

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

SUPLEMENTOS PROTEICOS PARA ABELHAS
AFRICANIZADAS SUBMETIDAS À PRODUÇÃO DE
GELEIA REAL

Autora: Maria Josiane Sereia
Orientador: Prof. Dr. Vagner de Alencar Arnaut de Toledo
Co-Orientador: Prof. Dr. Antonio Claudio Furlan

MARINGÁ
Estado do Paraná
maio - 2009

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

SUPLEMENTOS PROTEICOS PARA ABELHAS
AFRICANIZADAS SUBMETIDAS À PRODUÇÃO DE
GELEIA REAL

Autora: Maria Josiane Sereia
Orientador: Prof. Dr. Vagner de Alencar Arnaut de Toledo
Co-Orientador: Prof. Dr. Antonio Claudio Furlan

Tese apresentada, como parte das exigências para a 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
maio - 2009

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

S483 Sereia, Maria Josiane
Suplementos proteicos para abelhas africanizadas submetidas à produção de geleia real / Maria Josiane Sereia. -- Maringá: [s.n.], 2009.
92 f. : il.

Orientador : Prof° Dr° Vagner de Alencar Arnault de Toledo.
Co-orientador: Prof° Dr° Antonio Cláudio Furlan.
Tese (doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. Universidade Estadual de Maringá.

1. *Apis mellifera*. 2. Levedo de cerveja. 3. Óleo de palma. 4. Óleo de linhaça. 5. Proteína isolada de soja. I. TÍTULO

CDD 636.082



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

**SUPLEMENTOS PROTEICOS PARA ABELHAS
AFRICANIZADAS SUBMETIDAS À PRODUÇÃO
DE GELÉIA REAL**

Autora: Maria Josiane Sereia

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

TITULAÇÃO: Doutora em Zootecnia - Área de Concentração Produção
Animal

APROVADA em 29 de maio de 2009.



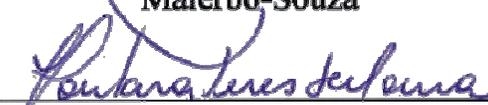
Profª Drª Regina Conceição
Garcia



Profª Drª Darcelet Terezinha
Malerbo-Souza



Profª Drª Maria Cláudia Colla
Ruvolo Takasusuki



Profª Drª Lucimar Pontara Peres
de Moura



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

A

Deus, incondicionalmente a ELE.

À

minha mãe **Maria Jacy Campesi**, por estar sempre comigo.

Aos

meus filhos, **André Francisco Sereia, Ana Luíza Sereia e Amanda Raíssa Sereia**,
pela paciência, amor e presença em minha vida.

Ao

meu esposo, **Donizete de Jesus Sereia**, pela ajuda e carinho.

DEDICO...

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual de Maringá e a Universidade Tecnológica Federal do Paraná, que forneceram estrutura física e pessoal para que este trabalho fosse realizado.

Ao **Prof. Dr. Vagner de Alencar Arnaut de Toledo**, pela orientação e ensinamentos durante o tempo que trabalhamos juntos.

Ao **Prof. Dr. Antonio Cláudio Furlan**, pela orientação nos momentos que precisei.

À **Angela Kwiatkowski**, pela amizade e auxílio fundamental na realização das análises dos dados.

À **Patrícia Faquinello e à Fabiana Martins Costa Maia**, grandes amigas, que pude contar em todos os momentos.

Ao funcionário da FEI-UEM, **Roberto Alvarez**, pela amizade e auxílio prestado na realização do trabalho a campo.

Aos alunos **Leonardo Romanine e Marcos Vieira** que ofertaram auxílio fundamental na realização das análises laboratoriais.

E a tantos outros que contribuíram de forma direta ou indireta na realização deste trabalho.

HOMENAGEM PÓSTUMA

Amigo Celso Aparecido Gandolfo!
Pouco tempo tive para te falar sobre a vida
Mas lembro-me do teu sorriso e da tua alegria
Que ainda contagia, quem feliz ao teu lado esteve
Na harmonia da voz e dos gestos que espalhavam pelo ar tanta beleza e paz
Por encontrar em ti a suprema bondade e profissionalismo
Amigo! Como dói não tê-lo agora, e te oferecer o meu abraço
E a minha gratidão por toda ajuda prestada
Partiste como um guerreiro pois em ti jaz a vitória,
Mas deixaste conosco um grande exemplo e um vazio tão grande
E uma saudade tão imensa pela falta de um grande companheiro e amigo!
Talvez lágrimas, talvez tristeza, quem sabe o teu descanso,
Mas jamais o teu esquecimento pois até tua ausência é como luz
Fizeste a vontade de Deus, pois na nossa ainda estaria aqui
Para muitos, tu foste o melhor modelo, e um eterno companheiro
E a tristeza que fica, torna-se maior a cada minuto que passa
Em cada palavra engasgada,
A cada lembrança, despedaçada
Em cada local da Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Que tu com tanto amor ajudaste a construir
Mas esteja onde estiver, olhe por nós e supre-nos a tua falta
Para que a tua ausência, não faça com que o sentido da vida se perca
Ao contrário, nos ajude com mais força a prosseguir
E continuar a construir o seu sonho
Hoje tenho vontade de te agradecer, gritar
E dizer que sinto muito tua ausência

Sei que já é tarde, agora o teu corpo dorme

Tua alma já partiu

E tu, dentro do tempo, como sempre

Sorrindo e desejando-nos boa sorte!

E nunca deixando-nos desistir

Pedindo para que sonhássemos contigo!

Por isso, sem ter mais como agradecer...

Hoje, dedico a ti minha vitória

Por ter sido este grande exemplo de homem e amigo

Diretor do Campus, da Universidade Tecnológica Federal Paraná de Campo Mourão

Professor Celso Aparecido Gandolfo falecido em 14/03/2009.

BIOGRAFIA

MARIA JOSIANE SEREIA, filha de Julio Zechetto e Maria Jacy Campesi, nasceu em São Paulo, Estado de São Paulo, no dia 06 de novembro de 1961.

Em dezembro de 1983, concluiu o curso de Zootecnia pela Universidade Estadual de Maringá – Estado do Paraná.

Desde 2003, é professora titular do Curso Superior de Tecnologia em Alimentos da Universidade Federal Tecnológica do Paraná (UTFPR) campus de Campo Mourão PR. Em agosto de 2005, obteve o título de Mestre em Zootecnia na área de concentração Produção Animal – subárea Apicultura, pela Universidade Estadual de Maringá.

Em fevereiro de 2006, ingressou no Programa de Pós-graduação em Zootecnia, em nível de Doutorado - Área de concentração: Produção Animal – subárea Apicultura, e no mês de maio de 2009 submeteu-se à banca para defesa da tese de doutorado.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE FIGURAS	xii
RESUMO	xv
ABSTRACT	xvii
I - INTRODUÇÃO GERAL	1
Referências	9
II - OBJETIVOS GERAIS	13
III - Fontes alternativas de suplementos para abelhas africanizadas submetidas à produção de geleia real	14
Resumo	14
Abstract	15
Introdução	16
Material e métodos	17
Resultados	24
Discussão	26
Referências	30
IV - Qualidade da geleia real produzida por abelhas africanizadas suplementadas	33
Resumo	33
Abstract	34
Introdução	35
Material e métodos	36
Resultados	42
Discussão	44
Referências	47

V - Longevidade de abelhas africanizadas alimentadas com diferentes suplementos proteicos	49
Resumo	49
Abstract	50
Introdução	51
Material e métodos	51
Resultados	59
Discussão	65
Referências	70
VI - Viabilidade econômica da produção de geleia real produzida por abelhas africanizadas suplementadas	72
Resumo	72
Abstract	73
Introdução	74
Material e métodos	75
Resultados	82
Discussão	84
Referências	88
VII - CONCLUSÕES GERAIS	89
VIII - ARTIGO VULGARIZADO	90

LISTA DE TABELAS

Página

Fontes alternativas de suplementos para abelhas africanizadas submetidas à produção de geleia real

Tabela 1	Grupos experimentais e número de observações para avaliação dos suplementos elaborados com óleo de linhaça e óleo de palma (SLiPa), óleo de linhaça (SLi), óleo de palma (SPa), proteína isolada de soja e levedo de cerveja (SPiLc), proteína isolada de soja (SPi), levedo de cerveja (SLc) e controle (C I e CII)	19
Tabela 2	Composição química dos ingredientes selecionados para elaboração dos suplementos	20
Tabela 3	Quantidade de ingredientes em 100 g do suplemento óleo linhaça e óleo de palma (SLiPa), suplemento óleo de linhaça (SLi), suplemento óleo de palma (SPa), suplemento proteína isolada de soja e levedo de cerveja (SPiLc), suplemento proteína isolada de soja (SPi), suplemento levedo de cerveja (SLc) e tratamentos controles (C I e C II), fornecidos às colônias de abelhas africanizadas submetidas à produção de geleia real	21
Tabela 4	Composição química calculada do suplemento óleo linhaça e óleo de palma (SLiPa), suplemento óleo de linhaça (SLi), suplemento óleo de palma (SPa), suplemento proteína isolada de soja e levedo de cerveja (SPiLc), suplemento proteína isolada (SPi), suplemento levedo de cerveja (SLc) fornecidos às colônias de abelhas africanizadas	22
Tabela 5	Valores de F com suas respectivas probabilidades (P), coeficientes de variação (CV%), médias e respectivos desvios-padrão da porcentagem de cúpulas aceitas nos sarrafos superior, médio e inferior (%) aceitação total (%), peso total de geleia real produzida por tratamento (g), quantidade de geleia real por colônia (g), quantidade de geleia real depositada por cúpula (mg), de 20 colônias de abelhas africanizadas suplementadas com óleo de palma e linhaça (SLiPa), óleo de linhaça (SLi), óleo de palma (SPa), proteína isolada de soja e levedo de cerveja (SPiLc), proteína isolada de soja (SPi), levedo de cerveja (SLc) e tratamentos-controle (C I e CII), nos dois ensaios experimentais	25

Qualidade da geleia real produzida por abelhas africanizadas suplementadas

Tabela 1	Grupos experimentais e número de repetições realizadas para avaliação da qualidade da geleia real produzida por recrias de abelhas africanizadas suplementadas com óleo de linhaça e óleo de palma (SLiPa), óleo de linhaça (SLi), óleo de palma (SPa), proteína isolada de soja e levedo de cerveja (SPiLc), proteína isolada de soja (SPi), levedo de cerveja (SLc) e controles (CI e CII)	37
Tabela 2	Quantidade de ingredientes em 100 g do suplemento óleo linhaça e óleo de palma (SLiPa), suplemento óleo de linhaça (SLi), suplemento óleo de palma (SPa), suplemento proteína isolada de soja e levedo de cerveja (SPiLc), suplemento proteína isolada de soja (SPi), suplemento levedo de cerveja (SLc) e controles (C I e C II), fornecidos às colônias de abelhas africanizadas submetidas à produção de geleia real	38
Tabela 3	Crítérios de qualidade, padrões estabelecidos e métodos de referência para análise da geleia real	41
Tabela 4	Níveis de microorganismos das amostras de geleia real analisadas (25g do produto fresco): Média dos valores e padrões estabelecidos pela legislação brasileira para: Número mais provável de coliformes a 35°C e 45°C (NMP.g ⁻¹), bolores e leveduras (UFC.g ⁻¹) e <i>Salmonella spp</i> (25g)	43
Tabela 5	Composição físico-química das amostras de geleia real analisadas (100g do produto fresco): Valor de F, Coeficientes de Variação (CV%), média dos valores, valores mínimos e máximos e padrões estabelecidos para: pH, acidez (meq.kg ⁻¹), umidade (%), açúcar redutor (%), açúcar total (%), proteínas (%), cinzas (%) e lipídeos (%) ...	44

Longevidade de abelhas africanizadas alimentadas com diferentes suplementos proteicos

Tabela 1	Tratamentos experimentais para avaliação da longevidade de abelhas africanizadas suplementadas com óleo de linhaça, óleo de palma, proteína isolada de soja e levedo de cerveja (SLiPa/PiLc), óleo de linhaça (SLi), óleo de palma (SPa), controle, proteína isolada de soja (SPi), levedo de cerveja (SLc) e pólen polifloral	52
Tabela 2	Composição química dos ingredientes selecionados para elaboração dos suplementos	53
Tabela 3	Quantidades dos ingredientes em 100 g do suplemento óleo linhaça, óleo de palma, proteína isolada de soja e levedo de cerveja (SLiPa/PiLc), suplemento óleo de linhaça (SLi), suplemento óleo de palma (SPa), controle (C), suplemento proteína isolada de soja (SPi), suplemento levedo de cerveja (SLc) e pólen polifloral	54

Tabela 4	Composição química calculada dos suplementos elaborados com óleo de linhaça (SLi), óleo de palma (SPa), proteína isolada de soja (SPi), levedo de cerveja (SLc), suplemento misto (SLiPa/PiLc), pólen e controle (C) – xarope de açúcar e água (1:1) fornecidos às abelhas africanizadas submetidas ao teste de longevidade	55
Tabela 5	Quantidade consumida (média ± desvio-padrão) de suplemento misto (SLiPa/PiLc), óleo de linhaça (SLi), óleo de palma (SPa), proteína isolada de soja (SPi), levedo de cerveja (SLc) e pólen, fornecidos às abelhas africanizadas submetidas ao teste de longevidade, da emersão até o 30º dia de vida adulta	59
Tabela 6	Quantidade consumida (média ± desvio-padrão) de suplemento misto (SLiPa/PiLc), óleo de linhaça (SLi), óleo de palma (SPa), proteína isolada de soja (SPi), levedo de cerveja (SLc), pólen e controle (sem suplemento) fornecidos simultaneamente às abelhas africanizadas submetidas ao teste de preferência, da emersão até o 30º dia de vida adulta	60
Tabela 7	Taxa de mortalidade acumulada (%) de abelhas africanizadas submetidas ao teste de longevidade, alimentadas com suplemento misto (SLiPa/PiLc), óleo de linhaça (SLi), óleo de palma (SPa), proteína isolada de soja (SPi), levedo de cerveja (SLc), pólen e controle (xarope de açúcar e água 1:1), da emersão até a morte das abelhas do tratamento-controle	62
Tabela 8	Incremento médio na longevidade (n=3) de abelhas confinadas em gaiolas e alimentadas com suplemento misto (SLiPa/PiLc), óleo de linhaça (SLi), óleo de palma (SPa), proteína isolada de soja (SPi) e levedo de cerveja (SLc), observado do 54º dia até o 76º dia do período experimental	64
Viabilidade econômica da produção de geleia real com abelhas africanizadas suplementadas		
Tabela 1	Composição química dos ingredientes selecionados para elaboração dos suplementos	77
Tabela 2	Quantidade de ingredientes em 100 g do suplemento óleo linhaça e óleo de palma (SLiPa), suplemento óleo de linhaça (SLi), suplemento óleo de palma (SPa), suplemento proteína isolada de soja e levedo de cerveja (SPiLc), suplemento proteína isolada de soja (SPi), suplemento levedo de cerveja (SLc) e controles (C I e C II), fornecidos às colônias de abelhas africanizadas submetidas à produção de geleia real	78
Tabela 3	Composição química calculada do suplemento óleo linhaça e óleo de palma (SLiPa), suplemento óleo de linhaça (SLi), suplemento óleo de palma (SPa), suplemento proteína isolada de soja e levedo de cerveja (SPiLc), suplemento proteína isolada (SPi), suplemento levedo de cerveja (SLc) fornecidos às colônias de abelhas africanizadas	79

