamanho do meu amor e a minha admiração por você.

Ao

Meu sobrinho Juan Pablo Villamizar Camargo, por desenvolver em mim esse amor que não sei explicar e a quem gostaria de ensinar tantas coisas.

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

Ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq** - Brasil, pela bolsa de estudo concedida durante o curso de mestrado.

À **Universidade Estadual de Maringá** e à **Fazenda Experimental de Iguatemi**, que forneceram estrutura física para que este trabalho fosse realizado

Ao **Programa de Pós-graduação em Zootecnia (PPZ)** e a todos os professores com quem tive a oportunidade de aprender e crescer profissionalmente.

Ao meu orientador e amigo **Prof. Dr. Vagner de Alencar Arnaut de Toledo**, por acreditar em mim, por toda ajuda, paciência, confiança, orientação e ensinamentos que certamente levarei para a vida toda.

À **Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Eliane Gasparino**, pela ajuda com a estatística e as maravilhosas aulas de delineamento experimental.

À minha família principalmente ao meu pai **Pablo Exequiel Camargo Malaver**, minha mãe **Martha López Muñeton**, às minhas irmãs **Ginna Paola Camargo López** e **Angie Natalia Camargo López** e ao meu sobrinho **Juan Pablo Villamizar Camargo**, pelo apoio, cuidado e por tanto amor e forças para continuar.

Às minhas tias **Susana Camargo Malaver** e **Evangelina López Muñeton**, por cada chamada e conselho, por cuidar de mim apesar da distância.



À minha melhor amiga **Laura Milena Ramirez Soler**, por tantas coisas vividas, por estar sempre perto, mesmo distante, por me escutar sem julgar, animar e me apoiar sempre.

À **Sandra Milena Diaz Puentes**, pelo apoio e ajuda incondicional. Por caminhar comigo nessa etapa e cuidar de mim sempre que precisei.

Ao meu colega **MSc. Douglas Galhardo** a quem admiro como pesquisador, pela ajuda do começo ao fim, por me ensinar o que significa dedicação e por querer competir comigo em tudo.

Ao meu colega **MSc. Tuan Henrique Smielewski de Souza**, por sempre se oferecer para ajudar, por cada conversação legal, pelas risadas e por tantos bolos de chocolate.

Ao meu colega e amigo **MSc. Cláudio Gomes da Silva Júnior**, pela ajuda no trabalho a campo, por me incentivar e apoiar no âmbito acadêmico, e claro, pelos ensinamentos de português.

Aos meus amigos zootecnista **Gustavo Henrique Simões Pereira** e Mestres **José Washington Santos Oliveira** e **Cinthia Leão Figueira**, pela companhia e ajuda no desenvolvimento do meu experimento.

Aos alunos da graduação **Wendy Guadalin de Oliveira**, **Valdemir Domingues Junior** e **Joyce Cristina Paiva Francisco**, pela ajuda no trabalho a campo.

Ao **Grupo de Pesquisa com Abelhas – GPBee**, pelo apoio e ajuda na realização desta pesquisa

A todos os meus amigos em Maringá, por estarem ao meu lado em todos os momentos e se tornar minha família no Brasil.

## BIOGRAFIA

**JESSICA CAROLINA CAMARGO LÓPEZ**, filha de Pablo Exequiel Camargo Malaver e Martha López Muñeton, nasceu na cidade de Bogotá D.C– Colômbia, no dia 21 de janeiro de 1995. Realizou os estudos do ensino fundamental na Escola Gerardo Paredes de suba, em Bogotá – Colômbia; e o ensino médio na Instituição Educativa Distrital – Colégio Gonzalo Arango de Bogotá D.C– Colômbia, concluídos em 2011. Coursou graduação em Zootecnia na Universidad Nacional de Colômbia- sede Bogotá, no período de 2012 a 2017 e ingressou, em 2018, no Programa de Pós-graduação em Zootecnia, da Universidade Estadual de Maringá, no curso, em nível de Mestrado, área de Produção Animal – Apicultura. No dia 27 de fevereiro de 2020, submeteu-se à banca para defesa da dissertação.

## ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	ix
RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xi
I - INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Introdução geral .....	1
1.2. Composição e propriedades da geleia real .....	3
1.3. Produção comercial de geleia real.....	6
1.3.1 Múltiplas rainhas na produção de geleia real.....	7
Referências.....	9
II - MANEJO DE COLÔNIAS COM DUAS RAINHAS PARA PRODUÇÃO DE GELEIA REAL NO BRASIL .....	14
Resumo.....	14
Abstract.....	14
Introdução.....	15
Material e métodos.....	17
Resultados.....	19
Discussão.....	22
Referências.....	25

## LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1.	Técnicas de manejo na produção de geleia real em abelhas <i>Apis mellifera</i> ..... 22,23

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Design dos tratamentos principais e visão interna da colônia- (A) Colônia vertical com duas rainhas; (B) Colônia recria com uma rainha; (C) Colônia minirrecria com uma rainha; (D) Colônia horizontal com duas rainhas. Quadros 1 e 10; favos com mel, 2 e 7 favos com pólen, 3, 4 e 9 favos com cria operculada, 5 e 8 favos com cria aberta, 6 quadro porta cúpulas na área de produção (AP) e favo vazio na área de propagação(rainha)..... 18
- Figura 2. Aceitação de larvas (A) e produção de geleia real por colônia (B) usando quatro tipos de manejos. Colônias com duas rainhas e manejo horizontal (HOR-☐), colonias com uma rainha e manejo minirrecria (MIN-☐), colonias com duas rainhas e manejo recria (REC-☐) Colônias com duas rainhas e manejo vertical (VER-☐)..... 21
- Figura 3. Produção de geleia real em colônias com uma (R1) e com duas rainhas (R2). Porcentagem de aceitação de larvas (A), geleia real produzida por tratamento em um período de 72 horas (B), geleia real produzida por cúpula (C) e geleia real produzida (D). Colônias com uma rainha (R1-☐) e colonias com duas rainhas (R2-☐)..... 24
- Figura 4. Geleia real(g) produzida por colônia ao longo do tempo. (MIN) Colônia minirrecria com uma rainha, (REC) Colônia recria com uma rainha, (HOR) Colônia horizontal com duas rainhas, (VER) Colônia vertical com duas rainhas..... 25

# MANEJO DE COLÔNIAS COM DUAS RAINHAS PARA PRODUÇÃO DE GELEIA REAL NO BRASIL

## RESUMO

Foi avaliado o potencial de produção de geleia real em colônias de abelhas *Apis mellifera* africanizadas usando técnicas com duas rainhas por colônia em sistemas horizontais e verticais durante a primavera de 2019, no setor de apicultura da Fazenda Experimental de Iguatemi, Universidade Estadual de Maringá-UEM. As técnicas foram testadas quanto ao seu efeito sobre a porcentagem de aceitação de larvas (%) e produção de geleia real por colônia (g), período de coleta (g), cúpula (mg) e sarrafo (g) e comparadas com técnicas de produção tradicionais denominadas recria e minirrecria na região sul do Brasil. Foram realizadas 22869 transferências de larvas. A geleia real produzida por período de coleta apresentou diferenças entre tratamentos, colônias com duas rainhas e manejo vertical produziram significativamente maior quantidade de geleia real ( $53,28 \pm 4,98$ g) comparadas com colônias com uma única rainha em manejo recria ( $32,76 \pm 3,57$ g) e minirrecria ( $14,45 \pm 2,48$ g), mas, não diferiram das colônias com duas rainhas com manejo horizontal ( $49,21 \pm 4,56$ g). Não houve diferença entre colônias com duas rainhas e manejo horizontal e colônias com única rainha e manejo recria. Na produção de geleia real por colônia, abelhas *A. mellifera* colônias com duas rainhas com manejo vertical e horizontal tiveram desempenho médio significativamente superior as colônias manejadas em sistema recria e minirrecria com valores de 8,26 e 5,04, 8,09 e 5,66, 4,30 e 6,99 e 2,03 e 2,45g, respectivamente. Colônias com duas rainhas produziram 96,24% mais geleia por período de coleta e 112% mais geleia real por colônia considerando a média de cada um dos tratamentos e apresentaram maior porcentagem de aceitação comparado com sistemas de uma única rainha. Conclui-se que colônias com duas rainhas manejadas em sistemas vertical ou horizontal, produzem maior quantidade de geleia real comparadas com colônias com uma única rainha.

**Palavras-chave:** Colônias horizontais, colônias verticais, duas rainhas, minirrecria, recria, técnicas de manejo.

# TWO-QUEEN HIVE MANAGEMENT FOR ROYAL JELLY PRODUCTION IN BRAZIL

## ABSTRACT

The potential of royal jelly production in Africanized honeybee colonies was evaluated using techniques with two-queens per colony in horizontal and vertical systems during the spring of 2019 in the apiary at Universidade Estadual de Maringá. The techniques were tested for their effect on the larvae acceptance percentage (%), royal jelly production per colony (g), harvest period (g) cell cup (mg) and bars(g), compared with traditional production techniques called overlapped hives and overlapped nucleus in southern Brazil. There were performed 22869 larvae transfers. Results showed statistic differences in royal jelly producing between methods ( $p < 0.05$ ), two queens vertical colonies produced significantly greater amount of royal jelly per harvest ( $53.28 \pm 4.98\text{g}$ ) compared with single queen colonies in hives overlapping, ( $32.76 \pm 3.57\text{g}$ ) and nucleus overlapping ( $14.45 \pm 2.48\text{g}$ ), but did not differ from two-queen horizontal colonies ( $46.81 \pm 4.91\text{g}$ ), there was no difference between two-queen horizontal colonies and single queen colonies in hives. For royal jelly production, *A. mellifera* bees in a vertical system had an average performance significantly superior to two-queen horizontal colonies, overlapped hives, and overlapped nucleus, with values of 8,26 e 5,04, 8,09 e 5,66, 4,30 e 6,99 e 2,03 e 2,45g per colony, respectively. Two-queen colonies produced 96,24% more royal jelly per harvest period and 112% more royal jelly per colony, showed a higher percentage of acceptance and royal jelly per cell cup compared to single queen systems. It is concluded that vertical and horizontal two-queens colonies produce a greater amount of royal jelly compared to single queen colonies.

**Keywords:** Hive management, hive colony, horizontal colony, two-queen, vertical colony, overlapped nucleus.

## I – INTRODUÇÃO

### 1.1. Introdução geral

As abelhas se alimentam de mel e pão de abelha estocado nas colônias, usando para sua fabricação recursos florais como néctar e pólen (Cruz-Landim, 2009a). O mel é o principal recurso energético, usado, sobretudo, para voar, termo regular e produzir cera (Hepburn, 1986; Teulier et al., 2016), enquanto o pólen é o recurso nutricional do qual são obtidas as proteínas, carboidratos, lipídios, esteróis e micronutrientes, usados para o desenvolvimento do tecido corporal, músculos e glândulas como as hipofaringeanas (Herbert & Hill, 2015).

Em abelhas *Apis mellifera*, unicamente as operárias realizam atividades de forrageamento por estar fisiológica e anatomicamente equipadas para coletar os recursos, apresentando estruturas como: a mandíbula para manipular a cera, mastigar o pólen e coletar as resinas; a probóscide para coleta de néctar e água (Seeley, 1995a). A corbícula, depressão margeada por uma franja de pelos localizada na superfície externa da tíbia posterior (Oliveira et al., 2013) e usada para transporte do pólen e resinas (Snodgrass, Erickson & Fahbrach, 2015) e o papo ou vesícula melífera para o transporte de água e néctar (Cruz-Landim, 2009a).

Além das campeiras, que se dividem em coletoras de água, pólen, néctar ou ambos os recursos (Abou-Shaara, 2014), dentro da colônia existem mais dois tipos de operárias envolvidas na regulação do fluxo de alimento (Seeley, 1995b; Page et al., 2000). As operárias que recebem o néctar das forrageiras e estocam-no nos alvéolos para



transformá-lo em mel e as nutrizes que são as principais consumidoras dos recursos, dado que são responsáveis por alimentar todos os outros membros da colônia, consumindo, preferencialmente, alimento fresco entre três a cinco dias de armazenamento (Anderson et al., 2014). Portanto, a coleta de pólen é regulada de acordo com as necessidades da colônia, existindo correlação significativa entre a quantidade de cria aberta e a quantidade total de pólen coletado (Al-Tikrity et al., 1972) e podendo encontrar estoques de até 1kg (Seeley, 1995a).