Tabela 4	Produção total de geleia real (g), média da produção (g) e rendimento (g/g) da geleia real produzida por 20 recrias de abelhas africanizadas cada uma com 100 cúpulas transferidas (n=15) nos dois ensaios experimentais suplementadas com mistura de óleo de palma e óleo de linhaça (SLiPa), óleo de linhaça (SLi), óleo de palma (SPa), proteína isolada de soja com levedo de cerveja (SPiLc), proteína isolada de soja (SPi), levedo de cerveja (SLc) e controles (C I e C II)	83
Tabela 5	Estimativa parcial da Receita Bruta (RB), Custo Total (CT), Receita Líquida (RL), Relação Receita Bruta/Custo (RB/C) e Taxa de Retorno (TR) para produção de geleia real com suplementos elaborados com mistura de óleo de palma e linhaça (SLiPa), óleo de linhaça (SLi), óleo de palma (SPa), mistura de proteína isolada de soja e levedo de cerveja (SPiLc), proteína isolada de soja (SPi), levedo de cerveja (SLc) e controles (C I e C II)	84

LISTA DE FIGURAS

	Página
Fontes alternativas de suplementos para abelhas africanizadas submetidas à produção de geleia real	
Figura 1 Visão do interior da colônia recria – (1) favos com alimento; (2) favos com cria operculada; (3) favos com cria aberta; (4) sarrafo porta cúpulas; (5) favos vazios	18
Figura 2 Aspecto geral dos suplementos elaborados e fornecidos às abelhas africanizadas: suplemento pronto (A); tipos de suplementos fornecidos (B); suplemento embalado em porções de 75 gramas (C) ...	23
Figura 3 Geleia real produzida por abelhas africanizadas - sarrafo porta cúpulas (A); cúpulas com larvas e geleia real (B); amostras de geleia real separadas por tratamento (C)	24
Qualidade da geleia real produzida por abelhas africanizadas suplementadas	
Figura 1 Preparo das amostras de geleia real produzida por abelhas africanizadas: homogeneização das amostras parciais (A); filtração da amostra média (B); amostras de geleia real armazenadas em frízer	39
Figura 2 Aspecto geral das amostras de geleia real produzida por abelhas africanizadas suplementadas com óleo de linhaça e palma (SLiPa), óleo de linhaça (SLi), óleo de palma (SPa) e controle (C I), no primeiro ensaio	39
Longevidade de abelhas africanizadas alimentadas com diferentes suplementos proteicos	
Figura 1 Gaiola experimental com 125 abelhas emergentes, água (A); um pedaço de cera alveolada (B); xarope de açúcar e água (1:1) (C); recipiente para o fornecimento do suplemento teste (D)	56
Figura 2 Recipiente de polietileno contendo 3 g do suplemento avaliado	57

Figura 3	Sobras dos suplementos fornecidos durante a realização do teste de longevidade	57
Figura 4	Consumo médio (g) dos suplementos elaborados (n = 3), óleo de linhaça, óleo de palma, proteína isolada de soja e levedo de cerveja (SLiPa/PiLc), óleo de linhaça (SLi), óleo de palma (SPa), proteína isolada de soja (SPi), levedo de cerveja (SLc), pólen e controle (sem suplemento), fornecidos às abelhas africanizadas submetidas ao teste de longevidade, da emersão até o 30º dia de vida adulta	60
Figura 5	Consumo médio (g) dos suplementos elaborados (n = 3), óleo de linhaça, óleo de palma, proteína isolada de soja e levedo de cerveja (SLiPa/PiLc), óleo de linhaça (SLi), óleo de palma (SPa), proteína isolada de soja (SPi), levedo de cerveja (SLc), pólen e controle (xarope de açúcar e água 1:1), fornecidos simultaneamente às abelhas africanizadas de uma mesma gaiola submetidas ao teste de preferência, da emersão até o 30º dia de vida adulta	61
Figura 6	Taxa de mortalidade acumulada (n = 3) de abelhas africanizadas submetidas ao teste de longevidade, alimentadas com suplemento misto (SLiPa/PiLc), óleo de linhaça (SLi), óleo de palma (SPa), proteína isolada de soja (SPi), levedo de cerveja (SLc), pólen e controle (xarope de açúcar e água 1:1), da emersão até 53º dia de observação	62
Figura 7	Curvas de mortalidade (média de três repetições) de abelhas africanizadas confinadas em gaiolas do nascimento até 53º dia de vida adulta alimentadas com suplemento misto (SLiPa/PiLc), óleo de linhaça (SLi), óleo de palma (SPa), proteína isolada de soja (SPi), levedo de cerveja (SLc), pólen e controle (xarope de açúcar e água 1:1) da emersão até a morte do controle	63
Figura 8	Incremento na longevidade (n=3) de abelhas africanizadas confinadas em gaiolas alimentadas com suplemento misto (SLiPa/PiLc), óleo de linhaça (SLi), óleo de palma (SPa), proteína isolada de soja (SPi), levedo de cerveja (SLc), pólen e controle (sem suplemento), medido a partir do 54º dia do período experimental	65
Viabilidade econômica da produção de geleia real com abelhas africanizadas suplementadas		
Figura 1	Produção e o rendimento da geleia real de abelhas africanizadas submetidas à produção de geleia real com suplementos elaborados com óleo linhaça e óleo de palma (SLiPa), óleo de linhaça (SLi), óleo de palma (SPa), proteína isolada de soja e levedo de cerveja (SPiLc), proteína isolada de soja (SPi) e levedo de cerveja (SLc)	82

RESUMO

Foram realizados quatro estudos para avaliar fontes alternativas de suplementos para abelhas africanizadas submetidas à produção de geleia real, no setor de apicultura da Fazenda Experimental de Iguatemi, Universidade Estadual de Maringá-UEM, de dezembro de 2007 a outubro de 2008. No ensaio I, seis suplementos foram fornecidos a 20 colônias de abelhas africanizadas submetidas à produção de geleia real em sistema de recrias, com o objetivo de avaliar os efeitos dos tratamentos no número de aceitação de cúpulas transferidas, quantidade de geleia real depositada por cúpula, produção total e rendimento. Os tratamentos consistiram de uma dieta-controle, sem suplemento e outros seis suplementos elaborados com óleo de linhaça, óleo de palma, óleo de linhaça e palma, proteína isolada de soja, levedo de cerveja, proteína isolada de soja e levedo de cerveja. Foram realizadas 60.000 transferências de larvas em duas etapas experimentais que geraram 75 observações por tratamento. Houve diferença ($P < 0,05$) para aceitação de larvas nos sarrafos superior, médio e inferior e total para os suplementos óleo de linhaça e palma (20,11; 21,12; 22,23 e 63,45%) e proteína isolada de soja e levedo de cerveja (20,76; 21,32; 21,67 e 63,75%) com relação aos controles I (15,67; 16,73; 17,20 e 49,60%) e II (17,03; 17,81; 17,33 e 52,17%) respectivamente. O total de geleia real produzida foi superior ($P < 0,05$) no tratamento no qual as colônias foram alimentadas com o suplemento proteína isolada de soja e levedo de cerveja (11,68g/colônia), seguido do suplemento óleo de linhaça e palma (11,30g/colônia) e suplemento palma (9,61g/colônia), sendo estes superiores aos tratamentos-controle I (6,35g/colônia) e II (6,95g/colônia). O tipo de suplemento influenciou significativamente na aceitação de larvas transferidas e na quantidade de geleia real produzida por colônia ($P < 0,05$), sendo os suplementos proteína isolada de soja e levedo de cerveja e suplementos óleo de linhaça e palma os que proporcionaram maiores rendimentos de produção. O ensaio II foi conduzido para avaliar o efeito do fornecimento dos seis suplementos na composição físico-química e microbiológica da geleia real produzida. Não foram

observadas diferenças ($P > 0,05$) na composição físico-química e microbiológica entre os tratamentos. Os valores médios obtidos para as características físico-químicas foram: pH 3,97 ($\pm 0,03$), acidez 20,47 meq/kg ($\pm 0,58$), umidade 67,81% ($\pm 0,43$), açúcar redutor 10,68% ($\pm 1,33$), açúcar total 14,52% ($\pm 0,42$), proteína 14,21% ($\pm 0,41$), cinzas 0,82% ($\pm 0,22$) e lipídeos 3,36% ($\pm 0,41$). Todos os resultados observados atenderam aos requisitos de qualidade da geleia real estabelecidos pela Instrução Normativa nº3, de 19 de janeiro de 2001 do Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento (MAPA), não podendo ser estabelecida qualquer dependência entre a qualidade físico-química ou microbiológica da geleia real analisada e os tipos de suplementos testados. No ensaio III, para avaliar a qualidade nutricional de cinco suplementos elaborados com óleo de linhaça, palma, proteína isolada de soja, levedo de cerveja e suplemento misto foi estudada a longevidade de abelhas africanizadas confinadas em gaiolas experimentais mantidas em estufa a 32°C e 70% de umidade relativa, durante 76 dias. Foi observada dependência positiva entre longevidade e presença de ácidos graxos poli-insaturados como ingredientes dos suplementos e negativa entre o consumo dos suplementos e a redução na taxa de mortalidade das abelhas. Suplementos mistos e elaborados com levedo de cerveja mostraram-se igualmente aptos para manter um nível de longevidade superior ao observado no controle. Variações das fontes de ácidos graxos são desejáveis em suplementos destinados à nutrição de abelhas africanizadas. No ensaio IV visou-se comparar e avaliar economicamente o fornecimento dos seis suplementos às colônias em relação à rentabilidade financeira gerada aos apicultores, criando opções lucrativas para diversificação dos produtos apícolas. Suplementos elaborados com óleo de linhaça, óleo de palma, proteína isolada de soja, levedo de cerveja, mel e açúcar produziram taxa de retorno de 68,06 a 77,78% superior ao controle ($P < 0,05$), indicando que é economicamente viável suplementar recrias de abelhas africanizadas em produção de geleia real.

Palavras-chave: *Apis mellifera*, levedo de cerveja, óleo de palma, óleo de linhaça, proteína isolada de soja

ABSTRACT

Four studies were carried out in order to assess alternative supplements sources to Africanized honey bees submitted to royal jelly production, in Apiculture Section of Fazenda Experimental de Iguatemi, Universidade Estadual de Maringá-UEM, from December 2007 to October 2008. In the assay I, six supplements were supplied to 20 Africanized honey bee colonies submitted to the royal jelly production. It was evaluated the effects of the treatments according to the number of acceptances of grafted cupules, amount of royal jelly deposited per cup, total production and performance. Treatments consisted of a control diet, without any supplement addition, followed by other six supplements made with linseed oil, palm oil, linseed and palm oil, isolated soy protein, beer yeast, and a combination of isolated soy protein and beer yeast. 60000 larvae transference were carried out, which generated 75 observations per treatment. There was a difference ($P < 0.05$) in relation to total larva acceptance, in the upper, medium, lower bar and total, wood lath for supplement made with linseed oil and palm (20.11; 21.12; 22.23 and 63.45%) and isolated soy protein and beer yeast (20.76; 21.32; 21.67 and 63.75%) with relationship to the controls I (15.67; 16.73; 17.20 and 49.60%) and II (17.03; 17.81; 17.33 and 52.17%), respectively. Total royal jelly produced was superior ($P < 0.05$) in the treatment whose colonies were fed with and isolated soy protein and beer yeast (11.68g/ beehive), followed by the treatment linseed oil and palm oil (11.30g/beehive) and palm oil (9.61g/beehive), being the latter above to the controls I (6.35g/colony) and II (6.95g/colony). It was observed that the type of supplement influenced significantly the acceptance of grafted larvae and the amount of royal jelly produced per colony ($P < 0.05$), however, regarding production, supplements made with isolated soy protein and beer yeast and supplements made with linseed oil and palm oil resulted in a higher yields. The assay II was carried out to evaluate the effect of supplying six different supplements in the physiochemical and microbiological composition of royal jelly. Treatments showed no differences ($P > 0.05$) in the

physicochemical and microbiological composition. The mean values obtained were: pH 3.97 (± 0.03), acidity 20.47 meq. kg⁻¹ (± 0.58), humidity 67.81% (± 0.43), reducing sugar 10.68% (± 1.33), total sugar 14.52% (± 0.42), protein 14.21% (± 0.41), ash 0.82% (± 0.22) and lipids 3.36% (± 0.41). All results analyzed have met the demands for quality of royal jelly established by Normative Instruction number 3 from January 2001 by the Ministério da Agricultura Pecuária e do Abastecimento (MAPA), although not enabling to establish any correlation among the physicochemical or microbiological composition of the royal jelly analyzed and the types of supplement evaluated. In assay III to assess the nutritional quality of five supplements made with linseed oil, palm oil, isolated soy protein, beer yeast and mixed supplement it was studied the longevity of Africanized honey bees confined in experimental cages maintained in incubator to 32°C and 70% of relative humidity for 76 days. A positive dependence was observed between the life cycle and the presence of polyunsaturated fatty acids added to the supplement; whereas a negative dependence was observed between the consumption of supplements and the reduction in worker honey bees' mortality rate. The mixed supplements and the one added with beer yeast showed to be equally able to maintain higher longevity than the one observed in the positive control. Variations of fatty acid sources are expected and desirable in supplements used for Africanized honey bees. The aim of assay IV was to compare and to evaluate economically the six supplements with relationship to the investments with supplementation of the colonies provide profits financial yield to the beekeepers. Supplements elaborated with linseed oil, palm oil, isolated soy protein, beer yeast, honey and sugar produced internal rate of return of 68.06 to 77.78% higher than the control ($P < 0,05$), indicating that it is economically viable to supplement Africanized honey bees colonies in production of royal jelly.