A composição do pólen apícola varia dependendo da origem, mas fornece, principalmente, proteínas (2,50-60,00%), carboidratos (15,00-60,00%), lipídios (1,00-20,00%), ácidos graxos, principalmente, ácidos graxos insaturados e aminoácidos como lisina, leucina, ácido glutâmico e ácido aspártico. Além de micronutrientes como minerais, vitaminas, enzimas e esteróis essenciais (Galleto & Kevan, 2015; Salazar-González & Díaz-Moreno, 2016).

O pólen estocado nos favos é chamado de pão de abelhas ou “beebread” e resulta da mistura dos grãos de pólen com néctar e mel regurgitado com propriedades antimicrobianas e secreções salivares que inibem a deterioração e proliferação bacteriana do pólen (Anderson et al., 2014;). O pão de abelha contém de 10,00 a 52,00% de proteína, 40,00-50,00% de carboidratos, 0,15-20,00% de lipídios, 0,30-20,00% fibra dietética ácidos graxos, esteróis, vitaminas, minerais e compostos antioxidantes. podendo variar a sua composição em função da época do ano (Markiewicz-Żukowska et al., 2013; Anderson et al., 2014; Salazar-González & Díaz-Moreno, 2016).

O consumo de beebread pelas jovens operárias (3-12 dias de idade) estimula o desenvolvimento das suas glândulas mandibulares e hipofaringeanas, órgãos envolvidos na produção da geleia real (Snodgrass, 1956; Seeley, 1995a) tornando-as nutrizes. As glândulas mandibulares se apresentam lateralmente na cabeça das rainhas e operárias (Snodgrass, 1956) como um par de estruturas saculares com desembocadura na base da mandíbula. Nas operárias, estas glândulas produzem o ácido 10-hidroxi-trans-2-decenoico (10-HDA) alcançando a máxima produção na fase de nutrizes, visto que a mistura deste componente apresenta a cor branca e fornece, principalmente, lipídios com a secreção das glândulas hipofaringeanas é usada para alimentar as larvas no início do desenvolvimento (Cruz-Landim, 2009b; Herbert & Hill, 2015).

Similarmente, as glândulas hipofaringeanas são estruturas pares localizadas na parte frontal da cabeça da abelha, originam-se da diferenciação do epitélio da região anterior ventral da faringe (Cruz-Landim & Costa, 1998), possuem estruturas saculares pequenas

compostas por células secretoras chamadas ácinos e têm desembocadura na região oral (Suwannapong, Chaiwongwattanakul & Benbow, 2010; Klose, Rolke, & Baumann, 2017). Em *A. mellifera*, estão presentes, unicamente, nas operárias e são responsáveis pela produção de alimento para a cria, a rainha e os machos, a assim chamada geleia real ou leite de abelha (Cruz-Landim, 2009b) que consta de uma secreção clara que contém, principalmente, proteínas (Herbert & Hill, 2015). Estas glândulas são pequenas em abelhas recém-emergidas, crescem durante os primeiros nove dias e depois se atrofiam (Li et al., 2010; Suwannapong, Chaiwongwattanakul & Benbow, 2010).

A quantidade de pólen e néctar ingeridos pelas operárias varia segundo a fase da vida ou atividade desenvolvida na colônia (Gilliam, 1997). Operárias com idades entre quatro e nove dias consomem maior quantidade de pólen e apresentam maior atividade de protease no intestino do que as que realizam forrageamento, portanto, o uso de grandes quantidades de pólen está associado à produção da geleia real (Crailsheim et al., 1992). O conteúdo de proteína na dieta está relacionado com o desenvolvimento das glândulas hipofaríngeas, melhores graus de desenvolvimentos são atingidos quando existem níveis altos de proteína, mas níveis baixos aumentam a longevidade das nutrízes (Wang et al., 2014).

A digestão do pólen é realizada, principalmente, no ventrículo, mas o recurso, chega primeiro ao proventrículo em que é separado rapidamente dos alimentos líquidos (Cruz-Landim, 2009a). Inicialmente, efetua-se uma pré-digestão durante a coleta, pois bactérias lácticas presentes na vesícula melífera são regurgitadas e misturadas com o pólen para formar a bolota e aderi-la a corbícula e, posteriormente, na colônia por microrganismos associados durante o armazenamento do pólen (Vásquez & Olofsson, 2009; Altaye et al., 2010). O tempo de passagem intestinal para o pólen é entre 2 e 24 h (Crailsheim, 1990) e a digestibilidade aparente varia de 75,00% a 77,00% (DeGrandi-Hoffman et al., 2016).

O pólen armazenado sofre várias alterações bioquímicas que podem ser responsáveis pela conservação e aumento da estabilização do produto ou podem levar a alterações químicas que aumentam a digestibilidade e o valor nutritivo para as abelhas (Anderson et al., 2014; Herbert & Hill, 2015). Porém, o valor nutritivo do pólen diminui com o tempo, dependendo da porcentagem de umidade do mesmo, a temperatura, umidade relativa da colônia e a origem (Haydak, 1963).

## 1.2. Composição e propriedades da geleia real

Diferente de outros produtos da colônia, a geleia real é fornecida diretamente às larvas à medida que é secretada, portanto, é produzida de acordo com a demanda (Mcneil & Schmidt, 2015). Este composto é usado para alimentação dos indivíduos da colônia. Operárias e zangões recebem quantidades de 20,00-40,00% de secreção branca (mandibular), e 60,00-80,00% de secreção clara (hipofaringeana) durante os dois primeiros dias de período larval (Patel, Haydak & Gouchnauer, 1960). Por outro lado, as larvas de rainha recebem secreção branca durante os primeiros três dias e uma mistura 1:1 branca:clara nos últimos dois dias de alimentação larval (Winston, 1991).

A composição da geleia real tem sido estudada por muitos pesquisadores concluindo que o composto tem densidade de 1,10g/mL e é ácido com pH de 3,0-5,00 (Sabatini et al., 2009; Sereia & Toledo, 2013). Em base úmida o conteúdo de água varia de 50,00-70,00%, proteína bruta de 9,00-20,00%, açúcares 10,00-16,00%, lipídios 3,00-7,00% e minerais 2,00-3,00% e pequenas quantidades de vitaminas, além de 1,75 -3,70% de ácido 10-hidroxi-trans-2-decenoico (10-HDA) que é responsável por algumas das funções biológicas da geleia real e usado para medir a qualidade e determinar o seu preço no mercado (Daniele & Casabianca, 2012; Zheng, Hu & Dietemann, 2011; Wytrychowski et al., 2013; Jie et al., 2016).

Entre as proteínas da geleia real, a maioria delas é classificada como “Major Royal Jelly Proteins (MRJPs)”, com pesos de 85, 79, 68, 60, 56 e 49 kDa, para glicose oxidase, MRJP5, MRJP3, MRJP4, MRJP1 e MRJP2 respectivamente. A “Major Royal Jelly Protein 1 (MRJP1)” representa mais de 45% do total de proteínas (Furusawa et al., 2008) e é a mais estudada por ser considerada o fator chave que direciona o desenvolvimento da abelha rainha (Kamakura, 2011).

A prolina representa metade do total de aminoácidos livres detectados na geleia real colhida 72 horas após a transferência, com concentração de 2,00-5,00mg/g. Após a prolina, os aminoácidos mais abundantes são fenilalanina (1,30mg/g), lisina (0,80-2,00mg/g), ácido glutâmico (0,30-0,50mg/g), arginina (0,40mg/g), tirosina (0,33mg/g), cisteína (0,30mg/g) e ácido aspártico (0,20mg/g). Os aminoácidos totais mais abundantes são ácido aspártico, com concentração de 22,30mg/g, seguido por ácido glutâmico (16,90mg/g), leucina (10,60mg/g), lisina (9,10mg/g) e valina (8,10mg/g). A concentração total de aminoácidos livres na geleia real aumenta com o aumento do tempo de colheita (Jie et al., 2016).

Os carboidratos encontrados na geleia real são os mesmos presentes no mel, principalmente, glicose (3,00-8,00g/100g) e frutose (2,00-7,00g/100g) em partes iguais com pequenas quantidades de outros açúcares incluído a sacarose (zero a 2,00g/100 ) em matéria úmida (Sesta et al., 2006; Wytrychowski et al., 2013). Similarmente, Daniele e Casabianca (2012) encontraram valores de 2,90–8,00% com média de 5,50% para glicose, 2,30–7,30% com média de 5,00% para frutose e não detectada a 1,70% com média de 0,40% para sacarose. Além dos doze açúcares menores identificados (galactose, manitol, maltose, maltulose, turanose, trealose, palatinose, isomaltose, gentiobiose, melezitose, erlose e maltotriose) e o ácido glucônico, um produto derivado da oxidação da glicose para amostras de geleia real coletadas na França (Wytrychowski et al., 2013).

A composição dos três principais açúcares da geleia real muda significativamente quando a colônia recebe suplemento durante a produção. A frutose e a glicose diminuem em amostras produzidas por colônias alimentadas com xarope de açúcar, enquanto a sacarose aumenta (Daniele & Casabianca, 2012). Por outro lado, o conteúdo de maltose e maltotriose aumenta com uso e suplementos com hidrolisado de amido de cereais e amido de milho, enquanto o conteúdo de sacarose e erlose aumenta com suplementos contendo beterraba ou açúcar de cana (Wytrychowski et al., 2013; Kanelis et al., 2018).

Xu & Gao (2013) descreveram que o componente lipídico da geleia real está constituído por hidrocarbonetos (12,15mg/g lipídios), triacilgliceróis (16,90mg/g lipídios), esteróis (25,60mg/g lipídios), diacilgliceróis (16,00mg/g lipídios), ácidos graxos da cadeia média (919,60mg/g lipídios) e fosfolipídios (9,60mg/g lipídios). Por outro lado, Nagai e Inoue (2004) encontraram vitamina B1 (0,006mg/g), vitamina B2 (0,006-0,010mg/g), vitamina B6 (0,012mg/g) acetilcolina (1,30mg/g), ácido pantatênico (0,20mg/g), inositol (0,078-0,150mg/g), ácido nicotínico (0,088 mg/g) e biotina (0,003mg/g) em amostras de geleia real frescas provenientes da China. Estas vitaminas são obtidas, principalmente, do consumo de pólen com a possível adição de uma pequena quantidade de mel.

O teor de cinzas representa em média 0,83% da matéria úmida da geleia real (Sereia e Toledo, 2013). Os principais elementos encontrados na geleia real em ordem decrescente são: K, Ca, Na, Mg, Zn, Fe, Cu e Mn à presença desses metais pode dever-se a fatores externos à colônia (ambiente, obtenção de alimentos, período de produção) ou fatores biológicos ligados às abelhas (Benfenati, Sabatini & Nanetti, 1986).

As variações na composição da geleia real podem resultar da subespécie de abelha envolvida na produção da geleia real, o tempo de coleta, a origem geográfica, a condição

nutricional e idade das nutrizes, a idade da larva transferida, os vestígios minerais resultantes das diferentes espécies de plantas das quais foi coletado o pólen e variações relacionadas aos diferentes procedimentos de amostragem, como também, às condições de produção e à diversidade de métodos analíticos (Sabatini et al., 2009; Zheng & Dietemann, 2011; Wei et al., 2013; Mcneil & Schmidt, 2015; Jie et al., 2016).

Vários estudos atestam que a geleia real possui atividades vasodilatadoras e hipotensivas, além de potenciais antienvhecimento, antibacteriano, antifadiga, anti-inflamatório, antioxidante, antitumoral, antidiabético e antimutagênico que poderiam servir a propósitos terapêuticos que promovam a saúde humana (Qu et al., 2008; Tamura et al., 2009; Li et al., 2010). Porém, o composto precisa ser cuidadosamente armazenado e transportado porque ao contrário do mel, sua qualidade diminui progressivamente com o tempo e a temperatura em que é armazenada alterando as suas propriedades organolépticas, como cor, viscosidade, pH, atividade enzimática e conteúdo de aminoácidos (Shen et al., 2015).