Keywords: *Apis mellifera*, beer yeast, palm oil, linseed oil, isolated soy protein

I – INTRODUÇÃO GERAL

Como todos os animais, as abelhas devem consumir certos nutrientes essenciais em sua dieta (Keller *et al.*, 2005). Em condições normais, o néctar e o “honeydew” fornecem os carboidratos, os quais são convertidos em mel que é estocado nos favos e utilizado como fonte de energia para suas funções vitais; o pólen supre as exigências de aminoácidos, lipídeos, minerais e vitaminas essenciais para o desenvolvimento da sua estrutura corporal e a água cumpre papel de transporte e dissolução de substâncias, e serve de meio para várias reações químicas (Winston, 1987; Herbert Jr., 1997; Loidl e Crailsheim, 2001).

A deficiência de qualquer um destes nutrientes na dieta das abelhas compromete o desenvolvimento, manutenção e reprodução das colônias, reduzem a longevidade, favorece o estresse e o aparecimento de doenças (Standifer *et al.*, 1977). A escassez de pólen afeta a capacidade da colônia em cuidar das crias mais jovens (Singh e Singh, 1996) enquanto a falta de alimento energético diminui o estímulo para a produção de crias (Haydak, 1970).

As fontes energéticas utilizadas pelas abelhas adultas são oriundas do glicogênio estocado no corpo gorduroso e do alimento contido na vesícula melífera. No néctar, os principais carboidratos encontrados são sacarose, glicose e frutose. A sacarose, em especial, apresenta importante papel na decisão pelo recrutamento e forrageamento das fontes de néctar disponíveis (Aguilar e Briceño, 2002).

O néctar secretado pelos nectários das flores é coletado pelas operárias, conduzido até a colmeia, depositado nos favos e transformado em mel operculado, tão logo a sua umidade seja reduzida abaixo de 20% (Winston, 1987). Segundo Moreti *et al.* (2009), nestas condições o mel apresenta em média 80,5% de açúcar redutor total.

As abelhas utilizam com maior frequência a glicose, frutose, sacarose e maltose (Standifer *et al.*, 1977). De acordo com Phillips (1927), estes açúcares representam grande valor nutricional para as abelhas e podem ser metabolizados por elas, podendo

ser utilizados com segurança em dietas, ou ainda, é prudente substituir totalmente estes carboidratos pelo fornecimento exclusivo de sacarose (Scheiner *et al.*, 2004). Standifer *et al.* (1977) observaram efeito tóxico acumulativo decrescente dos açúcares rafinose, galactose, ácido glucurônico, ácido galacturônico e ácido poligalacturônico.

O amido aparece somente no pólen e em pequena quantidade (Stanley e Linskens, 1974; Moreira e De Maria, 2001). Alguns tipos de pólen apresentam alta quantidade de amido em sua composição, a exemplo do *Zea mays*, com 22,4% (Stanley e Linskens, 1974). Segundo Phillips (1927), após ser ingerido, a hidrólise enzimática do amido é parcial e resulta em galactose, lactose, manose, rafinose, xilose, arabinose, ágar-ágar e dextrina que, dependendo da concentração na dieta, podem resultar em efeitos tóxicos para as abelhas. A atividade dessas enzimas é afetada pelas condições climáticas e variações na composição do néctar (Moreira e De Maria, 2001). Segundo Barker (1997), a toxicidade de farinhas e dextrinas algumas vezes são atribuídas a indigestibilidade e compactação que estes compostos sofrem na porção retal do trato digestório das abelhas.

Existem poucas publicações que informam sobre a capacidade das abelhas em digerir amido. Estudos realizados por Crailsheim *et al.* (1992) e Hrassnigg *et al.* (2005) indicam que a produção de enzimas depende da idade e ocupação exercida pela abelha dentro da colônia. Segundo Crailsheim e Stolberg (1989), para moléculas grandes de proteínas e carboidratos, tais como o amido, serem absorvidas pela hemolinfa, elas precisam ser degradadas em monômeros menores por ação de várias enzimas durante o processo de digestão.

Abelhas nutrizas consomem muito pólen estocado nos favos coletado e transportado para a colônia pelas forrageiras, como resultado, produzem secreção proteica conhecida como geleia real, que distribuem como alimento larval.

Abelhas forrageiras estão aptas a digerir proteínas, pela atividade de enzimas proteolíticas presentes em seu intestino médio (Moritz e Crailsheim, 1987) e, principalmente, polissacarídeos complexos e demais açúcares do pólen e néctar, por ação de enzimas que digerem carboidratos (Crailsheim, 2003) em monômeros simples. Glicose e frutose são os principais monossacarídeos encontrados no mel estocado nos favos (Hrassnigg *et al.*, 2005).

Os carboidratos são importantes no fornecimento de energia que é utilizada na síntese de matéria orgânica, contração muscular, condução de impulsos nervosos, produção de aminoácidos, produção de cera, entre outros (Standifer *et al.*, 1977).

O pólen constitui a principal fonte natural de proteínas das abelhas (Haydak, 1970). Os níveis variam de 6-28% de proteína bruta dependendo da espécie, localização e das condições climáticas (Winston, 1987). DeGroot (1953) estudou as exigências proteicas de aminoácidos das abelhas. Ele verificou que o nível ótimo de desenvolvimento das colônias ocorre quando se fornece 20% de proteína bruta. Segundo este autor, as abelhas exigem para sua nutrição os mesmos dez aminoácidos que são essenciais para os mamíferos, em níveis que vão de 1,0 a 4,5% de proteína digerível, sendo 3,0% arginina, 2,5% fenilalanina, 1,5% histidina, 4,0% isoleucina, 4,5% leucina, 3% lisina, 1,5% metionina, 3,0% treonina, 1,0 % triptofano e 4,0% valina.

Depois dos carboidratos e proteínas, os lipídeos representam o constituinte básico mais encontrado no pólen coletado pelas abelhas (Human e Nicolson, 2006). Segundo dados obtidos por Standifer (1966) e Hopkins *et al.* (1969), a quantidade de lipídeos encontrada no pólen varia entre 0,43 a 18,90%. Foi observado que, em mais de 60% das espécies de plantas examinadas, os valores encontrados variaram entre 5 a 9% (Standifer, 1966). Esta fração inclui os ácidos graxos essenciais, ésteres de ácidos graxos, e outros que desempenham papel-chave no desenvolvimento, nutrição e reprodução das abelhas (Manning, 2001).

Em estudos cromatográficos realizados por Szczêsna (2006) em amostras de pólen proveniente de diferentes países foram identificados os seguintes ácidos graxos: mirístico (C14: 0), palmítico (C16: 0), esteárico (C18: 0), oleico (C 18:1) linoleico (C18: 2), α -linolênico (C18: 3), aracnídeo (C20: 0), behênico (C22: 0) e lignocérico (C24: 0). Os ácidos graxos de cadeia longa que predominaram foram: ácido α -linolênico (43%), seguido pelo ácido palmítico (28%) e ácido linoleico (14%).

A fração lipídica do pólen pode variar substancialmente nas diferentes espécies de plantas e quanto aos tipos e composição de ácidos graxos presentes (Todd e Bretherick, 1942; Stanley e Linskens, 1974; Roulston *et al.*, 2000) influenciando no seu valor nutricional, dependendo da fonte de origem, sazonalidade das espécies que florescem, época do ano, ocorrência de fatores ambientais adversos e/ou falta de recursos florais (Standifer *et al.*, 1977).

Em ordem decrescente destacam-se no pólen os ácidos palmítico, esteárico, oleico, linoleico, α -linolênico e mirístico (Boch, 1982). Segundo Gilbert (1967) e Keller *et al.* (2005), além de importante fonte de energia, os lipídeos são usados para síntese de reserva de gordura e glicogênio e contribuem para o aumento de produção de geleia real.

O grupo dos ácidos graxos C18 foi reportado por Hopkins *et al.* (1969), por apresentar uma fração solúvel em acetona, que determina sua ação fago-estimuladora, sendo estes ácidos os responsáveis pelo alto consumo da dieta artificial. Alguns aromas do pólen que podem atrair insetos são carregados pela fração lipídica do pólen (Singh *et al.*, 1999). O ácido graxo α -linolênico, por estar presente de forma dominante no pólen de várias espécies de plantas, desempenha papel importante no sistema planta-polinização (Szcześna, 2006). Algumas sensações gustativas carregadas pelo pólen também podem ser inibitórias para as abelhas (Boch, 1982).

Outra função relevante dos ácidos graxos cáprico, láurico, mirístico, linoleico e α -linolênico presentes no pólen está relacionada com as propriedades antimicrobianas (Feldlaufer *et al.*, 1993), e alguns são mais inibitórios que outros (Gilbert, 1967; Morris *et al.*, 1979).

No corpo das abelhas, assim como no corpo de muitos outros insetos, a fração lipídica é constituída, por ácidos graxos livres e ligados por cadeias curtas ou longas, alcoóis, mono e triacilgliceróis, esteroides e seus ésteres, fosfolipídios e muitos outros compostos (Nation, 2002). Segundo Gilby (1965), os fosfolipídios compõem 3% do total de lipídeos do corpo da abelha adulta e apresentam importante papel na integridade e função estrutural das membranas celulares dos insetos (Herbert Jr., 1997). Os demais lipídeos são importantes no desenvolvimento, nutrição e reprodução das abelhas melíferas, além de estarem envolvidos na formação do corpo gorduroso e reserva de glicogênio (Gilby, 1965; Herbert Jr., 1997).

Segundo Nation e Robinson (1968), os ácidos graxos são hidrolisados completamente nos músculos das asas por lipases em ácido palmítico. Uma molécula de ácido palmítico produz 108 moléculas de água e 131 unidades de ATP. Esta energia pode ser usada para prover o voo durante a coleta do néctar pelas abelhas forrageiras, dependendo do suprimento de carboidratos, ou ainda, pelo sistema nervoso e outros processos fisiológicos (Nation, 2002).

Pernal e Currie (2000), estudando a composição físico-química da geleia real, observaram na fração lipídica predominância do ácido palmítico (19,8%), além dos ácidos oleico, α -linolênico e miristoleico, todos com quantidade maior que 10%.

Na abelha adulta, a concentração predominante é de ácido graxo oleico (Nation e Robinson, 1968), seguido pelo linoleico, palmítico e esteárico (Manning e Harvey, 2002). Os ácidos graxos, palmítico e oleico são dominantes no corpo gorduroso das abelhas operárias adultas (60%), larvas (40%) e pupas de zangões e rainhas (58%) e,

nas larvas com seis dias de idade, os ácidos oleico e palmítico são igualmente dominantes (Nation e Robinson, 1968). Os ácidos graxos palmítico e esteárico estão presentes no sêmen das abelhas onde desempenham importante papel na reprodução (Blum *et al.*, 1967). Em ambos os casos, o ácido linoleico foi encontrado somente em traços, apesar de observar no pólen proveniente de várias espécies de abelhas, quantidade razoavelmente alta deste ácido graxo (17,4% do total dos lipídeos).

As vitaminas e os sais minerais não são considerados fatores limitantes na dieta das abelhas, sendo difícil se determinar a quantidade necessária ou a influência destes nutrientes no metabolismo das abelhas, pelo fato de serem exigidos em quantidades mínimas e estarem disponíveis facilmente nas fontes naturais de alimentos (Standifer *et al.*, 1977). Segundo Haydak (1970), é possível que sejam estocados em quantidade suficiente durante a fase imatura, podendo ser utilizado, provendo as necessidades para o crescimento do inseto adulto. Sua adição na dieta pode ser nociva (Herbert Jr., 1997), devendo-se evitar o uso de concentrados vitamínicos e minerais desenvolvidos para outras espécies de animais.

O pólen constitui a principal fonte de vitaminas para as abelhas (Haydak, 1970). Os microrganismos simbióticos do trato digestório das abelhas também podem produzir numerosas vitaminas (Herbert Jr., 1997). A importância do complexo vitamínico B: B1 (tiamina), B2 (riboflavina), PP (Ácido nicotínico), B5 (Ácido pantotênico), B6 (piridoxina), B12 (cianocobalamina), M (Ácido fólico), C (Ácido ascórbico), Colina e Inositol, para o desenvolvimento das crias e das vitaminas A, C e K no desenvolvimento e longevidade das abelhas, foi estudado por diferentes autores (Nation e Robinson, 1968; Haydak, 1970; Standifer *et al.*, 1977; Herbert Jr., 1997). De modo geral, estas pesquisas indicam que as exigências vitamínicas das abelhas adultas são supridas pelo néctar e pólen que consomem. A necessidade decresce com o tempo de vida, tendo maior importância em nível de abelhas nutrizas para uma correta secreção do alimento larval em quantidade e qualidade.

O pólen, mel, néctar e água são fontes de minerais para as abelhas. O pólen contém de 2,5 a 6,5% de minerais na matéria seca, sendo o potássio, o fósforo, o magnésio e o ferro os mais comumente encontrados (Herbert Jr., 1997). Os minerais mais frequentes no corpo das abelhas são o potássio e o fósforo e os menos frequentes são o cálcio, magnésio, sódio e ferro (Dietz, 1971; Herbert Jr., 1997).

Os sais minerais são importantes para o balanço iônico e a permeabilidade das membranas nos insetos, além de atuarem como ativador de enzimas e fazerem parte da estrutura de alguns pigmentos (Parra, 1986).