### 1.3. Produção comercial de geleia real

A geleia real é comercialmente produzida transferindo larvas de um dia desde os alvéolos do favo para cúpulas artificiais, induzindo assim as abelhas operárias a secretarem e depositarem a geleia (Chen et al., 2002) e realizando a coleta de 66-72h após a transferência larval, porque, neste momento, a quantidade de geleia nas cúpulas atinge seu pico (Muli, Raina & Mueke, 2005; van Toor, 2006). As colônias produtoras são divididas mediante uma tela excludora isolando a rainha para reduzir a quantidade de feromônio e evitar que as novas rainhas sejam mortas (Chen, Su & Lin, 2002). Mas, colônias órfãs também podem ser usadas na produção de geleia real (Şahinler & Kaftanoğlu, 2005).

A China é o maior produtor e exportador de geleia real no mundo, respondendo por mais de 90% do mercado global. Em 2014, o valor total da geleia exportada pela China atingiu os 39.457.197 dólares representando a cerca de 743.000kg de geleia fresca e 220.000kg de geleia em pó (Cao et al., 2016). Países como Taiwan e Japão são também importantes produtores. Em outras partes do mundo, principalmente na Europa Oriental e em menor grau na Europa Ocidental a geleia real também é produzida, na América: o México, em particular, é grande produtor (Sabatini et al., 2009).

Diferentes métodos têm sido implementados em busca de aumentar a produção de geleia real por colônia. A idade da larva usada para transferência influencia

significativamente a porcentagem de aceitação e a produção de geleia real por cúpula, obtendo melhores resultados com o uso de larvas de 24 horas de idade, porque larvas maiores são mais difíceis de transferir, aumentando o tempo de transferência o que pode prejudicar a produção (Li, 2000; Muli, Raina & Mueke, 2005).

O uso de suplementos que contêm na sua composição todos os aminoácidos essenciais exigidos pelas abelhas e níveis de proteína próximos aos encontrados no pólen, favorecem o desenvolvimento interno das colônias e beneficiam a produção de geleia real (Sereia et al., 2013). Por outro lado, existem divergências em relação ao uso de suplementos energéticos. Muli, Raina & Mueke (2005) reportaram diferenças significativas na porcentagem de aceitação e aumento de 50% na produção de geleia real por colônia quando oferecido xarope de açúcar durante a produção ou 15 horas antes das transferências. Porém, Wang et al (2012) não encontraram diferença significativa no rendimento e na taxa de aceitação com o uso de xarope de frutose na produção de geleia, sugerindo que estes suplementos fornecem a energia necessária para o desenvolvimento das atividades diárias e manutenção das abelhas sem influenciar órgãos como as glândulas hipofaringeanas.

Rainhas com genética selecionada e método de transferência dupla também foram testados, mas, não exibem diferenças na produção de geleia quando comparados com métodos de transferência simples e colônias sem seleção (Santos et al., 2019). No entanto, Pereira et al. (2019) concluíram que abelhas selecionadas para produção de geleia real depositam mais geleia por cúpula do que abelhas não selecionadas. Mas também, o cruzamento de abelhas africanizadas e italianas resultou em híbridos que depositam maior quantidade de geleia por cúpula e aceitam maior quantidade de larvas (Garcia & Nogueira-Couto, 2005).

### 1.3.1 Múltiplas rainhas na produção de geleia real

O sistema de múltiplas rainhas no manejo da colônia tem sido de interesse dos apicultores desde que se tornou conhecido, cerca de 200 anos atrás, que duas ou mais rainhas podem coexistir em uma colmeia (Fraser, 1958). A presença de várias rainhas em uma colônia ocorre temporalmente em colônias de *A. mellifera* quando rainhas virgens são preparadas para enxames de reprodução ou quando a rainha será substituída (Gilley & Tarpy, 2005). Após o pico no fluxo de mel é frequente encontrar duas rainhas fazendo postura na mesma colônia em até 5% do apiário (Dietz, 1984).

Experimentalmente, colônias compostas de várias rainhas acasaladas, podem ser produzidas de duas formas; Colônias múltiplas, em que é removido um terço a metade das mandíbulas das rainhas para diminuir ou evitar sua capacidade de luta sem modificar a composição e secreção dos feromônios (Zheng et al., 2012) e usando operárias recém-emergidas para evitar comportamentos agressivos em relação às rainhas (Dietemann et al., 2008) e colônias de duas rainhas em que uma segunda rainha é introduzida em outra parte da colmeia, geralmente, durante o período de maior fluxo de néctar. Mas, ambas as rainhas produzem ovos dentro de seus ninhos independentes, que devem ser separados um do outro permitindo, unicamente, o fluxo de operárias (Farrar, 1958; Moeller, 1976).

Existem, basicamente, dois sistemas fundamentados no uso de tela excluidora; O sistema vertical, formado, inicialmente, com três corpos no qual uma rainha é confinada no ninho debaixo colocando uma tela excluidora, um ninho com favos vazios que funciona como área de produção é adicionado acima da tela e uma segunda rainha é colocada no ninho superior com o alvado do lado contrário (Delaplane, 2015). Para realizar a união, é necessário o uso de uma tela tipo de transporte que impede o fluxo de abelhas entre os ninhos evitando as lutas e permitindo a mistura dos cheiros de ambas colônias a que é trocada, posteriormente, por duas telas excluidoras de rainhas que permitem o fluxo de operárias (Gris et al., 2004).

O segundo sistema denomina-se sistema horizontal de duas rainhas, em que duas colônias são colocadas lado a lado para que possam compartilhar um conjunto comum de sobreninhos (Hesbach, 2016). Os ninhos permanecem fisicamente separados, mas os fundos e as colmeias são unidos mediante pregos ou parafusos para que permaneçam em alturas idênticas. O ninho posicionado acima da tela excluidora funciona como área de produção e são utilizadas tampas de núcleo para as laterais de cada colmeia (Hesbach, 2016). Este sistema também precisa de um período para adaptação antes de realizar a junção das colônias (Gris et al., 2004).

Farrar (1953) concluiu que a vantagem de uma dupla-rainha sobre uma colônia de uma única rainha é baseada na produção por unidade de abelha, a qual aumenta com o aumento da população. Ou seja, uma colônia forte acumulará mais mel do que duas colônias com o mesmo número total de abelhas. Aproximadamente 2,5 vezes mais do que uma colônia com uma única rainha. Outras vantagens incluem maiores reservas de pólen no período de inverno, o dobro de pólen de reserva no outono do que uma colônia de uma rainha, são menos propensas a ataques de *Nosema sp* e a criação de realeiras é baixa por ter duas rainhas produzindo feromônios (Moeller, 1949).

Peer (1969) e Tegart (1984) demonstraram que os custos, tempo e equipamento usados em colônias com duas rainhas são significativamente menores por kg de mel produzido. Da mesma forma, Walton (1974), em estudo de dois anos na Nova Zelândia, usando 296 colônias, indicou que o sistema de duas rainhas produz de 60 a 75% mais mel do que rainha única. Colônias com duas rainhas produzem 50,4kg de mel mais do que colônias com uma rainha manejada em recria e 73,4kg mais do que colônias com uma rainha manejadas em núcleos. Exigem 50% mais de tempo na hora do manejo, mas menos tempo por kg de mel produzido (Moeller, 1976). Apesar das vantagens que oferecem os sistemas com duas ou múltiplas rainhas, não há publicação de estudos relatando o uso destes sistemas em abelhas *Apis mellifera* africanizada e as pesquisas citadas descrevem o comportamento de colônias de *Apis mellifera* italiana em países como Nova Zelândia, Canadá, Estados Unidos e México.

## Referências

- Abou-Shaara, H. F. (2014). The foraging behaviour of honey bees, *Apis mellifera*: a review. *Veterinarni Medicina*, 59 (1), 1-10. DOI: 10.17221/7240-VETMED.
- Altaye, S. Z., Pirk, C. W., Crewe, R. M., & Nicolson, S. W. (2010). Convergence of carbohydrate-biased intake targets in caged worker honeybees fed different protein sources. *Journal of Experimental Biology*, 213 (19), 3311-3318. DOI: 10.1242/jeb.046953.
- Walton, G. M. (1974). The single-queen and two-queen systems of colony management under commercial beekeeping conditions. *Journal of the Royal Horticultural Society*, 2, 34-43.
- Tegart, D. (1984). Two-queen hive management using package bees in the Peace River area, Alberta, Canada. *Bee World*, 65 (2), 80-84. DOI: 10.1080/0005772X.1984.11098780.
- Al-Tikrity, W. S., Benton, A. W., Hillman, R. C., & Clarke Jr, W. W. (1972). The relationship between the amount of unsealed brood in honeybee colonies and their pollen collection. *Journal of Apicultural Research*, 11 (1), 9-12. DOI: 10.1080/00218839.1972.11099693.
- Anderson, K. E., Carroll, M. J., Sheehan, T. I. M., Mott, B. M., Maes, P., & Corby-Harris, V. (2014). Hive-stored pollen of honey bees: Many lines of evidence are consistent with pollen preservation, not nutrient conversion. *Molecular Ecology*, 23 (23), 5904-5917. DOI: 10.1111/mec.12966.
- Garcia, R. C., & Nogueira-Couto, R. H. (2005). Produção de geleia real por abelhas *Apis mellifera* italianas, africanizadas e descendentes de seus cruzamentos. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 27 (1), 17-22. DOI: 10.4025/actascianimsci.v27i1.1254.
- 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. *Journal of Apicultural Research*, 44 (4), 137-140. DOI: 10.3896/IBRA.1.44.4.01.
- Qu, N., Jiang, J., Sun, L., Lai, C., Sun, L., & Wu, X. (2008). Proteomic characterization of royal jelly proteins in Chinese (*Apis cerana cerana*) and European



(*Apis mellifera*) honeybees. *Biochemistry* (Moscow), 73(6), 676. DOI: <https://doi.org/10.1134/S0006297908060072>.

Benfenati, L., Sabatini, A. G., & Nanetti, A. (1986). Composizione in sali minerali della gelatina reale. *Apicoltura*, 2, 129-143.

Cao, L. F., Zheng, H. Q., Pirk, C. W., Hu, F. L., & Xu, Z. W. (2016). High royal jelly-producing honeybees (*Apis mellifera ligustica*) (Hymenoptera: Apidae) in China. *Journal of Economic Entomology*, 109 (2), 510-514. DOI: 10.1093/jee/tow013.

Chen, S., Su, S., & Lin, X. (2002). An introduction to high-yielding royal jelly production methods in China. *Bee World*, 83 (2), 69-77. DOI: 10.1080/0005772X.2002.11099543

Crailsheim, K. (1990). The protein balance of the honey bee worker. *Apidologie*, 21 (5), 417-429. DOI: 10.1051/apido:19900504.

Crailsheim, K., Schneider, L. H. W., Hrassnigg, N., Bühlmann, G., Brosch, U., Gmeinbauer, R., & Schöffmann, B. (1992). Pollen consumption and utilization in worker honeybees (*Apis mellifera carnica*): dependence on individual age and function. *Journal of Insect Physiology*, 38 (6), 409-419. DOI: 10.1016/0022-1910(92)90117-V.

Cruz-Landim C. (2009b). Glândulas anexas ao aparelho bucal. In: *Abelhas: morfologia e função de sistemas*. (pp. 303-328). São Paulo: Fundação editora da UNESP.

Cruz-Landim, C. (2009a). Sistema digestório. In: *Abelhas: morfologia e função de sistemas*. (pp.265-302). São Paulo: Fundação editora da UNESP.

Cruz-Landim, C., Costa, R. (1998). Structure and function of the hypopharyngeal glands of Hymenoptera: a comparative approach. *Journal of Computational Biology*, 3:151–63.