O pólen estimula o desenvolvimento de um conjunto de glândulas (glândulas hipofaringeanas e mandibulares) altamente especializadas, localizadas na cabeça da abelha, responsáveis por produzirem a geleia real, um alimento usado para alimentar as larvas das abelhas (Hrassnigg e Crailsheim, 1998). Nas abelhas jovens, as glândulas hipofaringeanas são muito desenvolvidas, apresentam formato de cachos com ácinos pluricelulares que se estendem por mais de 1 cm de comprimento e se enrolam sobre o cérebro de onde secretam uma solução aquosa rica em proteínas (Haydak, 1970). O pico de seu desenvolvimento e da produção de secreção ocorre com idade entre três e 20 dias, posteriormente as glândulas entram em fase pós-secretora com alguns sinais de regressão (Snodgrass, 1956). As glândulas mandibulares são glândulas pares, exócrinas, com função digestiva, localizadas próximas às mandíbulas e constituídas por um conjunto de células secretoras que, juntamente com as glândulas labiais e hipofaringeanas, formam o sistema de glândulas salivares. Sua secreção é rica em lipídeos (Haydak, 1970), sendo consideradas, essencialmente, glândulas produtoras de feromônio (Cruz-Landim, 1967).

Segundo Schmidt e Buchmann (1992), a geleia real é uma substância homogênea, cremosa, de cor branco-leitosa, sabor relativamente ácido (pH 3,9 – 4,1) e apresenta uma alta capacidade tamponante na região de pH entre 4 e 7 (Sauerwald *et al.*, 1998). Resultados publicados por Yang (1988) revelam que a geleia real apresenta uma composição complexa de proteínas, aminoácidos, ácidos orgânicos, esteróis, fenóis, açúcares, minerais e outras substâncias desconhecidas. A presença de compostos fenólicos confere à geleia real odor ligeiramente forte e pungente.

A geleia real tem uma densidade de aproximadamente 1,1 g/cm³, é parcialmente solúvel em água, com viscosidade que variam diretamente de acordo com o conteúdo dos compostos nitrogenados insolúveis em água e aminoácidos livres (Takenaka *et al.*, 1986), pelas contínuas atividades enzimáticas e interação entre as frações de lipídeos e proteínas.

Quanto à produção de geleia real em condições experimentais, alguns trabalhos indicam uma quantidade de 188 a 234 mg/cúpula e 1,68 a 3,96 g/coleta, para abelhas africanizadas (Mouro e Toledo, 2004; Garcia e Nogueira-Couto, 2005; Toledo e Mouro, 2005).

A distribuição desta secreção dentro da colônia depende da casta. Abelha operária recebe geleia real somente durante três dias da fase larval e depois recebe uma substância similar, porém, com menor conteúdo em alguns compostos. Larva de rainha recebe, principalmente, secreções das glândulas mandibulares e hipofaríngeas durante os três primeiros dias de alimentação e a proporção de secreção mandibular e hipofaríngea é de 1:1 nos dois últimos dias de alimentação, o que resulta em uma abelha de tamanho e tempo de sobrevivência maiores. Em contraste, o alimento da larva de operária contém uma proporção de 2:9:3 de secreções das glândulas mandibulares, hipofaríngeas e pólen respectivamente, em média durante os cinco primeiros dias de alimentação larval. Isto resulta em menor nível de hormônio juvenil entre o 3º e o 5º dia larval da abelha operária, e conseqüentemente, a diferenciação em operária (Winston, 1987).

Vários estudos para avaliar a composição físico-química da geleia real já foram realizados com o objetivo de esclarecer a complexidade desta substância. As primeiras avaliações foram realizadas por Rembold (1983) e Winston (1987). Estes autores compararam a composição físico-química da geleia real para nutrição de larvas de abelhas operárias, zangões e rainhas mostraram que muitos compostos são similares na nutrição das duas castas. Porém, existem diferenças no conteúdo de aminoácidos, nucleotídeos e vitaminas que têm um papel decisivo no desenvolvimento das castas. Segundo estes autores, a geleia real de operária apresenta alto conteúdo de frutose e glicose e é diferente, em particular, entre as proporções de muitos dos ácidos graxos presentes.

Segundo Barker *et al.* (1959), os ácidos graxos encontrados na geleia real são na maior parte constituídos de 8 a 11 átomos de carbono tais como o ácido 10-hidróxi-2-decenoico (10-HDA) e o 10-hidroxidecanoico.

A concentração de vitaminas é alta, especialmente as do complexo B (B1, B2, B3, B6), vitaminas PP, E, inositol, ácido fólico e pequenas quantidades de vitaminas C e D e uma grande variedade de sais minerais: Potássio (K), Sódio (Na), Magnésio (Mg), Cálcio (Ca), Zinco (Zn), Ferro (Fe), Cobre (Cu), Cromo (Cr), Chumbo (Pb), Selênio (S), Lítio (Li), Cobalto (Co) e Níquel (Ni) (Serra-Bonvehi, 1991).

Em análises cromatográficas realizadas por Garcia-Amoedo (1999), não foi observada a presença das vitaminas lipossolúveis (A e E), beta-caroteno (pró-vitamina A), tiamina (vitamina B1), mas foi quantificada a riboflavina (B2- 20,35 a 171,00 ng/g) e piridoxina (B6- 407,90 a 2187,70 ng/g).

Segundo Bonomi *et al.* (1986), o valor nutricional da geleia real está relacionado com a presença de diferentes compostos biologicamente ativos:

- o ácido 10-HDA está presente numa concentração entre 1,4 a 6% e tem sido usado como um indicador da qualidade ou frescor da geleia real. Este ácido é considerado o principal componente da fração lipídica do pólen por apresentar ação antibiótica contra bactérias, fungos e vírus (Blum *et al.*, 1967; Garcia-Amoedo, 1999);

- alta frequência de moléculas simples nativas (vitaminas, ácidos nucleicos, ácidos graxos poli-insaturados livres e aminoácidos essenciais);

- material proteico ativo como as gamaglobulinas, que aumentam o nível de anticorpos no sangue e insulinoídes, substâncias estruturalmente semelhantes à insulina que reduzem o nível de glicose do sangue (Fujiwara *et al.*, 1990);

- acetilcolina que melhora a saúde do cérebro, aumentando o fluxo sanguíneo e diminuindo a pressão, melhorando o raciocínio e a memória, hormônios esteroides (estradiol, progesterona e testosterona) que atuam reduzindo os efeitos causados pela síndrome do climatério feminino ou masculino;

- flavonoides originados do pólen e da própolis com ação antioxidante.

REFERÊNCIAS

- AGUILAR, I, BRICEÑO, D (2002) Sounds in *Melipona costaricensis* (Apidae: Meliponini): effect of sugar concentration and nectar source distance. *Apidologie* 33: 375-388.
- BARKER, S A; FOSTER, A B; LAMB, D C; HODGSON, N (1959) Identification of 10-hydroxy-delta 2-decenoic acid in royal jelly. *Nature* 183 (4666): 996-997.
- BARKER, R J (1997) Considerations in selecting sugars for feeding to honey bees. *American Bee Journal* 117: 76-77.
- BLUM, M S; BAUGARNER, J E; TAUBER, S (1967) Composition and possible significance of fatty acids in lipid classes of honeybee serum. *Journal of Insect Physiology* 13: 1301-1308.
- BOCH, R (1982) Relative attractiveness of different pollens to honeybees when foraging in a flight room and when fed in the hive. *Journal of Apicultural Research* 21: 104-106.
- BONOMI, A; MARLETTO, F; LUCCELLI, L; ANGHINETTI A; BONOMI A; SABBIONI, A (1986) Composizione chimico-bromatologica della gelatina reale in rapporto alla flora nettarifera e pollinifera. *Science Alimentary* 15: 53-62.
- CRAILSHEIM, K.; STOLBERG, E. (1989) Influence of diet, age and colony condition upon intestinal proteolytic activity and size of the hypopharyngeal glands in the honeybee (*Apis mellifera* L.). *Journal of Insect Physiology* 35: 595-602.
- 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: 409-419.
- CRAILSHEIM, K (2003) Worker bees (*Apis mellifera* L.) are able to utilize starch as fuel for flight while drones are not. In *38th Beekeeping Congress*, Apimondia, 24-29 August 2003, Ljubljana, Slovenia.
- CRUZ-LANDIM C (1967) Estudo comparativo de algumas glândulas das abelhas (Hymenoptera, Apoidea) e respectivas implicações evolutivas. *Arquivos de Zoologia*. 15(3): 177-290.
- DEGROOT (1953) Protein and amino acid requirements of the honey bee. *Physiologia Comparata et Oecologia* 3: 197-285.
- DIETZ, A (1971) Changes with age in some mineral constituents of worker honey bees. Phosphorus, potassium, calcium, magnesium, sodium and iron. *Journal of The Georgia Entomological Society* 6: 54-57.
- FELDLAUFER, M F; LUSBY, W R; KNOX, D A; SHIMANUKI, H (1993) Isolation and identification of linoleic acid as an antimicrobial agent from the chalkbrood fungus *Ascosphaera apis*. *Apidologie* 24: 89-94.

- FUJIWARA, S, IMAI, J, FUJIWARA, M, YAESHIMA, T, KAWASCHIMA, T, KOBAYASHI, K (1990) A potent antibacterial protein in royal jelly. *Journal of Biological Chemistry* 265(19): 11333-11337.
- GARCIA-AMOEDO, L H (1999) Geleia real: análises físicoquímicas e químicas úteis para caracterização e detecção da autenticidade ou adulteração do produto. Tese, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo. 60pp.
- 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.
- GILBERT, L I (1967) Lipid metabolism and function in insects. *Advances in Insect Physiology* 4: 69-211.
- GILBY, A R (1965) Lipids and their metabolism in insects. *Annual Review of Entomology* 10: 141-160.
- HAYDAK, M H (1970) Honey bee nutrition. *Annual Review of Entomology* 15: 143-156.
- HERBERT JR., E W (1997) Honey bee nutrition. In Graham, J M (ed) *The hive and the honey bee*. Dadant and Sons; Hamilton, Illinois, USA. pp 197-233.
- HOPKINS, C Y; JEVANS, A W; BOCH, R (1969) Occurrence of a novel cis,cis,cis-octadeca-3,9,12-trienoic (Z,Z,Z-octadeca-3,9,12-trienoic) acid in *Chrysanthemum* (tanacetum) zawadskii herb. (Compositae) seed oil. *Canadian Journal of Biochemistry* 47 (4): 433-436.
- HUMAN, H; NICOLSON, S W (2006) Nutritional content of fresh, bee-collected and stored pollen of *Aloe greatheadii* var. *Davyana* (Asphodelaceae). *Phytochemistry* 67: 468-492.
- HRASSNIGG, N; CRAILSHEIM, K (1998) The influence of brood on the pollen consumption of worker bees (*Apis mellifera* L.). *Journal of Insect Physiology* 44: 393-404.
- HRASSNIGG, N; BRODSCHNEIDER, R; FLEISCHMANN, P H; CRAILSHEIM, K (2005) Unlike nectar foragers, honeybee drones (*Apis mellifera*) are not able to utilize starch as fuel for flight. *Apidologie* 36: 547-557.
- KELLER, I; FLURI, P; IMDORF, A (2005) Pollen nutrition and colony development in honey bees: part I. *Bee World* 86 (1): 3-10.
- LOIDL, A; CRAILSHEIM, K (2001) Free fatty acids digested from pollen and triolein in the honeybee (*Apis mellifera carnica* Pollmann) midgut. *Journal of Comparative Physiology* 171: 313-319.
- MANNING, R (2001) Fatty acids in pollen: a review of their importance for honeybees. *Bee World* 82: 60-75.
- MANNING, R; HARVEY, M (2002) Fatty acids in honeybee-collected pollens from six endemic Western Australian eucalypts and the possible significance to the Western Australian beekeeping industry. *Australian Journal of Experimental Agriculture* (42): 217-223.
- MOREIRA, R F A; DE MARIA C A B (2001) Glicídios no mel. *Química nova*, 24 (4): 516-525.
- MORETI, A C C C; SODRE, G S; MARCHINI, L C; OTSUK, I P (2009) Physicochemical characteristics of *Apis mellifera* L. honey samples from the state of Ceará, Brazil. *Ciência e Agrotecnologia* 33 (1): 191-199.
- MORITZ, B; CRAILSHEIM, K (1987) Physiology of protein digestion in the midgut of the honeybee (*Apis mellifera* L.). *Journal of Insect Physiology* 33: 923-931.

- MORRIS, J A; KHETTRY, A; SEITZ, E W (1979) Antimicrobial activity of aroma chemicals and essential oils. *Journal of the American Oil Chemists Society* 56: 595-603.
- MOURO, G F; TOLEDO, V A A (2004) Evaluation of *Apis mellifera* Carniolan and Africanized honey bees in royal jelly production. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 47 (3): 469-476.
- NATION, J L; ROBINSON, F A (1968) Brood rearing by caged honey bees in response to inositol and certain pollen fractions in their diet. *Annals of the Entomological Society of America* 61 (2): 514-517.
- NATION, J L (2002) *Insect physiology and biochemistry*. CRC Press, Boca Raton; Florida, USA. 485 pp.
- PARRA, J R P (1986) Consumo e utilização de alimentos por insetos. In Panizzi, A R; Parra, J R P *Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas*. Manole; CNPq, pp 9-65.
- PERNAL, S F; CURRIE, R W (2000) Pollen quality of fresh and 1-year-old single pollen diets for worker honey bees (*Apis mellifera* L.). *Apidologie* (31): 387-409.
- PHILLIPS, E F (1927) The utilization of carbohydrates by honeybees. *Journal of Agricultural Research* 35: 385-428.
- REMBOLD, H (1983) Royal jelly. In Ruttner, F. (ed). *Queen rearing biological basics and technical instruction*. Bucharest; Apimondia, pp 31-41.
- ROULSTON, T H; CANE, J H; BUCHMANN, S L (2000) What governs protein content of pollen: pollinator preferences, pollen pistil interactions, or phylogeny? *Ecological Monographs* (70): 617-643.
- SAUERWALD, N; POLSTER, J; BENGSCHE, E; NIESSEN, L; VOGEL, R F (1998) Combined antibacterial and antifungal properties of water soluble fractions of royal jelly. *Advanced Food Science* 20 (1/2): 46-52.
- SCHEINER, R; PAGE, R E; ERBER, J (2004) Sucrose responsiveness and behavioral plasticity in honey bees (*Apis mellifera*). *Apidologie* 35: 133-142.
- SCHMIDT, J O; BUCHMANN, S L (1992) Other products of the hive. In, *The hive and the honeybee*. In Graham, J M (ed) Dadant and Sons; Hamilton, Illinois, USA. pp 927-988.
- SERRA-BONVEHI, B J (1991), Study of adulteration of royal jelly with other honey bee products and water. *Produccion y Sanidad Animal* 6: 99-111.
- SINGH, S; SAINI, K; JAIN, K L (1999) Quantitative comparison of lipids in some pollens and their phagostimulatory effects in honeybees. *Journal of Apicultural Research* 38: 87-92.
- SINGH, R P; SINGH, P N (1996) Amino acid and lipid spectra of larvae of honey bee (*Apis cerana* Fabr) feeding on mustard pollen. *Apidologie* 27: 21-28.
- SNODGRASS, R E (1956). *Anatomy of the honeybee*. Comstock Publishing Associates, New York, USA. 334 pp.
- STANDIFER, L N (1966) Some lipid constituents of pollen collected by honeybees. *Journal of Apicultural Research* 5 (2): 93-98.
- STANDIFER, L N; MOELLER, F E; KAUFFELD, N M; HERBERT JR., E W; SHIMANUKI, H (1977) *Supplemental feeding of honey bee colonies*. United States Department of Agriculture; Washington, DC. 8 pp.
- STANLEY, R G; LINSKENS, H F (1974) *Pollen: biology, biochemistry, management*. Springer-Verlag; Berlin. 307 pp.
- SZCZÊSNA, T (2006) Long-chain fatty acids composition of honeybee-collected pollen. *Journal of Apicultural Research* 50 (2): 65-79.