Daniele, G., & Casabianca, H. (2012). Sugar composition of French royal jelly for comparison with commercial and artificial sugar samples. *Food Chemistry*, 134 (2), 1025-1029. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.03.008.

DeGrandi-Hoffman, G., Chen, Y., Rivera, R., Carroll, M., Chambers, M., Hidalgo, G., & de Jong, E. W. (2015). Honey bee colonies provided with natural forage have lower pathogen loads and higher overwinter survival than those fed protein supplements. *Apidologie*, 47 (2), 186-196. DOI: 10.1007/s13592-015-0386-6.

Delaplane, K. (2015). Management for the honey production. In: *The hive and the honey bee*. (pp:487- 527). Illinois; Dadant & Sons, Inc.

Dietemann, V., Zheng, H. Q., Hepburn, C., Hepburn, H. R., Jin, S. H., Crewe, R. M., ... & Pirk, C. W. (2008). Self-assessment in insects: honeybee queens know their own strength. *PLoS One*, 3 (1). DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone>.

Dietz, A. (1985). Problems and prospects of maintaining a two-queen colony system in honey bees throughout the year. *American Bee Journal*, 125 (6), 451-453

Farrar, C. L. (1953) Two queen colony management. *Bee World*, 34 (10),189-194. DOI: 10.1080/0005772X.1953.11094821.

Farrar, C. L. (1958). Two-queen colony management for production of honey. *USDA, Agricultural Research Service*. ARS 33-48. Retrieved February 3, 2020, from <https://archive.org/details/twoqueencolonyma48farr/page/n1/mode/2up>.

Fraser, H. M. (1958). History of beekeeping in Britain. London: *Bee Research Association*.

Furusawa, T., Rakwal, R., Nam, H. W., Shibato, J., Agrawal, G. K., Kim, Y. S.,... Yonekura, M. (2008). Comprehensive royal jelly (RJ) proteomics using one-and two-dimensional proteomics platforms reveals novel RJ proteins and potential phospho/glycoproteins. *Journal of Proteome Research*, 7, 3194–3229. DOI: 10.1021/pr800061.

- Galleto, L., & Kevan, D. (2015). The production of nectar and pollen. In: *The hive and the honey bee*. (pp: 345-368). Illinois: Dadant & Sons, Inc
- Gilley, D. C., & Tarpy, D. R. (2005). Three mechanisms of queen elimination in swarming honey bee colonies. *Apidologie*, 36 (3), 461-474. DOI: 10.1051/apido:2005033.
- Gilliam, M. (1997). Identification and roles of non-pathogenic microflora associated with honey bees. *FEMS Microbiology Letters*, 155 (1), 1-10. DOI: 10.1111/j.1574-6968.1997.tb12678.x.
- Gris, A. G. V., Novoa, E. G., Benítez, A. C., & Rubio, J. A. Z. (2004). Efecto del uso de dos reinas en la población, peso, producción de miel y rentabilidad de colonias de abejas (*Apis mellifera* L.) en el altiplano mexicano. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 42 (3), 361-377.
- Haydak, M. H. (1963). Influence of storage on the nutritive value of pollen for brood rearing by honeybees. *Journal of Apicultural Research*, 2 (2), 105-107. DOI: 10.1080/00218839.1963.11100068.
- Hepburn, H. R. (1986). Composition and synthesis of beeswax. In: *Honeybees and wax*. (pp: 44-56). Berlin: Springer Verlag.
- Herbert, E & Hill, D. (2015). Honey bee nutrition. In: *The hive and the honey bee*. (pp: 237- 268). Illinois: Dadant & Sons, Inc.
- Hesbach, W (2016). The horizontal two queen system. *Bee Culture*, 1-9.
- Jie, H., Li, P. M., Zhao, G. J., Feng, X. L., Zeng, D. J., Zhang, C.L., Lei, M. Y., Yu, M. and Chen, Q. (2016). Amino acid composition of royal jelly harvested at different times after larval transfer. *Genetics and Molecular Research*, 15 (3), 1-10. DOI: 10.4238/gmr.15038306.
- Kamakura, M. (2011). Royalactin induces queen differentiation in honey bees. *Nature*, 473, 478–483. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature10093>.
- Kanelis, D., Tananaki, C., Liolios, V., Rodopoulou, M. A., Goras, G., Argena, N., & Thrasylvoulou, A. (2018). Investigating the Effect of Supplementary Feeding on Carbohydrate Composition and Quantity of Royal Jelly. *Open Journal of Applied Sciences*, 8 (4), 141-149. DOI: 10.4236/ojapps.2018.84011.
- Klose, S. P., Rolke, D., & Baumann, O. (2017). Morphogenesis of honeybee hypopharyngeal gland during pupal development. *Frontiers in Zoology*, 14 (1), 22. DOI 10.1186/s12983-017-0207-z
- Li, J., Feng, M., Begna, D., Fang, Y., & Zheng, A. (2010). Proteome comparison of hypopharyngeal gland development between Italian and royal jelly producing worker honeybees (*Apis mellifera* L.). *Journal of Proteome Research*, 9 (12), 6578-6594. DOI: 10.1021/pr100768t
- Markiewicz-Żukowska, R., Naliwajko, S. K., Bartosiuk, E., Moskwa, J., Isidorov, V., Soroczyńska, J., & Borawska, M. H. (2013). Chemical composition and antioxidant activity of beebread, and its influence on the glioblastoma cell line (U87MG). *Journal of Apicultural Science*, 57 (2), 147-157. DOI: 10.2478/jas-2013-0025
- Meneil, M., & Schmidt, J. (2015). Other products of the hive. In: *The hive and the honey bee*. (pp: 705- 775). Illinois; Dadant & Sons, Inc
- Moeller, F. E. (1949). Managing colonies for high-honey yields. *Agriculture Handbook*, (335), 64.
- Moeller, F. E. (1976). Two-queen system of honey bee colony management. Washington. *US Department of Agriculture*, (161), 1-11.
- Nagai, T., & Inoue, R. (2004). Preparation and the functional properties of water extract and alkaline extract of royal jelly. *Food Chemistry*, 84 (2), 181-186. DOI: 10.1016/S0308-8146(03)00198-5.

Oliveira, F. F., Richers, B. T. T., Silva, J. R., Farias, R. C., & Matos, T. A. L. (2013). *Guia ilustrado das abelhas " sem ferrão" das Reservas Amanã e Mamirauá, Amazonas, Brasil (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)*. Ministro da Ciência, Tecnologia e Inovação – MCTI.

Page Jr, R. E., Fondrk, M. K., Hunt, G. J., Guzman-Novoa, E., Humphries, M. A., Nguyen, K., & Greene, A. S. (2000). Genetic dissection of honeybee (*Apis mellifera* L.) foraging behavior. *Journal of Heredity*, 91 (6), 474-479. DOI: 10.1093/jhered/91.6.474.

Patel, N., Haydak, M., & Gouchnauer, T. (1960). Electrophoretic components of the proteins in honeybee larval food. *Nature*. 186, 633-634.

Peer, D. F. (1969). Two-queen management with package colonies. *American Bee Journal*, 109 (3),88-89.

Sabatini, A. G., Marcazzan, G. L., Caboni, M. F., Bogdanov, S., & Almeida-Muradian, L. B. D. (2009). Quality and standardisation of royal jelly. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science*, 1 (1), 1-6. DOI: 10.3896/IBRA.4.01.1.04.

Şahinler, N., & Kaftanoğlu, O. (2005). The effects of season and honeybee (*Apis mellifera* L.) genotype on acceptance rates and royal jelly production. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 29 (2), 499-503.

Salazar-González, C., & Díaz-Moreno, C. (2016). The nutritional and bioactive aptitude of bee pollen for a solid-state fermentation process. *Journal of Apicultural Research*, 55 (2), 161-175. DOI: 10.1080/00218839.2016.1205824.

Santos, P. R., Souza, T. H. S. D., Rossoni, D. F., & Toledo, V. A. A. (2019). Royal jelly production with queens produced by single and double grafting in Africanized honeybee colonies. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 41. 45670 DOI: 10.4025/actascianimsci.v41i1.45670.

Seeley, T. D. (1995a). Regulation of pollen collection. In: *The wisdom of the hive*. (pp. 193-211). Massachusetts: Harvard University press.

Seeley, T.D. (1995b). The foraging abilities of a colony. In: *The wisdom of the hive*: (pp. 46-68). Massachusetts: Harvard university press.

Sereia, M. J., & Toledo, V. A. A. (2013). Quality of royal jelly produced by Africanized honeybees fed a supplemented diet. *Food Science and Technology*, 33 (2), 304-309. DOI: 10.1590/S0101-20612013005000039.

Sereia, M., Toledo, V., Furlan, A., Faquinello, P., Maia, F. & Wielewski, P. (2013). Alternative sources of supplements for Africanized honeybees submitted to royal jelly production. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 35 (2), 165-171. DOI: 10.4025/actascianimsci.v35i2.16976.

Sesta, G., Persano Oddo, L., Nisi, F., & Ricci, L. (2006). Effects of artificial sugar feeding on sugar composition of royal jelly. *Apiacta*, 41, 60-70.

Shen, L. R., Wang, Y. R., Zhai, L., Zhou, W. X., Tan, L. L., Li, M. L., ... Xiao, F. (2015). Determination of royal jelly freshness by ELISA with a highly specific anti-apalbumin 1, major royal jelly protein 1 antibody. *Journal of Zhejiang University Science B*, 16, 155–166. DOI: 10.1631/jzus.B1400223.

Snodgrass, R. E. (1956). The organs of feeding. In: *Anatomy of the honey bee*. (pp. 44-79). Illinois: Cornell University Press.

Snodgrass, R., Erickson, E & Fahbrach, S. (2015). The anatomy of the honey bee. In: *The hive and the honey bee*. (pp:111- 165). Illinois: Dadant & Sons, Inc.

Suwannapong, G., Chaiwongwattanakul, S., & Benbow, M. E. (2010). Histochemical comparison of the hypopharyngeal gland in *Apis cerana* Fabricius, 1793 workers and *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 workers. *Psyche: A Journal of Entomology*, 2-7. DOI:10.1155/2010/181025

Tamura, S., Amano, S., Kono, T., Kondoh, J., Yamaguchi, K., Kobayashi, S., ... Moriyama, T. (2009). Molecular characteristics and physiological functions of major royal jelly protein 1 oligomer. *Proteomics*, 9, 5534–5543. DOI: 10.1002/pmic.200900541.

Teulier, L., Weber, J. M., Crevier, J., & Darveau, C. A. (2016). Proline as a fuel for insect flight: enhancing carbohydrate oxidation in hymenopterans. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 283 (1834), 20160333. DOI: <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2016.0333>

Van toor, R. T. (2006). Harvesting. In: *Producing royal jelly: A guide for the commercial and hobbyist beekeeper* (pp. 54-61). Tauranga: Bassdrum books.

Vásquez, A., & Olofsson, T. C. (2009). The lactic acid bacteria involved in the production of bee pollen and bee bread. *Journal of Apicultural Research*, 48 (3), 189-195. DOI: 0.3896/IBRA.1.48.3.07

Wang, H., Zhang, S. W., Zeng Z. J., Yan, W. Y. (2014). Nutrition affects longevity and gene expression in honey bee (*Apis mellifera*) workers. *Apidologie*, 45 (5), 618-625. DOI: 10.1007/s13592-014-0276-3.

Wang, W., Liu, T., Wu, X., & Zhang, F. (2012). Effect of high fructose syrup diet exposure on honeybee colony (*Apis mellifera ligustica*). *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 34 (4), 786-790.

Wei, W. T., Hu, Y. Q., Zheng, H. Q., Cao, L. F., Hu, F. L., & Hepburn, H. R. (2013). Geographical influences on content of 10-hydroxy-trans-2-decenoic acid in royal jelly in China. *Journal of Economic Entomology*, 106 (5), 1958-1963. DOI: 10.1603/EC13035 ISBN: 0022-0493.

Winston, M L (1991). Development and nutrition. In: *The biology of the honeybee*. Massachusetts: Harvard University Press.