- TOLEDO, V A A; MOURO, G F (2005) Produção de geleia real com abelhas africanizadas selecionadas cárnicas e híbridas. *Revista Brasileira de Zootecnia* 34 (6): 2085-2092.
- TAKENAKA, T; YATSUNAMI, K; ECHIGO, T (1986) Changes in quality of royal jelly during storage. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 33 (1): 1-7.
- TODD, F E; BREATHERICK, O (1942) The compositions of pollens. *Journal of Economic Entomology* (35): 312-317.
- WINSTON, M L (1987) *The biology of the honeybee*. Harvard University Press; Massachusetts, EUA. 281 pp.
- YANG, Y F (1988) *Zhongcaoyao* 19(11): 33 *apud* JIA L; ZHANG, H X; HU, Z D (1995) Separation and determination of 10-hydroxy-2-decenoic acid in royal jelly by capillar electrophoresis. *Chromatographia* 41 (9/10): 605-609.

II – OBJETIVOS GERAIS

A) Avaliar seis tipos de suplementos elaborados com óleo de linhaça, óleo de palma, mistura de óleo de linhaça e palma, proteína isolada de soja, levedo de cerveja e mistura de proteína isolada de soja e levedo de cerveja, em colônias submetidas à produção de geleia real e determinar o efeito do fornecimento destes na aceitação das larvas transferidas, quantidade de geleia real depositada por cúpula, produção total por colônia e rendimento da produção.

B) Realizar análises físico-químicas e microbiológicas de amostras de geleia real produzida e verificar possível dependência da composição físico-química ou microbiológica, com os componentes dos suplementos testados e comparar os resultados obtidos com os padrões estabelecidos pela legislação brasileira.

C) Verificar a qualidade nutricional dos suplementos elaborados, por meio da determinação do consumo, preferência, taxa de mortalidade, longevidade e incremento de longevidade apresentada por abelhas africanizadas confinadas em gaiolas.

D) Realizar estudo econômico da produção de geleia real com abelhas africanizadas suplementadas.

III – Fontes alternativas de suplementos para abelhas africanizadas submetidas à produção de geleia real

Resumo

Este estudo foi realizado para avaliar o efeito de seis suplementos elaborados com proteína isolada de soja, levedo de cerveja, mistura de proteína isolada de soja com levedo de cerveja, óleo de linhaça, óleo de palma e mistura de óleo de linhaça com óleo de palma na produção de geleia real por colônias de abelhas africanizadas. O total de geleia real produzida foi superior ($P < 0,05$) no tratamento no qual as colônias foram suplementadas com proteína isolada de soja e levedo de cerveja (11,68 g/colônia), seguido do suplemento óleo de linhaça e palma (11,30 g/colônia) e suplemento palma (9,61 g/colônia), sendo estes superiores aos tratamentos-controle I (6,35 g/colônia) e II (6,95 g/colônia). Assim, suplementos mistos são viáveis para otimizar esta atividade apícola em escala comercial.

Palavras-chave: *Apis mellifera*, levedo de cerveja, óleo de linhaça, óleo de palma, proteína isolada de soja, suplementação

III – Alternative sources of supplements in Africanized honey bees submitted to the of royal jelly production

Abstract

This study was carried out to evaluate the effect of six supplements made with soybean isolated protein, beer yeast, mixture of soybean isolated protein with beer yeast, linseed oil, palm oil and mixture of linseed oil with palm oil in the royal jelly production of Africanized honey bee colonies. Total royal jelly produced was superior ($P<0.05$) in the treatment whose colonies were fed with and isolated soy protein and beer yeast (11.68g/ beehive), followed by the treatment linseed oil and palm oil (11.30g/beehive) and palm oil (9.61g/beehive), being the latter higher than controls I (6.35g/colony) and II (6.95g/colony). Thus, mixed supplements are viable to optimize this beekeeping activity in commercial scale.

Keywords: *Apis mellifera*, beer yeast, linseed oil, palm oil, soybean isolated protein, supplementation

Introdução

As abelhas coletam da natureza néctar e pólen (Winston, 1987), para atender suas exigências nutricionais em proteínas (aminoácidos), carboidratos (açúcares), lipídeos (ácidos graxos, esteróis), vitaminas, minerais (sais) e água, os quais, em conjunto, desempenham papel essencial no desenvolvimento adequado das crias e dos indivíduos adultos incluindo, formação do exoesqueleto proteico, formação e funcionamento das glândulas, formação do corpo gorduroso e reprodução (Manning, 2001). A qualidade e a quantidade destes nutrientes na dieta das abelhas determinam o nível nutricional ótimo da colônia e, conseqüentemente, sua produtividade e longevidade (Kleinschmidt e Kondos, 1978).

Na ausência de pólen ou outros recursos alternativos, as abelhas recorrem à sua própria fonte de reserva, metabolizando tecidos de seus corpos para prolongar sua vida (Haydak, 1970; Herbert Jr., 1997). A suplementação artificial das colônias neste período evita a ocorrência de uma série de fatores indesejáveis como: desenvolvimento inadequado das glândulas hipofaringeanas e corpo gorduroso, redução da longevidade, desequilíbrio entre o número de nascimentos e mortes, redução da distância percorrida durante os voos e redução da resistência às doenças (Keller *et al.*, 2005).

A geleia real é secretada em pequena quantidade pelas glândulas hipofaringeanas e mandibulares das abelhas operárias jovens (Haydak, 1970). Para sua síntese, as abelhas exigem carboidratos, vitaminas, ácidos graxos, minerais e aminoácidos essenciais. Desta forma, sua produção sempre tem sido realizada em épocas de abundância de recursos florais. Para assegurar sua produtividade e lucro em períodos de escassez é necessária a suplementação (Pereira *et al.*, 2006), fornecendo às recrias tanto suplemento energético como proteico.

A suplementação de alimentos resulta em benefícios, pois assegura um desenvolvimento contínuo das colônias em lugares e épocas de escassez de néctar e pólen, além de prepará-las, para aproveitar melhor o fluxo de néctar (Freitas e Echazarreta, 2001).

Para atender as exigências nutricionais das abelhas submetidas à produção de geleia real, vários tipos de suplementos têm sido elaborados (Crailsheim e Stolberg, 1989; Nogueira-Couto, 1991; Abbas *et al.*, 1995; Nabors, 1996; Azevedo-Benitez, 2000; Pernal e Currie, 2000; Manning e Harvey, 2002; Toledo *et al.*, 2003; Pereira *et al.*, 2006; Avilez e Araneda, 2007).

Considerando que no Brasil, as pesquisas com alimentação apícola são recentes e que as abelhas brasileiras são fruto do cruzamento entre abelhas europeias e africanas, denominadas de africanizadas, entende-se que estas diferenças justifiquem o fato de que os resultados de algumas destas pesquisas, realizadas em outras partes do mundo, possam não contemplar adequadamente as exigências destas abelhas. Sendo assim, somente com o desenvolvimento de técnicas de produção adequadas às abelhas africanizadas, a apicultura brasileira poderá crescer e se expandir mostrando-se competitiva.

O objetivo deste estudo foi avaliar suplementos destinados à suplementação de abelhas africanizadas submetidas à produção de geleia real em sistema de recrias, para verificar os efeitos dos tratamentos na aceitação de cúpulas transferidas, quantidade de geleia real depositada por cúpula e produção total por colônia, investigando possível associação destas variáveis com os suplementos fornecidos, contribuindo para o conhecimento das exigências nutricionais das abelhas africanizadas no desempenho desta atividade apícola.

Material e métodos

Para testar os seis suplementos foram realizados dois ensaios experimentais. O primeiro entre dezembro de 2007 a fevereiro de 2008 e o segundo de março a maio de 2008. O experimento foi realizado em três etapas:

1. Preparo das colônias recrias

Foram utilizadas 20 colônias do Setor de Apicultura da Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI). Outras 15 colônias foram utilizadas para dar suporte às unidades experimentais, fornecendo pupas para manter a população de nutrizes e larvas para as transferências. Antes do início dos tratamentos foram produzidas rainhas filhas ao acaso de colônias matrizes do apiário. As rainhas virgens de mesma idade foram introduzidas nas colônias experimentais e foram fecundadas naturalmente.

As recrias foram compostas por dois ninhos sobrepostos e separados por uma tela excludora de rainha. O ninho inferior foi composto por dez favos e o superior por oito favos e um quadro porta-cúpulas com três sarrafos. As cúpulas foram aderidas aos sarrafos com cera, 33 no sarrafo superior, 33 no sarrafo médio e 34 no sarrafo inferior,

totalizando 100 cúpulas em cada unidade experimental. A distribuição dos favos no interior da recria está ilustrado na Figura 1.

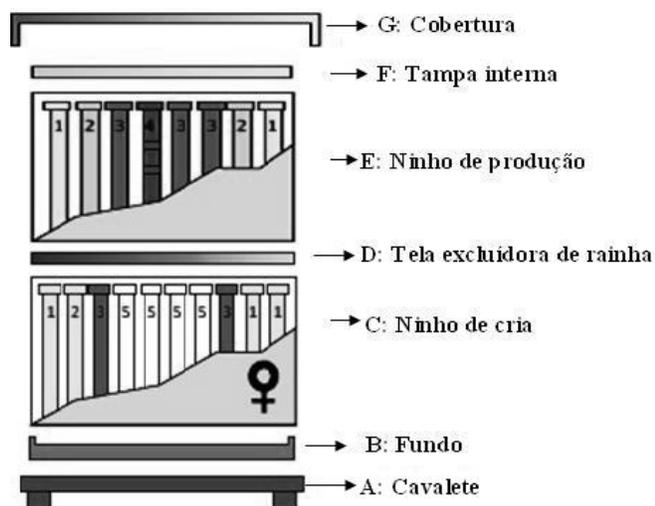


Fig. 1. Visão do interior da colônia recria – (1) favos com alimento; (2) favos com cria operculada; (3) favos com cria aberta; (4) Sarrafo porta cúpulas; (5) favos vazios

A cada dez dias as recrias foram manejadas, em que quatro favos de cria abertas eram transferidos do ninho inferior para manter no ninho superior quantidade suficiente de larvas e nutrízes que exercem atividade cuidando e alimentando as larvas transferidas, além de liberar espaço livre no ninho inferior para que a rainha efetuasse a postura.

Nos dois ensaios realizados, 20 recrias, cada uma com um sarrafo contendo 100 cúpulas, foram divididas aleatoriamente em quatro tratamentos, sendo cinco recrias (repetições) por tratamento. As recrias foram submetidas à produção de geleia real por 15 vezes consecutivas, totalizando 60.000 transferências de larvas e 75 observações por tratamento durante o período experimental.

A cada transferência 75 g de suplemento fresco foi fornecido no interior das recrias pelo alvado, exceto as recrias-controle. A cada transferência, independente do tratamento, todas as recrias foram suplementadas artificialmente com 900 mL de xarope de açúcar e água (1:1). Foram realizadas 15 transferências (observações) por recria (Tabela 1).

Tabela 1. Grupos experimentais e número de observações para avaliação dos suplementos elaborados com óleo de linhaça e óleo de palma (SLiPa), óleo de linhaça (SLi), óleo de palma (SPa), proteína isolada de soja e levedo de cerveja (SPiLc), proteína isolada de soja (SPi), levedo de cerveja (SLc) e controle (C I e CII)

TRATAMENTOS			
Grupos experimentais		Suplementos	Número de observações/recrta
Ensaio I	SLiPa	óleo de linhaça e óleo de palma	15
	SLi	óleo de linhaça	15
	SPa	óleo de palma	15
	C I	Não-suplementadas	15
Ensaio II	SPiLc	proteína isolada e levedo de cerveja	15
	SPi	proteína isolada de soja	15
	SLc	levedo de cerveja	15
	C II	Não-suplementadas	15

2. Preparo dos suplementos

Os suplementos foram elaborados utilizando dois ingredientes proteicos (proteína isolada de soja e levedo de cerveja), dois energéticos (açúcar e mel) e dois lipídicos (óleo de linhaça e palma). Para seleção das fontes foi considerado: valor energético, composição de ácidos graxos essenciais (DeGroot, 1953), teor de proteína bruta, vitaminas e sais minerais (Tabela 2).

Todos os suplementos apresentaram em sua composição proporções iguais de mel, açúcar, pólen, lecitina de soja e núcleo vitamínico. As quantidades dos ingredientes selecionados para elaboração dos suplementos estão apresentadas na Tabela 3. Para atender as exigências nutricionais das abelhas, a quantidade de cada ingrediente para elaboração dos suplementos foi definida, em função da composição química do pólen coletado pelas abelhas (Keeler *et al.*, 2005) e da composição química dos ingredientes selecionados considerando que, dentro da colônia, os suplementos seriam metabolizados juntamente com o néctar pelas nutrizes e secretado na forma de geleia real. A Tabela 4 apresenta a composição química calculada dos suplementos prontos.

Tabela 2. Composição química dos ingredientes selecionados para elaboração dos suplementos

Composição Química	Unidade em 100g	Ingredientes Selecionados								
		Proteína isolada soja	Óleo Linhaça	Óleo Palma	Levedo cerveja	Açúcar	Mel	Pólen	Lecitina de soja	Núcleo vitaminas
Água	g	4,20	0,00	0,00	8,90	0,03	17,10	16,80	0,00	0,00
Calorias	kcal	350,00	900,00	900,00	269,00	387,00	304,00	405,00	850,00	0,00
Carboidratos	g	0,00	0,00	0,00	30,40	99,90	82,40	35,00	0,20	0,00
Fibra total	g	0,00	2,40	0,00	0,00	0,00	0,20	1,10	0,00	0,00
Minerais	g	5,70	0,00	0,00	7,40	0,00	0,60	2,60	0,00	0,00
Cálcio	mg	200,00	0,00	0,00	232,00	1,00	6,00	260,00	10,00	0,00
Fósforo	mg	674,00	0,00	0,00	1597,00	0,00	4,00	430,00	36,00	0,00
Sódio	mg	1000,00	0,00	0,00	605,00	0,00	4,00	200,00	0,00	0,00
Tiamina (B1)	mg	0,30	0,00	0,00	17,60	0,00	0,01	800,00	12,00	22,30
Riboflavina (B2)	mg	0,30	0,00	0,00	6,60	0,02	0,04	1920,00	4,00	160,00
Niacina (B3)	mg	0,40	0,00	0,00	34,60	0,00	0,12	20,00	25,00	980,00
Ác. Pantototênico (B5)	mg	4,20	0,00	0,00	11,30	0,00	0,07	2600,00	0,00	323,40
Piridoxina (B6)	mg	0,80	0,00	0,00	1,60	0,00	0,02	380,00	0,00	81,70
Cianocobalamina B12)	mg	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	500,00	0,00	0,80
Ácido fólico	mg	0,10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1850,00	0,00	8,00
Biotina	mg	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,70	0,00	1,60
Vitamina A	mg	1,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	590,00	0,40	70,00
Vitamina E	mg	10,80	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	20,00	240,00	400,00
Lípídeos totais	g	0,00	100,00	100,00	1,40	0,00	0,00	6,20	40,00	0,00
Palmitico C16:0	g	0,00	0,00	43,50	44,90	0,00	0,00	28,70	11,70	0,00
Oleico C18:1	g	0,00	27,00	36,60	33,90	0,00	0,00	2,90	18,00	0,00
Linoleico C18:2	g	0,00	16,00	9,10	5,10	0,00	0,00	5,40	0,00	0,00
Linolênico 18:3	g	0,00	57,00	0,20	0,60	0,00	0,00	49,50	0,00	0,00
Proteínas	g	90,00	0,00	0,00	49,00	0,00	0,30	26,20	0,00	0,00

Fonte: USDA (2006)

Tabela 3. Quantidade de ingredientes em 100 g do suplemento óleo linhaça e óleo de palma (SLiPa), suplemento óleo de linhaça (SLi), suplemento óleo de palma (SPa), suplemento proteína isolada de soja e levedo de cerveja (SPiLc), suplemento proteína isolada de soja (SPi), suplemento levedo de cerveja (SLc) e controles (C I e C II), fornecidos às colônias de abelhas africanizadas submetidas à produção de geleia real

Componentes (g/100g) - Ensaio I									
TRATAMENTOS	Proteína isolada de soja	Óleos (grama)		Levedo Cerveja	Açúcar	Mel	Pólen	Lecitina de soja	Núcleo de vitaminas
		Linhaça	Palma						
SLiPa	17,5	4,0	4,0	17,5	40,9	10,0	5,0	1,0	0,1
SLi	17,5	8,0	-	17,5	40,9	10,0	5,0	1,0	0,1
SPa	17,5	-	8,0	17,5	40,9	10,0	5,0	1,0	0,1
Controle (C I)	-	-	-	-	50,0	-	-	-	-
Ensaio II									
SPiLc	17,5	4,0	4,0	17,5	40,9	10,0	5,0	1,0	0,1
SPi	35,0	4,0	4,0	0,0	40,9	10,0	5,0	1,0	0,1
SLc	-	4,0	4,0	35,0	40,9	10,0	5,0	1,0	0,1
Controle (C II)	-	-	-	-	50	-	-	-	-

Tabela 4. Composição química calculada do suplemento óleo linhaça e óleo de palma (SLiPa), suplemento óleo de linhaça (SLi), suplemento óleo de palma (SPa), suplemento proteína isolada de soja e levedo de cerveja (SPiLc), suplemento proteína isolada (SPi), suplemento levedo de cerveja (SLc) fornecidos às colônias de abelhas africanizadas

Composição química	Unidade em 100g	Suplementos					
		SLiPa	SLi	SPa	SPiLc	SPi	SLc
Água	g	4,9	4,9	4,9	4,9	4,0	5,7
Calorias	kcal	397,8	397,8	397,8	397,8	411,9	383,6
Carboidratos	g	56,2	56,2	56,2	56,2	50,9	61,5
Fibra total	g	0,2	0,3	0,1	0,2	0,2	0,2
Minerais	g	2,5	2,5	2,5	2,5	2,2	2,8
Cálcio	mg	89,7	89,7	89,7	89,7	84,1	95,3
Fósforo	mg	419,7	419,7	419,7	419,7	258,2	581,2
Sódio	mg	291,3	291,3	291,3	291,3	360,4	222,2
Tiamina (B1)	mg	43,3	43,3	43,3	43,3	40,2	46,3
Riboflavina (B2)	mg	97,4	97,4	97,4	97,4	96,3	98,5
Niacina (B3)	mg	8,4	8,4	8,4	8,4	2,4	14,4
Ác. Pantototênico (B5)	mg	133,0	133,0	133,0	133,0	131,8	134,3
Piridoxina (B6)	mg	19,5	19,5	19,5	19,5	19,4	19,6
Cianocobalamina (B12)	mg	25,0	25,0	25,0	25,0	25,0	25,0
Ác. fólico	mg	92,5	92,5	92,5	92,5	92,6	92,5
Biotina	mg	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Vitamina A	mg	29,7	29,7	29,7	29,7	29,9	29,6
Vitamina E	mg	5,7	5,7	5,7	5,7	7,6	3,8
Lipídeos totais	g	9,0	9,0	9,0	9,0	8,7	9,2
Palmítico C16:0	g	11,1	9,4	12,9	11,1	3,3	19,0
Oleico C18:1	g	8,8	8,4	9,2	8,8	2,9	14,7
Linoleico C18:2	g	2,2	2,4	1,9	2,2	1,3	3,1
Linolênico 18:3	g	4,9	7,1	2,6	4,9	4,8	5,0
Proteína Bruta	g	25,7	25,7	25,7	25,7	32,8	18,5

Fonte: USDA (2006)

Em todos os suplementos foram acrescentadas quantidades suficientes de ácido ascórbico para ajuste do pH a 5,1 (Marchini *et al.*, 2006), saborizantes e aromatizantes para tornar os suplementos mais palatáveis e atrativos. A Figura 2 apresenta o aspecto geral dos suplementos prontos.



Fig. 2. Aspecto geral dos suplementos elaborados e fornecidos às abelhas africanizadas: suplemento pronto (A); tipos de suplementos fornecidos (B); suplemento embalado em porções de 75 g (C)

3. Produção da geleia real

Para produção de geleia real foi utilizado o método modificado de Doolittle (1899), que consiste em transferir larvas de sua célula de origem para cúpulas comerciais de acrílico ou cera. Vinte e quatro horas antes da transferência, os quadros com sarrafos porta cúpulas foram introduzidos nas colônias para o material ficar com o mesmo cheiro da colônia e enceramento das cúpulas.

As larvas destinadas à transferência foram selecionadas de favos de crias provenientes das colônias fornecedoras de larvas e tinham menos de 36 h de vida, considerando o tamanho delas. Ao serem retiradas das colônias, eram imediatamente cobertos com pano limpo e úmido e conduzidos cuidadosamente ao laboratório, mantendo-se assim a qualidade das larvas até o término da transferência. Durante o tempo gasto para realização da transferência das larvas no laboratório foi controlada a temperatura ($34 \pm 2^\circ\text{C}$) e a umidade (50 a 60%) local. No momento da transferência cada cúpula recebeu uma gota de geleia real diluída em água destilada (1:1). As larvas provenientes das colônias fornecedoras de larvas foram transferidas cuidadosamente para as 100 cúpulas dos caixilhos de transferência.

Após 62 a 68 h da transferência de larvas, os sarrafos foram retirados das colônias. Para avaliação da aceitação e da quantidade de geleia real produzida, o número de larvas aceitas no sarrafo superior, médio, inferior e total foi contada, anotado, a cera das cúpulas foi removida, e as larvas foram retiradas com o auxílio de uma pinça, após, os sarrafos foram pesados em balança analítica. A geleia real foi extraída com um sistema de sucção a vácuo e, finalmente, os sarrafos vazios, foram pesados novamente.

A cada coleta de geleia real foi calculado o rendimento de produção, obtido da relação entre a quantidade de suplemento consumido (g) por quantidade de geleia real produzida (g), de cada colônia experimental. A geleia real foi acondicionada em frasco identificado, protegido da luz à temperatura de -20°C . A Figura 3 mostra o sarrafo porta cúpulas, cúpulas com geleia real e larvas e a geleia real retirada das colônias.

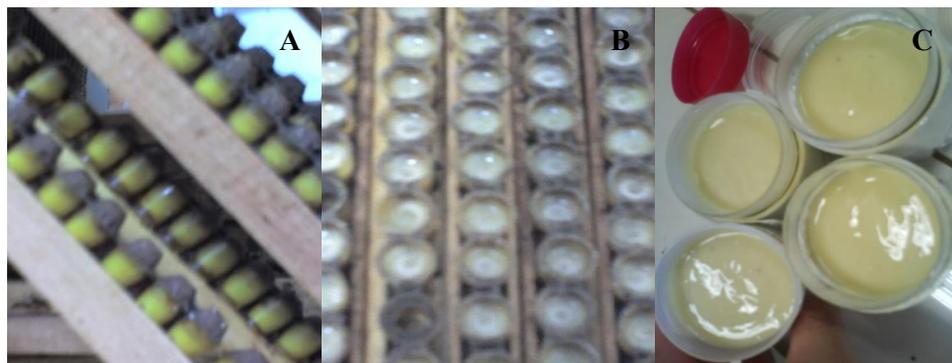


Fig. 3. Geleia real produzida por abelhas africanizadas - sarrafo porta cúpulas (A); cúpulas com larvas e geleia real (B); amostras de geleia real separadas por tratamento (C)

Análises estatísticas

As análises estatísticas foram processadas utilizando o programa Statistical Analysis System (SAS, 2008). Os dados dos efeitos dos tratamentos sobre o número de cúpulas aceitas no sarrafo superior, médio, inferior e total (%), total de aceitação (%), peso total de geleia real produzida por tratamento (g) e quantidade de geleia real depositada por cúpula (mg) foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Resultados

Os dados de consumo das recrias suplementadas foram calculados com base nas somas das quantidades fornecidas, totalizando 5625 g de suplemento por tratamento, exceto o controle.

Na Tabela 5 estão apresentados os resultados das médias e respectivos desvios-padrão do número de cúpulas aceitas no sarrafo superior, médio, inferior e total (%), peso total de geleia real produzida por tratamento (g), quantidade de geleia real depositada por cúpula (mg), valores de F com suas respectivas probabilidades (P), coeficientes de variação (CV%), de 20 colônias de abelhas africanizadas suplementadas e não-suplementadas (controle).

Tabela 5. Valores de F com suas respectivas probabilidades (P), coeficientes de variação (CV%), médias e respectivos desvios-padrão da porcentagem de cúpulas aceitas nos sarrafos superior, médio e inferior (%), aceitação total (%), peso total de geleia real produzida por tratamento (g), quantidade de geleia real por colônia (g) e quantidade de geleia real depositada por cúpula (mg), de 20 colônias de abelhas africanizadas suplementadas com óleo de palma e linhaça (SLiPa), óleo de linhaça (SLi), óleo de palma (SPa), proteína isolada de soja e levedo de cerveja (SPiLc), proteína isolada de soja (SPi), levedo de cerveja (SLc) e tratamentos-controle (C I e CII), em cada ensaio experimental

Tratamentos	Número de Cúpulas Aceitas/ Sarrafo			Aceitação Total (%)	Peso Total GR/ Tratamento (g)	Média GR/ Colônia (g)	Média de GR/ Cúpula (mg)
	Superior (%)	Médio (%)	Inferior (%)				
Ensaio I (dezembro de 2007 a fevereiro de 2008)							
Valor de F	3,59 P<0,0001	4,92 P<0,0001	8,50 P<0,0001	7,71 P<0,0001	9,83 P<0,0001	7,46 P<0,0001	3,52 P<0,0001
CV (%)	36,86	34,62	34,94	28,83	4,98	34,97	42,91
SLiPa	20,11a (± 5,95)	21,12a (± 6,37)	22,23a (± 6,32)	63,45a (± 15,86)	847,21a (± 6,87)	11,30a (± 3,68)	182,93a (± 51,03)
SLi	16,56b (± 5,79)	17,53b (± 6,09)	15,61b (± 7,48)	49,71b (± 15,69)	698,17b (± 6,87)	9,31b (± 2,85)	198,67a (± 64,66)
SPa	14,91b (± 6,76)	15,88b (± 6,80)	15,01b (± 6,83)	45,80 b (± 16,65)	630,01b (± 6,87)	8,40b (± 3,39)	199,33a (± 110,55)
C I	15,67b (± 6,87)	16,73b (± 6,93)	17,20b (± 6,36)	49,60b (± 17,43)	476,60 c (± 6,87)	6,35c (± 2,61)	136,53b (± 75,27)
Média I	16,81	17,82	17,51	52,14	663,00	8,84	179,37
Ensaio II (março a maio de 2008)							
Valor de F	2,57 P<0,0008	2,04 P<0,0097	4,88 P<0,0001	3,89 P<0,0001	7,56 P<0,0001	5,83 P<0,0001	2,74 P= 0,0003
CV (%)	34,86	32,94	36,67	28,64	4,87	33,53	42,77
SPiLc	20,76a (± 5,98)	21,32a (± 6,21)	21,67a (± 6,85)	63,75a (± 16,32)	876,06a (± 3,72)	11,68a (± 3,72)	190,65a (± 60,00)
SPi	16,81b (± 5,55)	18,03b (± 5,50)	15,48b (± 7,48)	50,32 b (± 14,97)	720,71b (± 2,75)	9,61b (± 2,75)	201,07a (± 60,00)
SLc	15,96b (± 6,85)	18,07b (± 6,38)	16,92b (± 6,50)	50,95b (± 15,52)	708,73b (± 3,29)	9,45b (± 3,29)	200,05a (± 110,00)
C II	17,03b (± 6,21)	17,81b (± 6,74)	17,33b (± 6,62)	52,17 b (± 16,73)	521,20c (± 2,76)	6,95c (± 2,61)	141,77b (± 70,00)
Média II	17,64	18,81	17,85	54,30	706,68	9,42	183,05

Médias seguidas por letras iguais nas colunas não diferem estatisticamente entre si em cada ensaio experimental ($P > 0,05$). Números entre parênteses indicam os desvios-padrão da média; GR - geleia real

Discussão

Consumo dos suplementos elaborados

A quantidade total de suplementos fornecidos e consumidos durante os seis meses do período experimental foi de 5.625 g/tratamento, que corresponde a um consumo médio de 25 g de suplemento/colônia/dia. Este valor foi bem maior que os encontrados por Couto e Nogueira-Couto (1988) fornecendo suplemento alimentar com 20, 30 e 40% de proteína e consumo de 1,43, 2,71 e 1,66 g/dia, respectivamente, Nogueira-Couto (1991) com suplemento misto de farelo de soja, farelo de trigo e levedura enriquecido com piridoxina e inositol (2,70 g/dia) e por Faquinello (2007) de 2,21 g/dia.