Wytrychowski, M., Chenavas, S., Daniele, G., Casabianca, H., Batteau, M., Guibert, S., & Brion, B. (2013). Physicochemical characterisation of French royal jelly: Comparison with commercial royal jellies and royal jellies produced through artificial bee-feeding. *Journal of food composition and analysis*, 29 (2), 126-133. DOI: 10.1016/j.jfca.2012.12.002.

Xu, X., & Gao, Y. (2013). Isolation and characterization of proteins and lipids from honeybee (*Apis mellifera* L.) queen larvae and royal jelly. *Food research international*, 54 (1), 330-337. DOI: 10.1016/j.foodres.2013.07.030.

Zheng, H. Q., Dietemann, V., Hu, F. L., Crewe, R. M., & Pirk, C. W. (2012). A scientific note on the lack of effect of mandible ablation on the synthesis of royal scent by honeybee queens. *Apidologie*, 43 (4), 471-473.

Zheng, H. Q., Hu, F. L., & Dietemann, V. (2011). Changes in composition of royal jelly harvested at different times: consequences for quality standards. *Apidologie*, 42 (1), 39-47. DOI: 10.1051/apido/2010033.

## II MANEJO DE COLÔNIAS COM DUAS RAINHAS PARA PRODUÇÃO DE GELEIA REAL NO BRASIL

**Resumo:** A geleia real é um composto rico em nutrientes secretado pelas glândulas hipofaringeanas e mandibulares das abelhas nutrizas. Colônias com duas rainhas em sistemas verticais e horizontais foram avaliadas em dez períodos de coleta durante a primavera de 2019 quanto ao seu efeito sobre a porcentagem de aceitação de larvas (%) e produção de geleia real por colônia (g), período de coleta (g), cúpula (mg) e sarrafo(g) e comparadas com técnicas de produção tradicionais denominadas recria e minirrecria na região sul do Brasil. A geleia real produzida por colônia e período de coleta apresentou diferenças entre tratamentos, colônias com duas rainhas com manejo vertical e horizontal produziram significativamente maior quantidade de geleia real (vertical: 8,26g e horizontal: 8,09g) comparadas com colônias com uma única rainha (recria: 4,30g e minirrecria 2.03g). Em relação ao período de coleta, colônias verticais produziram maior quantidade de geleia comparadas com colônias manejadas em recria e minirrecria, porém, não tiveram diferenças estatísticas significativas quando comparadas com colônias com duas rainhas e manejo horizontal. Colônias com duas rainhas apresentaram maior porcentagem de aceitação, maior produção de geleia real por cúpula e produziram 96,24% mais geleia por período de coleta e 112% mais geleia real por colônia comparado com sistemas de uma única rainha. Além disso, sua produção ao longo do tempo foi constante e suas populações se mantiveram fortes. Conclui-se que colônias com duas rainhas manejadas em sistemas vertical ou horizontal, produzem maior quantidade de geleia real comparadas com colônias com uma única rainha.

**Palavras-chave:** Colônias horizontais, colônias verticais, duas rainhas, minirrecria, recria, técnicas de manejo.

## TWO-QUEEN HIVE MANAGEMENT FOR ROYAL JELLY PRODUCTION IN BRAZIL

**Abstract:** Royal jelly is a nutrient-rich compound secreted by the hypopharyngeal and mandibular glands of nursing bees. The potential of royal jelly production in Africanized honeybee colonies was evaluated using techniques with two- queens per colony in horizontal and vertical systems during the spring of 2019. The techniques were tested for their effect on the larvae acceptance percentage (%) royal jelly production per colony (g), harvest (g), cell cup (mg) and bar(g) and compared with traditional production

techniques called overlapped hives and overlapped nucleus in southern Brazil. Results showed statistic differences in royal jelly producing between methods ( $p < 0.05$ ), two queens vertical colonies produced significantly greater amount of royal jelly per colony and per harvest ( $8,26$  and  $53.28 \pm 4.98g$ ) compared with single queen colonies in hives overlapping, ( $4,30$  and  $32.76 \pm 3.57g$ ) and nucleus overlapping ( $2.03$  and  $14.45 \pm 2.48g$ ), but did not differ from two-queen horizontal colonies ( $8,09$  and  $49,21 \pm 4,56g$ ), there was no difference in royal jelly per harvest between two-queen horizontal colonies and single queen colonies in hives. . Two-queen colonies produced 96,24% more royal jelly per harvest period and 112% more royal jelly per colony and showed a higher percentage of acceptance and royal jelly per cell cup compared to single queen systems. It is concluded that vertical and horizontal two-queens colonies produce a greater amount of royal jelly compared to single queen colonies.

**Keywords:** Hive management, hive colony, horizontal colony, two-queen, vertical colony, overlapped nucleus.

### **Introdução**

Os produtos da colônia durante milênios foram utilizados como alimentos e medicamentos por suas propriedades medicinais e alto valor nutritivo (Kuropatnicki et al., 2018; Ramanathan, Nair & Sugunan, 2018). Além do mel, produtos como cera de abelha, pólen e geleia real são altamente cobiçados por possuírem compostos cosméticos e promotores da saúde, não obstante, a demanda por esses ingredientes excede em muito a oferta (Zheng et al., 2018).

A geleia real é um composto complexo que contém nutrientes como água (50,00-60,00%), proteínas (13,90%), açúcares (13,10%), lipídios (3,00-6,00%), minerais, vitaminas solúveis em água, aminoácidos livres entre outros (Wytrychowski et al., 2013), é produzida pelas glândulas hipofaríngeas e mandibulares das abelhas nutrízes e embora todas as larvas de abelhas sejam alimentadas com esse composto durante os primeiros três dias, apenas as larvas de rainha continuam consumindo geleia durante todo o seu desenvolvimento (Kamakura et al., 2011).

O país que responde por 95% da demanda mundial de geleia real é a China, suas colônias produzem a cerca de 10kg de geleia anualmente apresentando a média de 200,00g por colônia em um período de 72 horas (Zheng et al., 2018). Essa produção tem um preço altamente competitivo no mercado mundial e a determinação da origem geográfica da geleia real é uma questão importante para o controle de qualidade. A alta

produção do país se deve ao desenvolvimento de técnicas e ferramentas apropriadas, além da seleção genética que se iniciou em 1950 com a introdução de linhagens de abelhas com alta produtividade de geleia real também conhecidas como HRJB (High Royal Jelly-producing lineage of Honeybees) as quais provêm da subespécie de abelhas italianas *Apis mellifera ligustica* que foram avaliadas e selecionadas ao longo do tempo (Chen, 2005).

Princípios como a força da colônia, disponibilidade de alimento, temperatura, umidade, idade da larva usada na transferência, ferramentas utilizadas e técnicas de manejo da colônia, são fundamentais para obter boa produção de geleia real (Li, 2000). Assim, técnicas de manejo vêm sendo aperfeiçoadas desde o século XVII, passando de colmeias rústicas sem dimensões e formas certas para colmeias de estrutura fixa e, posteriormente, para colmeias de estrutura móvel que diminuem o tempo de manejo e melhoram a produtividade (Crane, 1990).

Técnicas de manejo com várias rainhas (poliginia) em uma colônia, têm sido implementadas em muitos apiários para manter colônias fortes ao longo do ano e utilizadas na produção de geleia real ou como apoio para o rápido crescimento de outras colônias (Cao et al., 2016). A poliginia, ocorre temporalmente em colônias de *A. mellifera* quando rainhas virgens são preparadas para enxames de reprodução ou quando a rainha será substituída (Gilley & Tarpy, 2005).

Experimentalmente, é possível manter colônias com várias rainhas mediante o uso de telas excludoras para evitar lutas e consequentes perdas de rainhas ou cortando parte da mandíbula de rainhas fisogástricas com mais de seis meses de idade para que possam coabitar o mesmo ninho (Human et al., 2013). As vantagens destas técnicas incluem grande força de forrageamento, resistência a doenças, melhor divisão de tarefas dentro da colônia, maior produtividade e alto número de ovos que resulta em colônias fortes (Gris et al., 2004; Zheng et al., 2009; Delaplane, 2015; Hesbach, 2016).

Zheng et al. (2009) demonstraram que a ablação da mandíbula não tem efeito significativo na capacidade de postura de rainhas, e a taxa de produção de ovos de colônias com três e cinco rainhas é em média de 199% e 328% mais, respectivamente, comparada com colônias de uma única rainha na China. Em América do Sul, Rebolledo et al. (2008) relataram a diferença de 66,00kg de mel em colônias de abelhas Italo-Canadenses com sistema de três rainhas comparado com colônias de uma única rainha na região de La Araucania- Chile, realizando a união das colônias antes de começar o fluxo de néctar e usando tela excludora para evitar a morte das rainhas

Este estudo foi desenvolvido sob a hipótese de que o uso de duas rainhas pode influenciar o desempenho produtivo das colônias. Assim, o objetivo foi avaliar os efeitos do manejo vertical e horizontal em colônias com duas rainhas na produção de geleia real e comparar com os sistemas de produção em recria e minirrecria que são tradicionalmente usados para produzir a geleia real.

### **Material e métodos**

O experimento foi desenvolvido no setor de apicultura e meliponicultura da Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI), da Universidade Estadual de Maringá (UEM), Maringá, Paraná, Brasil. 24 colônias experimentais foram estabelecidas em colmeias tipo Langstroth e divididas em quatro grupos. O primeiro grupo (vertical), colônias com duas rainhas separadas em três ninhos sobrepostos separados por duas telas excludoras de rainhas (Delaplane, 2015; Gris et al., 2004); o segundo grupo (horizontal), colônias com duas rainhas em três ninhos formando uma pirâmide separados por duas telas excludoras de rainhas (Hesbach, 2016), o terceiro grupo (recria), colônias com uma rainha e dois ninhos separados com tela excludora e o último grupo (minirrecrias) foram colônias com uma rainha e dois núcleos separados com tela excludora (Figura 1). Colônias com duas rainhas foram estabelecidas um mês antes de começar a produção de geleia real (Farrar, 1958).

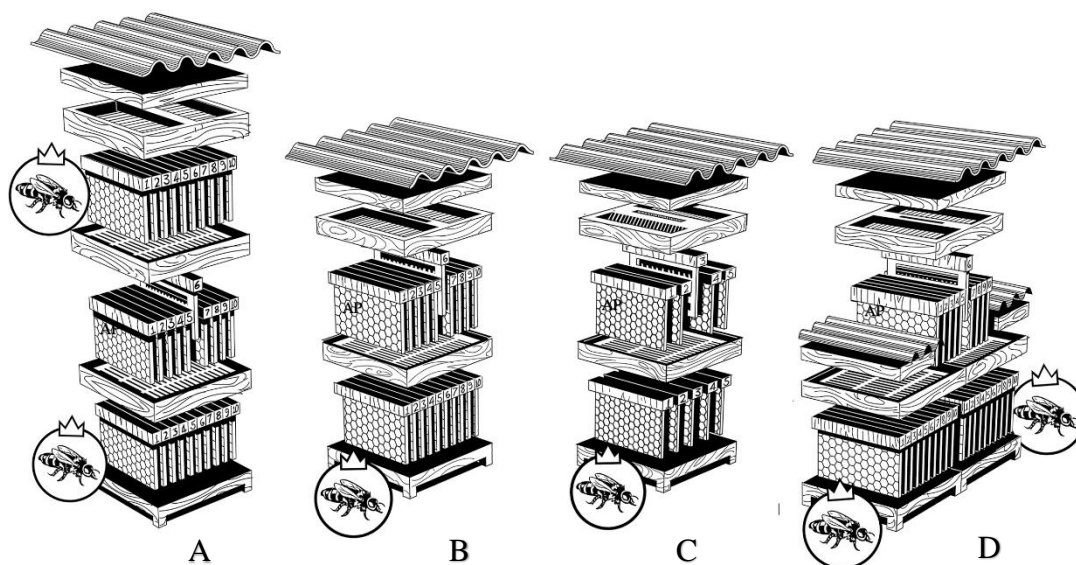
Colônias selecionadas para produção de geleia real (Baitala et al., 2010) foram usadas como matrizes para a produção de rainhas antes do início dos tratamentos, as rainhas foram introduzidas nas colônias para fecundar naturalmente. A estrutura da colônia foi dividida em área de propagação e área de produção (Hu et al., 2019). As colônias foram manejadas e padronizadas 24 horas antes das transferências, deixando dois favos com mel, dois com pólen, três com cria operculada e dois com cria aberta na área de produção (Figura 1-AP) e três favos com mel, dois favos com pólen, dois com cria aberta, dois com cria operculada e um favo vazio para a rainha realizar a postura na área de propagação (Figura 1- Rainha).