Neste estudo, as abelhas aceitaram os seis suplementos indistintamente, sem apresentar qualquer evidência de rejeição. Avilez e Araneda (2007), trabalhando com cinco tipos de suplementos, mostraram que as abelhas consomem adequadamente xarope, pólen e substituto lácteo, mas não consomem soja e quinoa. Estes autores atribuíram estas variações as desigualdades de digestibilidade e granulometria existentes entre os suplementos estudados.

As observações realizadas neste estudo permitem inferir que as atividades de coleta, armazenamento e consumo dos suplementos pelas abelhas foram iguais em todos os tratamentos, possivelmente por apresentarem níveis iguais de lipídeos e energia em sua composição (Tabela 4), proporcionarem fatores fagoestimulantes provenientes da adição de pólen e do mel que servem de atrativos para serem consumidos (Sanford, 1998), constituírem misturas com características sensoriais adequadas quanto ao sabor, consistência (Mills, 1981), granulometria (Freitas e Echazarreta, 2001), por apresentarem em sua composição todos os aminoácidos essenciais exigidos pelas abelhas (DeGroot, 1953) e níveis de proteína bruta próximos aos do pólen analisado por Costa *et al.* (2007) na região de realização deste estudo.

Tais fatores estimularam o consumo, promoveram digestão eficiente e utilização nutricional dos componentes presentes, o que favoreceu o desenvolvimento interno das colônias (Garcia *et al.*, 1989) e beneficiou a produção de geleia real (Crailsheim e Stolberg, 1989; Azevedo-Benitez, 2000) nos tratamentos estudados.

Efeito dos suplementos na produção de geleia real

Houve diferença ($P < 0,05$) para porcentagem de aceitação total de larvas transferidas nos tratamentos com suplementos elaborados com mistura de óleo de linhaça com óleo de

palma e de proteína isolada de soja com levedo de cerveja que apresentaram respectivamente 63,45 e 63,75% de cúpulas aceitas, em relação aos tratamentos palma, linhaça, proteína isolada, levedo de cerveja e tratamentos-controle I e II que foram de 45,80, 49,71, 50,32, 50,95, 49,60 e 52,17%, respectivamente.

A porcentagem de cúpulas aceitas no sarrafo superior, médio, inferior diferiu ($P < 0,05$) entre os tratamentos estudados. Segundo Garcia *et al.* (1989), a suplementação das colônias submetidas à produção de geleia real contribui para aumentar a aceitação de larvas transferidas.

A quantidade média de geleia real/colônia e a quantidade total de geleia real/tratamento diferiram ($P < 0,05$) entre os tratamentos. Os valores observados nos ensaios I e II, respectivamente, para os tratamentos mistos de proteína isolada com levedo de cerveja (11,68 g/colônia; 876,06 g/tratamento) e óleo de linhaça com óleo de palma (11,30 g/colônia; 847,21 g/tratamento) foram superiores aos demais. Com exceção do suplemento óleo de palma, todos os outros apresentaram médias de produção por colônia e total superiores aos tratamentos-controle I e II que foram de 6,35 g/colônia; 476,60 g/tratamento e 6,95 g/colônia; 521,20 g/tratamento, respectivamente. Estes valores representam um incremento de produção de 40,50 e 43,74% maiores para os tratamentos mistos em relação aos controles I e II, respectivamente.

Essas observações corroboram com as afirmações realizadas por Crailsheim e Stolberg (1989), Azevedo-Benitez (2000) e Faquinello (2007), que afirmaram que se não houver disponibilidade de néctar, o fornecimento de suplemento beneficia a produção de geleia real.

Segundo Gilby (1965), os ácidos graxos armazenados nos tecidos dos insetos na forma de óleos ou gorduras, com poucas exceções, são usualmente de cadeia longa, podendo ser saturados como o palmítico e esteárico ou insaturados como oleico, linoleico e α -linolênico. Trabalho publicado por Szczêsna (2006) relata alta concentração de ácidos graxos palmítico, oleico e α -linolênico no pólen coletado pelas abelhas. Estas informações sugerem que a suplementação artificial com óleo de palma e linhaça poderia proporcionar às abelhas africanizadas um metabolismo normal com várias consequências positivas, entre elas, melhora na produção de geleia real. Experimentos realizados por Manning e Harvey (2002) mostraram que a adição de ácidos graxos poli-insaturados em dietas elaboradas com pólen e farinhas favorece significativamente a aceitação e a produção de geleia real. Segundo Canavoso *et al.*

(2001), os ácidos graxos poli-insaturados são componentes essenciais para dieta das abelhas.

Os resultados observados neste trabalho corroboram com Toledo *et al.* (2003) que compararam a produção de geleia real em colônias suplementadas com ração elaborada com diferentes tipos de óleo (girassol, canola e soja) com o controle (sem inclusão de óleo). Estes autores verificaram que a produção total de geleia real foi maior para o tratamento com inclusão de óleo de girassol (com maior teor de ácidos graxos poli-insaturados), diferindo significativamente dos demais.

Perlin (1999), trabalhando com 20 recrias, comparou a produção de geleia real em colônias alimentadas com uma mistura de farinha láctea e açúcar com aquelas alimentadas com uma mistura de farinha de soja e mel. Encontrou uma produção média de 7,90 e 4,32 g de geleia real por coleta, respectivamente, e atribuiu a diferença ao efeito sensorial do suplemento oferecido.

Os resultados médios obtidos apresentados (Tabela 5) foram maiores que os observados por Van Toor e Littlejohn (1994), Mouro e Toledo (2004), Garcia e Nogueira-Couto (2005). Toledo e Mouro (2005) e Faquinello (2007), utilizando colônias e recebendo suplementos elaborados com outras fontes de óleos e proteínas, observaram valores de 33,15% a 43,40% para porcentagem de aceitação; 1,68 a 4,70 g para produção de geleia real por unidade experimental e 119,90 a 234,00 mg de geleia real por cúpula.

A quantidade média de geleia real depositada por cúpula a cada 68 h foi maior nos tratamentos com suplemento elaborado com proteína isolada de soja, levedo de cerveja, óleo de palma, e óleo de linhaça e menor nos tratamentos com suplementos elaborados com fontes mistas de óleos e proteínas. Com exceção do tratamento em que as colônias foram alimentadas com suplemento elaborado com mistura de óleo de linhaça com óleo de palma, todos os demais tratamentos estudados diferiram ($P < 0,05$) dos controles I e II (Tabela 5). Sendo assim, a porcentagem de aceitação influenciou mais diretamente a quantidade total de geleia real produzida que a quantidade de geleia real por cúpula (Tabela 5), confirmando as observações feitas por Van Toor e Littlejohn (1994).

Segundo Herbert Jr. (1997), as glândulas hipofaríngeas que garantem enzimas para secreção do alimento larval tem sua atividade favorecida pela ocorrência de maior insolação e radiação solar (Lengler, 1979). Tal fato aumentou a atividade global das abelhas e favoreceu o preenchimento das cúpulas durante o período experimental.

Estudos realizados por Faquinello (2007), no mesmo local desta pesquisa, utilizando abelhas africanizadas em sistema de minirrecrias e suplemento elaborado com 24% de proteína bruta, para estimar parâmetros genéticos, fenotípicos e componentes de (co) variância para produção de geleia real, encontrou resultados médios 1,60% e 62,31% menor que os obtidos no presente estudo para porcentagem de aceitação total de cúpulas e produção de geleia real por colônia, respectivamente e 20,77% maior, para a produção de geleia real por cúpula.

Ballesteros e Vásquez (2007), comparando a produção de geleia real em colônias de diferentes dimensões sem suplementação, encontraram para recrias com dez favos uma produção de 6,36 g por transferência, uma aceitação de 51% e uma produção média por cúpula de 208,00 mg. Estes valores possivelmente foram menores em decorrência das diferenças quanto ao tipo de sistema de criação e as variações das fontes de óleo e proteína utilizadas na elaboração dos suplementos.

Rendimento dos suplementos na produção de geleia real por colônia

Durante todo o período experimental foi observado que, na ausência de rainha ou de cria aberta (rainha virgem) causada por morte acidental ou troca proposital antes do início de cada etapa experimental, o consumo de suplemento foi praticamente nulo se comparado com recrias em condições normais de produção.

A partir dos dados de produção observados na Tabela 5, foi calculado o rendimento (relação consumo de suplemento/produção de geleia real) dos tratamentos, que foi de 6,48, 6,70, 7,87, 8,01, 8,13 e 9,01 g/g para os suplementos proteína isolada com levedo de cerveja, óleo de linhaça com palma, proteína isolada de soja, levedo de cerveja, óleo de linhaça e óleo de palma, respectivamente.

De modo geral, foi observado que embora os seis suplementos tenham sido consumidos igualmente, produziram diferentes benefícios em termos de produção de geleia real. Estas observações permitem concluir que o fornecimento de suplementos elaborados com a mistura de óleo de linhaça e palma e de proteína isolada de soja e levedo de cerveja poderiam ser recomendados para o aumento de produção de geleia real em escala comercial podendo ser importante ferramenta para a apicultura, por incrementar a produção, contribuir para melhorar a taxa de aceitação de cúpulas transferidas e para o aumento do rendimento de produção.

Referências

- ABBAS, T; ABID, H; ALI, R (1995) Black gram as a pollen substitute for honey bees. *Animal Feed Science and Technology* 54: 357-359.
- AVILEZ, J P; ARANEDA, X (2007) Estimulación de la puesta en abejas (*Apis mellifera*). *Archivos de Zootecnia* 56 (216): 885-893.
- AZEVEDO-BENITEZ, A L G (2000) Dietas proteicas sobre a produção de geleia real e parâmetros associados em colmeias de *Apis mellifera*. Tese, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- BALLESTEROS, H H; VÁSQUEZ R E (2007) Determinación de la producción de jalea real em colmenas de recría de diferentes dimensiones. *Revista Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria* 8 (1): 75-81.
- CANAVOSO, L E; JOUNI, Z E; KARNAS, K J; PENNINGTON, J E; WELLS, M A (2001) Fat metabolism in insects. *Annual Review of nutrition* 21: 23-46.
- COSTA, F M; MIRANDA, S B TOLEDO, V A A; RUVOLO-TAKASUSUKI, M C C; CHIARI, WAINER C J; HASHIMOTO, H (2007) Desenvolvimento de colônias de abelhas *Apis mellifera* africanizadas na região de Maringá, Estado do Paraná. *Acta Scientiarum Animal Sciences*, 29 (1): 101-108.
- COUTO, L A; NOGUEIRA-COUTO, R H (1988) Estudo do fornecimento de ração protéica em colmeias de *Apis mellifera* infestadas com *Varroa jacobsoni*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 23 (2): 119-122.
- CRAILSHEIM, K; STOLBERG, E (1989) Influence of diet, age and colony condition upon intestinal proteolytic activity and size of the hypopharyngeal glands in the honeybee (*Apis mellifera* L.). *Journal of Insect Physiology* 35: 595-602.
- DEGROOT, A P (1953) Protein and amino acid requirements of the honey bee (*Apis mellifera* L.). *Physiologia Comparata et Oecologia* 3: 197-285.
- DOOLITTLE, G M (1899) Mr. Doolittle's queen rearing methods. *American Bee Journal* 39: 435-436.
- FAQUINELLO, P (2007). Avaliação genética em abelhas *Apis mellifera* africanizadas para produção de geleia real. Dissertação, Universidade Estadual de Maringá, Maringá.
- FREITAS, J C; ECHAZARRETA, C (2001) Importancia de la granulometría en ingredientes para la alimentación de las abejas. In *XV Seminario Americano de Apicultura*. Tepic, Nayarit, México. pp. 54-58.
- GARCIA, R C; NOGUEIRA-COUTO R H; MALERBO-SOUZA, D T (1989) Efeitos do fornecimento de farelo de trigo sobre o desenvolvimento da glândula hipofaríngeana e produção de geleia real em colmeias de *Apis mellifera*. *Ciência Zootécnica* 4 (1): 06-08.
- GARCIA, R H 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.
- GILBY, A R (1965) Lipids and their metabolism in insects. *Annual Review of Entomology* 10: 141-160.
- HAYDAK, M H (1970) Honey bee nutrition. *Annual Review of Entomology* (15): 143-156.
- HERBERT JR, E W (1997) Honey bee nutrition. In, Graham, J M (ed). *The hive and the honey bee*. Dadant and Sons; Hamilton, Illinois, USA, pp. 197-233.