A geleia real foi produzida realizando dois ciclos por semana durante a primavera de 2019 seguindo o método modificado de Doolittle (1889), que consiste em transferir larvas do favo para cúpulas comerciais de acrílico. Um dia antes de realizar as transferências, os quadros porta-cúpulas foram mergulhados em xarope e introduzidos nas colônias para adaptação das abelhas e enceramento e limpeza das cúpulas. Cada quadro possuía o total de 99 cúpulas distribuídas em três sarrafos e foi posicionado no centro da área de



produção. Foram fornecidos 40g de suplemento proteico em pasta desenvolvido por Sereia et al (2013) e 600 mL de xarope de açúcar e água 1:2 por colônia em cada ciclo.

Após 68 a 72 h da transferência de larvas, os quadros porta-cúpulas foram retirados das colônias. A cera que cobre a cúpula foi tirada para expor a larva e a geleia real. Posteriormente, a larva foi descartada usando umas pinças e a geleia real foi coletada com ajuda de uma espátula, armazenada em potes plásticos de 50g e congelada. A cada dez dias as colônias foram manejadas para garantir quantidade suficiente de larvas para atrair as nutrizes na área de produção além de liberar espaço na área de propagação para que a rainha efetuasse a postura.



**Figura 1.** Design dos tratamentos principais e visão interna da colônia- (A) Colônia vertical com duas rainhas; (B) Colônia recria com uma rainha; (C) Colônia minirrecria com uma rainha; (D) Colônia horizontal com duas rainhas. Quadros 1 e 10; favos com mel, 2 e 7; favos com pólen, 3 ,4 e 9; favos com cria operculada, 5 e 8; favos com cria aberta, 6; quadro porta cúpulas na área de produção (AP) e favo vazio na área de propagação (rainha).

Foi avaliada a porcentagem de aceitação de larvas (%) contando o número de larvas que foram aceitas na colônia relacionado com o número de larvas transferidas, a produção de geleia real por colônia (g), por período de coleta (g), por cúpula (mg) e por sarrafo(g) usando uma balança digital de precisão de 0,0001g. A produção de geleia real por cúpula foi calculada dividindo a média de produção por colônia pelo número de larvas aceitas. Os sarrafos foram numerados do número um até o número três, sendo o número um o sarrafo mais próximo à área de cria e o número três o mais afastado da área de cria.

### **Análise estatística**

Para verificar a suposição de normalidade das variáveis, foi utilizado o teste de Shapiro-Wilk e o teste de Bartlett para verificar a homogeneidade das variâncias. Quando satisfeitos estes pressupostos, os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) usando delineamento em blocos ao acaso com quatro tratamentos (T1: Manejo vertical, T2: Manejo Horizontal, T3: Recria, T4: Minirrecria) e seis repetições por tratamento para verificar se houve efeito dos tratamentos nas variáveis analisadas. Quando significativo, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância. Quando os pressupostos de normalidade e homogeneidade das variâncias foram violados, foi usado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis e análise post-hoc com Dunn para comparações múltiplas com o objetivo de identificar quais tratamentos diferem entre si. Todas as análises foram realizadas utilizando o pacote rstatix do software estatístico R (R Development Core Team, 2019).

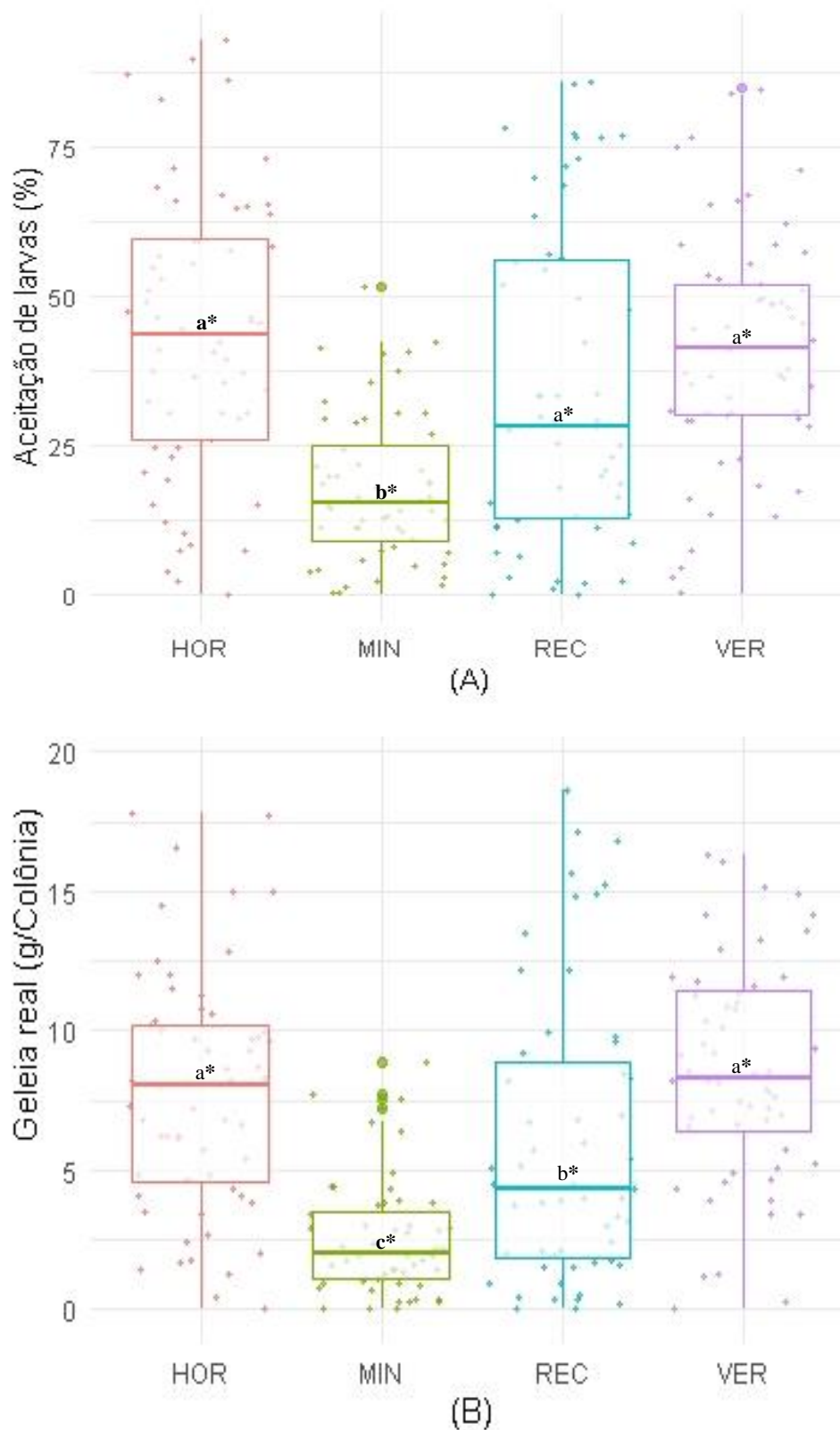
### **Resultados**

O efeito do tipo de manejo na produção de geleia foi resumido na Tabela 1. Foram realizadas o total de 22869 transferências de larvas das quais 7869 foram aceitas. O teste de Kruskal-Wallis indicou que há diferença entre os grupos para as variáveis porcentagem de aceitação de larvas ( $X^2_{(3)} = 46,24$ ;  $p < 0,001$ ), geleia real por cúpula ( $X^2_{(3)} = 41,65$ ;  $p < 0,001$ ) e geleia real por colônia ( $X^2_{(3)} = 66,55$ ;  $p < 0,001$ ). Para a variável porcentagem de aceitação, o post-hoc de Dunn indicou que o grupo minirrecria (15,2 e 16,2 % mediana e amplitude interquartil) é diferente dos grupos vertical (41,4 e 21,7%), horizontal (43,4 e 33,8%) e recria (28,3 e 43,4%), observando que as colônias alojadas em colmeias minirrecrias aceitam menor quantidade de larvas (Figura 2). A produção de geleia por cúpula foi significativamente maior em colônias com duas rainhas com técnica de manejo vertical (225,00 e 59,9 mg) seguido por colônias com manejo horizontal (182,00 e 72,80mg), colônias com uma rainha e manejo em recria (169,00 e 62,30mg) e colônias com uma rainha e manejo em minirrecria (157,00 e 79,40mg).

Observa-se na Tabela 1 por meio dos resultados do teste de Tukey que em média há diferenças significativas entre tratamentos para a variável geleia real produzida por período de coleta, observando que colônias com duas rainhas e manejo vertical produziram maior quantidade de geleia real ( $53,28 \pm 4,98g$ ) comparadas com colônias com uma única rainha em manejo recria ( $32,76 \pm 3,57g$ ) e minirrecria ( $14,45 \pm 2,48g$ ), mas não diferiram das colônias com duas rainhas com manejo horizontal ( $49,21 \pm 4,56g$ ). Não

houve diferença entre colônias com duas rainhas e manejo horizontal e colônias com única rainha e manejo recria. A produção de geleia real por colônia, em abelhas *A. mellifera* manejadas em sistema vertical e horizontal foi diferente da produção de colônias manejadas em sistema recria e minirrecria com valores de 8,26 e 5,04, 8,09 e 5,66, 4,30 e 6,99 e 2,03 e 2,45g por colônia, respectivamente (Figura 2).

Colônias com duas rainhas produziram 96,24% mais geleia por período de coleta e 112% mais geleia real por colônia considerando a média de cada um dos tratamentos e foram diferentes do grupo com uma única rainha em relação a porcentagem de aceitação ( $X^2_{(1)} = 32,73$ ;  $p < 0,001$ ) e geleia real por cúpula ( $X^2_{(1)} = 31,79$ ;  $p < 0,001$ ) (Figura 3). A posição do sarrafo dentro da colônia não influencia estatisticamente as variáveis resposta pois o teste de Kruskal-Wallis indicou que não há diferença entre os grupos ( $p > 0,05$ ) (Tabela 1).



**Figura 2.** Aceitação de larvas (A) e produção de geleia real por colônia (B) usando quatro tipos de manejos. Colônias com duas rainhas e manejo horizontal (HOR-☐), colônias com uma rainha e manejo minirrecria (MIN-☐), colônias com duas rainhas e manejo recria (REC-☐) e colônias com duas rainhas e manejo vertical (VER-☐). \*Boxplot com letra diferente na mesma figura, difere estatisticamente pelo teste de Dunn ( $P < 0,05$ ).

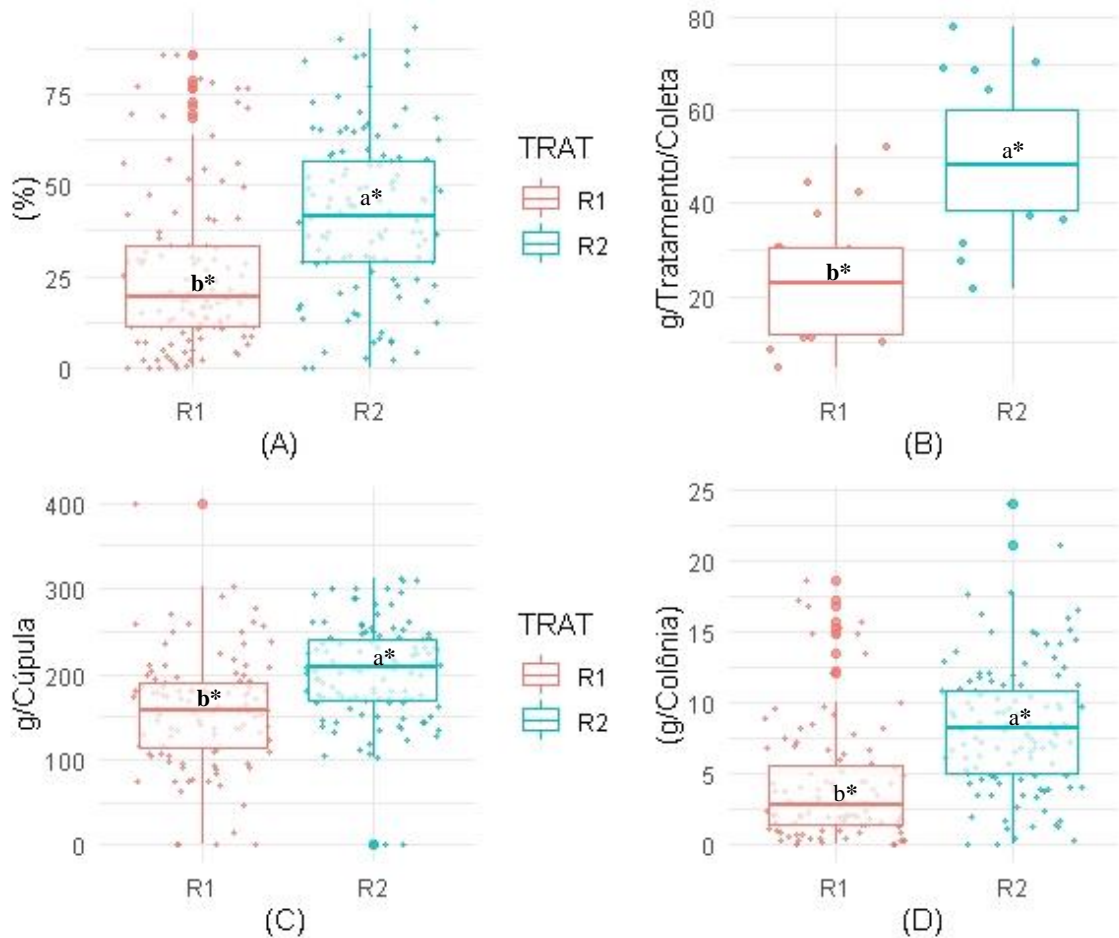
**Tabela 1.** Técnicas de manejo na produção de geleia real em abelhas *Apis mellífera*.



Grupos	Colônias n	Número de Transferências	Número de larvas aceitas	Aceitação (%)	Geleia real/ cúpula (mg)	Geleia real/ Coleta (g)	Geleia real/ Colônia/ Coleta (g)
Valor de F/X <sup>2</sup>				46,24	41,65	21,60	66,55
P valor				<0,0001	0,0004	0	<0,0001
GL/CV (%)				3	3	59,24	3
R <sup>2</sup>						31,75%	
Vertical	60	5940	2435	40,99 ± 2,52a <sup>#</sup>	216,34 ± 6,87a <sup>#</sup>	53,28 ± 4,98a*	8,88 ± 0,60a <sup>#</sup>
Horizontal	60	5940	2563	43,15 ± 3,05a <sup>#</sup>	190,04 ± 7,50b <sup>#</sup>	46,81 ± 4,9ab*	7,80 ± 0,56a <sup>#</sup>
Recria	55	5445	1892	34,75 ± 3,59a <sup>#</sup>	168,09 ± 8,88bc <sup>#</sup>	32,76 ± 3,57b*	5,96 ± 0,70b <sup>#</sup>
Minirrecria	56	5544	979	17,66 ± 1,65c <sup>#</sup>	146,31 ± 8,84c <sup>#</sup>	14,45 ± 2,48c*	2,58 ± 0,28c <sup>#</sup>
Total/ Média± EP	231	22869	7869	34,41±2,70	181,00±8,02	36,83 ±3,99	6,38 ±0,54
Valor de F/X <sup>2</sup>				3,78	3,86	7,02	7,02
P valor				0,05	0,05	0,01	0,01
GL/CV (%)				1	1	39,90	39,90
R <sup>2</sup>						17,99	17,99
Horizontal	60	5940	2563	43,15 ± 3,06a <sup>#</sup>	190,04 ± 7,50a <sup>#</sup>	46,81 ± 4,91a*	7,80 ± 0,56a <sup>#</sup>
Recria	55	5445	1892	34,75 ± 3,59a <sup>#</sup>	168,09 ± 8,88b <sup>#</sup>	32,76 ± 3,57b*	5,96 ± 0,70b <sup>#</sup>
Total/ Média± EP	115	11385	4455	39,13 ± 3,33	179,5 ± 8,19	39,79 ± 4,24	6,92 ± 0,63
Valor de F/X <sup>2</sup>				3,65	22,12	13,53	11,90
P valor				0,06	<0,0006	0,0003	0,00056
GL/CV (%)				1	1	2,29	1
R <sup>2</sup>						19,48	
Vertical	60	5940	2435	40,99 ± 2,52a <sup>#</sup>	216,34 ± 6,89a <sup>#</sup>	53,28 ± 4,98a*	8,88 ± 0,60a <sup>#</sup>
Recria	55	5445	1892	34,75 ± 3,54a <sup>#</sup>	168,09 ± 8,88b <sup>#</sup>	32,76 ± 3,57b*	5,96 ± 0,70b <sup>#</sup>
Total/ Média± EP	115	11385	4327	38,01 ± 3,03	193,30 ± 7,88	43,02 ± 8,55	7,48 ± 0,65

Valor de X <sup>2</sup>				1,30	0,25	1,41	0,39
P valor				0,52	0,88	0,49	0,82
GL				2	2	2	2
S1	231	7623	2687	35,25 ± 1,64a <sup>#</sup>	175,11 ± 5,35a <sup>#</sup>	88,08 ± 24,99a <sup>#</sup>	2,12 ± 0,11a <sup>#</sup>
S2	231	7623	2644	34,68 ± 1,59a <sup>#</sup>	169,79 ± 4,81a <sup>#</sup>	70,69 ± 17,04a <sup>#</sup>	2,13 ± 0,11a <sup>#</sup>
S3	231	7623	2544	33,37 ± 1,74a <sup>#</sup>	173,22 ± 5,57a <sup>#</sup>	49,24 ± 4,20a <sup>#</sup>	2,13 ± 0,12a <sup>#</sup>
Total/ Média± EP	462	15246	5188	34,44±1,66	172,7±5,24	69,34±15,41	2,13±0,11

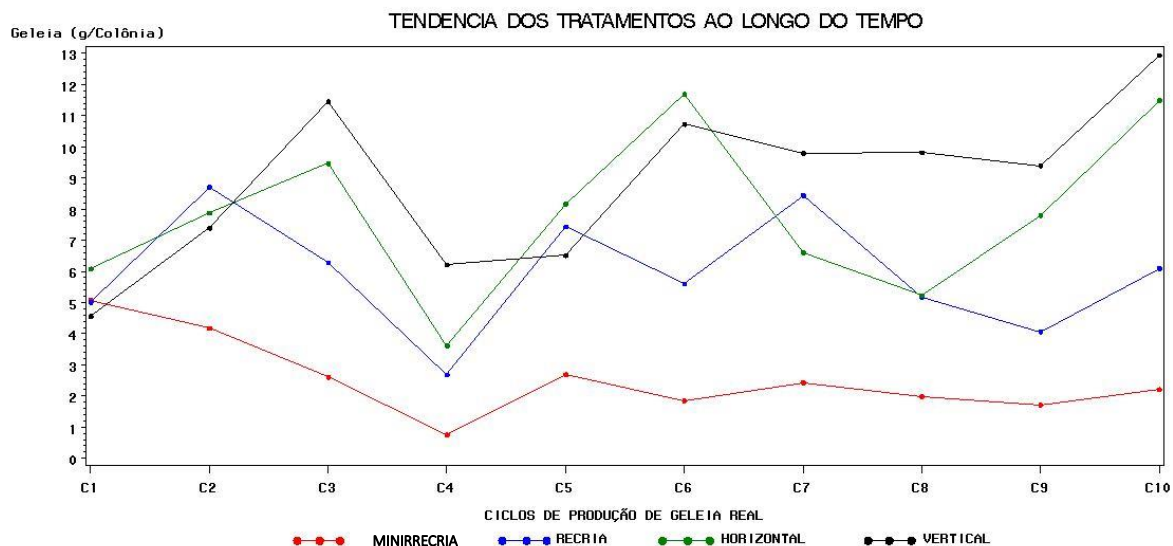
\* Médias com letra diferente na mesma coluna, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0,05).

<sup>#</sup> Baseado na mediana, letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente pelo teste de Dunn (P<0,05).



**Figura 3.** Produção de geleia real em colônias com uma (R1) e com duas rainhas (R2). Porcentagem de aceitação de larvas (A), geleia real produzida por tratamento em período de 72 horas (B), geleia real produzida por cúpula (C) e geleia real produzida por colônia (D). Colônias com uma rainha (R1- ) e colônias com duas rainhas (R2- ) \*Boxplot com letra diferente na mesma figura, difere estatisticamente ( $P < 0,05$ ).

Foi observada queda geral na produção de geleia por colônia durante o quarto ciclo de coleta (Figura 4). Colônias com manejo vertical mantiveram a produção constante ao longo do tempo. O pico de produção se apresentou no último período de coleta para colônias com duas rainhas manejadas em ambos sistemas e no segundo ciclo para colônias com uma única rainha e ambos os manejos. Os menores valores de geleia real por período ocorreram nas colônias com uma rainha e manejo minirrecria, este tratamento diminuiu sua produção ao longo do tempo acompanhado com a diminuição na população das colônias. As colônias com uma rainha e manejo em recria também diminuíram sua produção com o passo do tempo (Figura 4).



**Figura 4.** Geleia real (g) produzida por colônia ao longo do tempo. (MINIRRECRIA) Colônia minirrecria com uma rainha, (RECRÍA) Colônia recria com uma rainha, (HORIZONTAL) Colônia horizontal com duas rainhas, (VERTICAL) Colônia vertical com duas rainhas.

## Discussão

A produção média de geleia real por cúpula, coleta e colônia diferiram ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos. A produção média por colônia ( $6,38 \pm 0,54g$ ) foi similar à reportada por Muli, Raina e Mueke (2005) para colônias de *Apis mellifera scutellata* (6,90g) e *A mellifera monticola* (7,30g) alojadas em colmeias Langstroth tipo recria na África. Van Toor e Littlejohn, (1994) descreveram valores similares de 7,10g para colônias órfãs e 7,30g de geleia por coleta para colônias com rainha na Nova Zelândia. No entanto, em abelhas *Apis mellifera caucasica* na Turquia têm sido reportadas porcentagens de aceitação de 84,80% para colônias suplementadas com xarope de açúcar e em torno de 70% para colônias sem suplementar com produções de geleia real por colônia/coleta de 25,00 e 34,60g respectivamente (Şahinler, Gul & Sahin, 2005; Şahinler & Kaftanoğlu, 2005).

Da mesma forma, no Brasil, observam-se variações na porcentagem de aceitação e produção de geleia real em experimentos realizados ao longo do ano com abelhas *Apis mellifera* africanizadas. Quando manejadas em recrias no nordeste do país, as colônias apresentam porcentagens de aceitação entre 41 e 45% durante os meses de junho e agosto (De Queiroz, Barbosa & Azevedo, 2001).

No sul do país, colônias alojadas em recrias e suplementadas com uma mistura de óleo de linhaça e óleo de palma durante os meses de dezembro a fevereiro produziram 40,50% mais geleia comparadas com colônias sem suplementação, com produções de



11,3 e 6,5g/ colônia respectivamente (Sereia et al., 2013). Do mesmo modo, colônias suplementadas com mistura de levedo de cerveja e proteína isolada de soja no período março a maio, aumentaram a produção de geleia real de 6,9 para 11,6g/colônia e de 147,7 para 190,6mg/cúpula comparadas com colônias sem suplementação (Sereia et al., 2013).

Colônias de *A. mellifera* manejadas em minirrecrias, caracterizam-se por produzir quantidades entre 121 e 214 mg de geleia por cúpula e representa uma produção a cerca de 1,80g/colônia/coleta e aceitações de larvas entre 29 e 43% nos meses de novembro a maio (Garcia & Nogueira-Couto, 2005; Toledo et al., 2010; Pereira et al., 2019). No período de junho a dezembro na mesma região, foi relatada a produção de 3,6g /colônia/coleta com média de 136,5mg por cúpula e 39,5% de larvas aceitas (Santos et al., 2019), valores que concordam com os resultados obtidos neste experimento.

As diferenças nos rendimentos podem ser pelo método de produção utilizado, a presença da rainha na colônia (Şahinler & Kaftanoğlu, 2005), o número, cor e tipo de cúpula utilizada (Garcia, Malerbo-Souza & Nogueira-Couto, 2000; Pereira et al., 2019), o fornecimento de suplementos (Muli, Raina & Mueke, 2005), a oferta de alimento durante o período experimental, a época do ano e variáveis ambientais como umidade e temperatura (Garcia & Nogueira-Couto, 2005; Toledo et al., 2010).

Estes resultados evidenciam que apesar dos benefícios como facilidade de manejo e alimentação, menor investimento em material e pouca mão de obra obtidos mediante o uso de colônias com uma única rainha alojadas em minirrecrias, estas obtiveram os valores mais baixos em todas as variáveis analisadas. Apresentando também, diminuição na população e portanto na produção ao longo do tempo (Figura 4) de modo que é desconsiderada sua utilização em apiários comerciais destinados a produção de geleia real.

A altura das colônias verticais e o número de corpos utilizado dificultou o manejo, precisando de no mínimo três pessoas na hora de retirar ou devolver o quadro porta cúpulas e levando mais tempo para manejá-las resultando em maior pilhagem. Além disso, colônias com manejo vertical são susceptíveis a serem derrubadas durante períodos de fortes ventos. Porém, colônias com duas rainhas em ambos os sistemas de manejo exibiram produção de geleia real por cúpula, por colônia e por coleta significativamente maior comparadas aos demais tratamentos, sua produção foi constante e sua população ao final do experimento apresentou-se forte, significando que estas colônias conseguem produzir por períodos mais longos de tempo e ainda aproveitar a população ao final da produção.

O feromônio da abelha rainha modula muitos aspectos da fisiologia e do comportamento das operárias e é fundamental para a organização social das colônias (Kocher et al., 2009). O fato de ter duas rainhas produzindo feromônios dentro da colônia pode incrementar a dispersão e quantidade de feromônio por operária influenciando o desempenho e por tanto a produção de geleia real. Similarmente, compostos produzidos pelas larvas estimulam o desenvolvimento das glândulas hipofaringeanas e direcionam o forrageamento de pólen (Traynor, Le Conte & Page, 2014).

Em colônias com duas rainhas em ambos os sistemas, as abelhas podem se mover livremente para cima e para baixo através da tela excludora de rainha, ocorre a transferência de calor e de feromônios mais eficiente e boa disponibilidade de alimento facilitando a padronização da área de produção quando necessário. Além disso, estas colônias, precisam de menor quantidade de ninhos, tampas e quadros e se caracterizaram por ter populações fortes que permite melhor localização e seleção das fontes de alimento. Por outro lado, precisam de maior tempo para ser estabelecidas e deve ser realizado manejo cuidadoso para evitar o fluxo de rainhas entre os corpos.

Colônias com uma única rainha alojadas em recrias e colônias com duas rainhas não diferiram estatisticamente em relação a porcentagem de aceitação de larvas e produção de geleia real por período de coleta. No entanto, colônias em sistema recria apresentam vantagens como manejo fácil e rápido, menor mão de obra, facilidade para alimentação, retirada e devolução do quadro porta cúpulas.

Assim, colônias com duas rainhas em sistemas de manejo vertical e horizontal apresentaram o melhor desempenho produtivo, precisando de menor quantidade de material apícola para produzir, mantendo produção constante ao longo do tempo e populações fortes ao final do experimento, podendo aproveitar ainda as abelhas para polinização ou produção de outros recursos. Futuras pesquisas devem ser realizadas para avaliar a viabilidade econômica de cada sistema.

### **Referências**

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. DOI: 10.1051/apido/2009069.

Cao, L. F., Zheng, H. Q., Pirk, C. W., Hu, F. L., & Xu, Z. W. (2016). High royal jelly-producing honeybees (*Apis mellifera ligustica*) (Hymenoptera: Apidae) in China. *Journal of Economic Entomology*, 109 (2), 510-514. DOI: 10.1093/jee/tow013.

Chen, M. H. (2005). Analysis of the current state of royal jelly in China mainland. *Journal of Bee*, 25, 17-19.

Crane, E. (1990). *Bees and beekeeping: science, practice and world resources*. New York: Cornell University Press.

Delaplane, K. (2015). Management for the honey production. In: *The hive and the honey bee*. (pp:487- 527). Illinois; Dadant & Sons, Inc.

Doolittle, G (1889). *Scientific queen rearing*. Chicago: Thomas G. Newman & Son.

Farrar, C. L. (1958). Two-queen colony management for production of honey. *USDA, Agricultural Research Service*. ARS 33-48. Retrieved February 3, 2020, from <https://archive.org/details/twoqueencolonyma48farr/page/n1/mode/2up>.

Garcia, R. C., & Nogueira-Couto, R. H. (2005). Produção de geleia real por abelhas *Apis mellifera* italianas, africanizadas e descendentes de seus cruzamentos. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 27 (1), 17-22. DOI: 10.4025/actascianimsci.v27i1.1254.

Garcia, R. C., Malerbo-Souza, D. T., & Nogueira-Couto, R. H. (2000). Cúpulas comerciais para produção de geleia real e rainhas em colmeias de abelhas *Apis mellifera*. *Scientia Agricola*, 57 (2), 367-370. DOI: 0.1590/S0103-90162000000200028.

Gilley, D. C., & Tarpy, D. R. (2005). Three mechanisms of queen elimination in swarming honey bee colonies. *Apidologie*, 36 (3), 461-474. DOI: 10.1051/apido:2005033.

Gris, A. G. V., Novoa, E. G., Benítez, A. C., & Rubio, J. A. Z. (2004). Efecto del uso de dos reinas en la población, peso, producción de miel y rentabilidad de colonias de abejas (*Apis mellifera* L.) en el altiplano mexicano. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 42 (3), 361-377.

Hesbach, W (2016). The horizontal two queen system. *Bee Culture*, 1-9.

Hu, F.L., Bíliková, K., Casabianca, H., Daniele, G., Salmen Espindola, F., Feng, M., Guan, C., Han, B., Křištof Kraková, T., Li, J.K. & Li, L., (2019). Standard methods for *Apis mellifera* royal jelly research. *Journal of Apicultural Research*, 58 (2), 1-68. DOI: <https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1286003>

Human, H., Brodschneider, R., Dietemann, V., Dively, G., Ellis, J. D., Forsgren, E., ... & Jensen, A. B. (2013). Miscellaneous standard methods for *Apis mellifera* research. *Journal of Apicultural Research*, 52 (4), 1-53. DOI: <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.52.4.10>.

Kamakura, M. (2011). Royalactin induces queen differentiation in honeybees. *Nature*, 473 (7348), 478-483. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature10093>.

Kocher, S. D., & Grozinger, C. M. (2011). Cooperation, conflict, and the evolution of queen pheromones. *Journal of chemical ecology*, 37 (11), 1263-1275. DOI: 10.1007/s10886-011-0036-z.

Kuropatnicki, A. K., Klósek, M., & Kucharzewski, M. (2018). Honey as medicine: historical perspectives. *Journal of Apicultural Research*, 57 (1), 113-118. DOI: 10.1080/00218839.2017.1411182.

Li, J. (2000). Technology for royal jelly production. *American Bee Journal*, 140 (6), 469-472.

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. *Journal of apicultural research*, 44 (4), 137-140. DOI: 10.3896/IBRA.1.44.4.01.

Pereira, H. L., Santos, P. D. R., Rossoni, D. F., & Toledo, V. A. A. (2019). Royal jelly production in Africanized colonies with selected queens, use of Chinese model cups and supplementation. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 41. DOI: 10.4025/actascianimsci.v41i1.44472.

Queiroz, M. D., Barbosa, S. B., & Azevedo, M. D. (2001). Produção de geleia real e desenvolvimento da larva de abelhas *Apis mellifera*, na região semi-árida de

Pernambuco. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 30 (2), 449-453. DOI: 10.1590/S1516-35982001000200022.

R Development Core Team. (2018). R: a language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.

Ramanathan, A. N. K. G., Nair, A. J., & Sugunan, V. S. (2018). A review on royal jelly proteins and peptides. *Journal of Functional Foods*, 44, 255-264. DOI: 10.1016/j.jff.2018.03.008.

Rebolledo, R., Guíñez, C. G., Araneda, X., & Aguilera, A. (2008). Estudio comparativo de la producción de miel con una y tres reinas por colmena en la zona de Nueva Imperial, Chile. *Idesia (Arica)*, 26 (2), 19-25.

Şahinler, N., & Kaftanoğlu, O. (2005). The effects of season and honeybee (*Apis mellifera* L.) genotype on acceptance rates and royal jelly production. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 29 (2), 499-503.

Şahinler, N., Gül, A., & Şahin, A. (2005). Vitamin E supplement in honey bee colonies to increase cell acceptance rate and royal jelly production. *Journal of Apicultural Research*, 44 (2), 58-60. DOI: 0.1080/00218839.2005.11101149.

Santos, P. D. R., Souza, T. H. S. D., Rossoni, D. F., & Toledo, V. A. A. (2019). Royal jelly production with queens produced by single and double grafting in Africanized honeybee colonies. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 41. 45670 DOI: 10.4025/actascianimsci.v41i1.45670.

Sereia, M., Toledo, V., Furlan, A., Faquinello, P., Maia, F. & Wielewski, P. (2013). Alternative sources of supplements for Africanized honeybees submitted to royal jelly production. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 35 (2), 165-171. DOI: 10.4025/actascianimsci.v35i2.16976.

Subrahmanyam, M., Sahapure, A & Nagane, N. (2001). Effects of topical application of honey on burn wound healing. *Annals of Burns and Fire Disasters* 14: 143-145.

Toledo, V. A. A., Neves, C. A., Alves, E. M., de 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 Scientiarum. Animal Sciences*, 32 (1), 101-108. DOI: 10.4025/actascianimsci.v32i1.6836.

Traynor, K. S., Le Conte, Y., & Page, R. E. (2014). Queen and young larval pheromones impact nursing and reproductive physiology of honey bee (*Apis mellifera*) workers. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 68 (12), 2059-2073. DOI: 10.1007/s00265-014-1811-y.

Van Toor, R. F., & Littlejohn, R. P. (1994). Evaluation of hive management techniques in production of royal jelly by honey bees (*Apis mellifera*) in New Zealand. *Journal of Apicultural Research*, 33 (3), 160-166. DOI: 10.1080/00218839.1994.11100864

Wytrychowski, M., Chenavas, S., Daniele, G., Casabianca, H., Batteau, M., Guibert, S., & Brion, B. (2013). Physicochemical characterisation of French royal jelly: Comparison with commercial royal jellies and royal jellies produced through artificial bee-feeding. *Journal of Food Composition and Analysis*, 29 (2), 126-133. DOI: 10.1016/j.jfca.2012.12.002.

Zheng, H. Q., Jin, S. H., Hu, F. L., & Pirk, C. W. (2009). Sustainable multiple queen colonies of honey bees, *Apis mellifera ligustica*. *Journal of Apicultural Research*, 48 (4), 284-289. DOI: 10.3896/IBRA.1.48.4.09.

Zheng, H., Cao, L., Huang, S., Neumann, P., & Hu, F. (2018). Current status of the beekeeping industry in China. In: *Asian beekeeping in the 21st century*. (pp. 129-158). Singapore: Springer. DOI: 10.1007/978-981-10-8222-1\_