- KELLER, I P; FLURI, P; IMDORF, A (2005) Pollen nutrition and colony development in honey bees: part I. *Bee World* 86 (1): 3-10.
- KLEINSCHMIDT, G J; KONOS, A C (1978) The effect of dietary protein on colony performance. *Australian Beekeeper* 80: 251-257.
- LEGLER, S (1979) Comportamento de linhagens de abelhas (*Apis mellifera*) na região de Santa Maria (RS). Tese, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.
- MANNING, R (2001) Fatty acids in pollen: a review of their importance for honeybees. *Bee World* 82: 60-75.
- MANNING, R; HARVEY, M (2002) Fatty acids in honeybee-collected pollens from six endemic Western Australian eucalypts and the possible significance to the Western Australian beekeeping industry. *Journal of Experimental Agriculture* 42: 217-223.
- MARCHINI, L C; REIS, V D A; MORETI, A C (2006) Composição físico-química de amostras de pólen coletado por abelhas africanizadas *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) em Piracicaba, Estado de São Paulo. *Ciência Rural* 36 (3): 949-953.
- MILLS, J A (1981) Alimentación de las abejas: um importante metodo de mantenimiento para desarrollar colonias fuertes. *Apiacta XVI*, Romênia 3: 116-118.
- MOURO, G F; TOLEDO, V A A (2004) Evaluation of *Apis mellifera* Carniolan and Africanized honey bees in royal jelly production. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 47 (3): 469-476.
- NOGUEIRA-COUTO, R H (1991) Produção de alimento e cria em colmeias de *Apis mellifera* infestadas com *Varroa jacobsoni* em região canavieira. Tese, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 131pp.
- NABORS, R.A. (1996) Using mixtures of different sugars to feed bees. *American Bee Journal* 135: 785-786.
- PEREIRA, F M; FREITAS, B M; VIEIRA N J M; LOPES, M T R; BARBOSA, A L; CAMARGO, R C R. (2006) Desenvolvimento de colônias de abelhas com diferentes alimentos proteicos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 41 (1): 1-7.
- PERLIN, T A (1999) Valor nutricional de farinha de soja e mel, farinha láctea e açúcar em colmeias de abelhas (*Apis mellifera*) na produção de geleia real. *Ciencia Rural* 29 (2): 345-347.
- PERNAL, S F; CURRIE, R W (2000) Pollen quality of fresh and 1-year-old single pollen diets for worker honey bees (*Apis mellifera* L.). *Apidologie* 31: 387-409.
- SANFORD, M T (1998) Managing honey bee nutrition. In *VI Congresso Iberoamericano de Apicultura Y XII Seminario Americano de Apicultura*. Tepic, Nayarit, México.
- SAS INSTITUTE INC (2008) *System for microsoft windows*. OnlineDoc® for Windows 9.2. Cary; NC, USA.
- SZCZÊSNA, T. (2006) Long-chain fatty acids composition of honeybee-collected pollen. *Journal of Apicultural Science* 50 (2).
- TOLEDO, V A A; MELLO, A I P; SALES, P J P; COSTA, F M; RUVOLOTAKASUSUKI, M C C; FURLAN, A C (2003). Ration containing sunflower oil rise royal jelly production in *Apis mellifera* Africanized honeybee colonies. In: *XXXVIIIth Apimondia International Apicultural Congress, Ljubljana, Slovenia, 24-29 August 2003* cd1-cd4.
- TOLEDO, V A A; MOURO, G F (2005) Produção de geleia real com abelhas africanizadas selecionadas cárnicas e híbridas. *Revista Brasileira de Zootecnia* 34(6): 2085-2092.
- USDA (2006) Nutrient Database for Standard Reference. <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/>. Acessado em: 12 jan. 2007.

- 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.
- WINSTON, M L (1987) *The biology of the honey bee*. Harvard University Press; Massachusetts, EUA. 281 pp.

IV – Qualidade da geleia real produzida por abelhas africanizadas suplementadas

Resumo

Esta pesquisa foi realizada para avaliar o efeito da suplementação artificial na composição físico-química e microbiológica da geleia real produzida por abelhas africanizadas. Todos os resultados observados atenderam aos padrões de qualidade estabelecidos pela legislação brasileira. Não foi observada associação entre a composição físico-química ou microbiológica das amostras de geleia real analisadas e os tipos de suplementos avaliados.

Palavras-chave: análise microbiológica, *Apis mellifera*, composição físico-química, suplementação

IV – Quality of royal jelly produced by Africanized honey bees supplemented

Abstract

This research was carried out to evaluate the effect of artificial supplementation in the physicochemical and microbiological composition of royal jelly produced by Africanized honey bees. All results observed were according to the quality patterns established by Brazilian legislation. No dependence was observed among the physicochemical or microbiological composition of royal jelly samples analyzed and the types of supplement assessed.

Keywords: microbiological analyze, *Apis mellifera*, physicochemical composition, supplementation

Introdução

Em 1912, o cientista germânico J. Langer demonstrou conclusivamente que a geleia real é o produto da secreção de um conjunto de glândulas hipofaríngeas e mandibulares altamente especializadas, localizadas na cabeça das abelhas operárias com idade entre cinco e 15 dias (Willson, 1955; Lercker *et al.*, 1993). Esta secreção é homogênea, cremosa, de cor branco-leitosa e sabor relativamente ácido com odor forte e pungente (Lercker *et al.*, 1993).

A geleia real apresenta uma composição complexa de proteínas, aminoácidos, ácidos orgânicos, esteróis, fenóis, açúcares, minerais e outras substâncias desconhecidas (Yang, 1988). É considerada um dos produtos mais importantes para a colônia e é utilizada para alimentar as larvas de operárias até o terceiro dia, larvas de zangão até a pupação e a rainha durante todo período larval e fase adulta (Haydak, 1970; Winston 1987). Em condições normais, a quantidade de geleia real produzida por uma colônia, depende da quantidade de cria presente, uma vez que este produto não é estocado nos favos (Haydak, 1970).

Pelo seu alto conteúdo de proteína, presente na geleia real as abelhas necessitam de uma dieta rica em açúcares, vitaminas, ácidos graxos, minerais e todos os aminoácidos essenciais, os quais são obtidos principalmente do consumo de pólen, com possível adição de uma pequena quantidade de mel (Winston, 1987; Schmidt e Buchmann, 1992, Lercker *et al.*, 1993).

Ao contrário do mel, que é elaborado pelas abelhas a partir da coleta do néctar das flores, ou de outras substâncias açucaradas, a geleia real é um produto obtido unicamente da secreção glandular, portanto, sua composição físico-química pode não ser afetada pela suplementação artificial, mantendo íntegras as características do produto final. Desta forma, possivelmente não existe restrição quanto à suplementação artificial das colônias, como ocorre com o mel.

Considerando que as normas brasileiras e internacionais sobre os produtos apícolas estão cada vez mais exigentes, e que os produtos apícolas caracterizam-se por sua naturalidade, cuidados especiais devem ser tomados ao utilizar suplementação artificial, para garantir que a mesma não altere ou modifique a composição do produto final, assegurando, tanto a saúde das abelhas, quanto do consumidor.

O pólen na colmeia, não é estocado em grande quantidade como o mel (Winston, 1987), portanto, não seria possível a produção comercial de geleia real sem a suplementação artificial proteica das colônias com suplemento proteico.

Desta forma, neste estudo foi realizada análise da composição físico-química e microbiológica de amostras de geleia real obtidas de recrias suplementadas com diferentes suplementos artificiais, para avaliar a associação entre a qualidade da geleia real e os componentes dos suplementos fornecidos comparando os resultados com os padrões estabelecidos pela legislação brasileira (Brasil, 2001).

Material e métodos

Local de estudo

As análises microbiológicas e físico-químicas foram realizadas no Laboratório de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), campus de Campo Mourão - PR.

Origens das amostras de geleia real

As amostras de geleia real foram produzidas por colônias de abelhas africanizadas preparadas para essa produção. Para avaliar os seis suplementos proteicos foram realizados dois ensaios experimentais. Em cada ensaio, 20 colônias foram divididas aleatoriamente em quatro grupos de cinco recrias.

No ensaio I, foram avaliadas duas fontes de óleo em três suplementos alternativos. O primeiro consistiu de uma mistura de óleo de linhaça e óleo de palma, levedo de cerveja, proteína isolada de soja, mel, açúcar, pólen, açúcar mascavo, lecitina de soja, complexo vitamínico, ácido ascórbico, ácido glutâmico, e aroma natural de baunilha (SLiPa); nos outros dois suplementos, a mistura de óleo de linhaça e óleo de palma, foi substituída por óleo de linhaça (SLi) e óleo de palma (SPa). No tratamento-controle (C I) as colônias não foram suplementadas.

No segundo ensaio, foram avaliadas duas fontes de proteína. Os suplementos consistiram de uma mistura de: proteína isolada de soja, levedo de cerveja, óleo de linhaça e óleo de palma, mel, açúcar, pólen, açúcar mascavo, lecitina de soja, complexo vitamínico, ácido ascórbico, ácido glutâmico, e aroma natural de baunilha (SPiLc), e outros dois suplementos nos quais, a mistura de proteína isolada de soja e levedo de

cerveja foram substituídos por proteína isolada de soja (SPi) e levedo de cerveja (SLc). No tratamento-controle (C II) as colônias não foram suplementadas.

A Tabela 1 apresenta os tratamentos experimentais utilizados na produção das amostras de geleia real analisadas e a Tabela 2 apresenta as quantidades dos ingredientes selecionados para elaboração dos suplementos que foram fornecidos às abelhas africanizadas durante o período experimental.

Tabela 1. Tratamentos experimentais e número de amostras coletadas por tratamento para avaliação da qualidade da geleia real produzida por recrias de abelhas africanizadas suplementadas com óleo de linhaça e óleo de palma (SLiPa), óleo de linhaça (SLi), óleo de palma (SPa), proteína isolada de soja e levedo de cerveja (SPiLc), proteína isolada de soja (SPi), levedo de cerveja (SLc) e controle (C I e CII)

TRATAMENTOS		
Grupos experimentais	Suplementos	Número de amostras / tratamento
Ensaio I		
SLiPa	óleo de linhaça e óleo de palma	15
SLi	óleo de linhaça	15
SPa	óleo de palma	15
C I	Não-suplementadas	15
Ensaio II		
SPiLc	proteína isolada e levedo de cerveja	15
SPi	proteína isolada de soja	15
SLc	levedo de cerveja	15
C II	Não-suplementadas	15

Tabela 2. Quantidade de ingredientes em 100 g do suplemento óleo linhaça e óleo de palma (SLiPa), suplemento óleo de linhaça (SLi), suplemento óleo de palma (SPa), suplemento proteína isolada de soja e levedo de cerveja (SPiLc), suplemento proteína isolada de soja (SPi), suplemento levedo de cerveja (SLc) e controles (C I e C II), fornecidos às colônias de abelhas africanizadas submetidas à produção de geleia real

Componentes (g/100g) - Ensaio I									
TRATAMENTOS	Proteína isolada de soja	Óleos (grama)		Levedo Cerveja	Açúcar	Mel	Pólen	Lecitina de soja	Núcleo de vitaminas
		Linhaça	Palma						
SLiPa	17,5	4,0	4,0	17,5	40,9	10,0	5,0	1,0	0,1
SLi	17,5	8,0	-	17,5	40,9	10,0	5,0	1,0	0,1
SPa	17,5	-	8,0	17,5	40,9	10,0	5,0	1,0	0,1
Controle (C I)	-	-	-	-	50,0	-	-	-	-
Ensaio II									
SPiLc	17,5	4,0	4,0	17,5	40,9	10,0	5,0	1,0	0,1
SPi	35,0	4,0	4,0	0,0	40,9	10,0	5,0	1,0	0,1
SLc	-	4,0	4,0	35,0	40,9	10,0	5,0	1,0	0,1
Controle (C II)	-	-	-	-	50	-	-	-	-

Nos dois ensaios experimentais, as colônias de abelhas africanizadas foram submetidas à produção de geleia real pelo método modificado de Doolittle (1899), por 15 vezes consecutivas. Uma amostra média de cada tratamento foi preparada pela homogeneização das 15 amostras parciais (Figura 1).

As amostras foram analisadas em triplicatas, totalizando 84 observações microbiológicas e 189 observações físico-químicas. A Figura 2 apresenta o aspecto geral das amostras de geleia real homogeneizadas.



Fig. 1. Preparo das amostras de geleia real produzida por abelhas africanizadas: homogeneização das amostras coletadas (A); filtração (B); amostras de geleia real armazenadas em freezer (C)



Fig. 2. Aspecto geral das amostras de geleia real produzida por abelhas africanizadas suplementadas com com óleo de linhaça e palma (SLiPa), óleo de linhaça (SLi), óleo de palma (SPa) e controle (C I) no primeiro ensaio

Avaliação da qualidade microbiológica das amostras de geleia real

As amostras de geleia real foram estudadas para a presença de coliformes a 35°C e 45°C (UFC.g⁻¹), contagem de bolores e leveduras (UFC.g⁻¹) e pesquisa de *Salmonella spp* em 25 g das amostras, seguindo as normas internacionais do *Compendium of Methods for the Microbiology Examination of Foods* (APHA, 1992), atendendo a Instrução Normativa n° 3, de 19 de janeiro de 2001 do Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento (MAPA) (Brasil, 2001).

A partir de 25 g de geleia real, realizou-se a primeira diluição em 225 mL de água peptonada tamponada a 0,1%. As preparações das diluições decimais subsequentes foram realizadas em tubos com 9 mL do mesmo diluente até 1/1000. Para cada diluição, foram realizadas três repetições para a presença de coliformes pelo método do Número Mais Provável (NMP) em tubos contendo caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) e três repetições por plaqueamento em profundidade de 1 mL, em duplicata de cada diluição decimal, utilizando o Ágar Batata Dextrose (BDA) acidificado com ácido tartárico 10% até pH 3,5. A incubação foi feita em estufa bacteriológica, com 35-37°C por 48 h para os testes de NMP e 25°C por cinco dias para a contagem de bolores e leveduras.

A pesquisa de *Salmonella sp* foi realizada com alíquotas de 25 g das amostras de geleia real adicionadas a 225 mL de caldo lactosado, com incubação em 35°C. Após 24 h em incubação, alíquotas de 1 mL foram transferidas para 10 mL dos caldos de enriquecimento tetracionato e selenito-cistina, que foram incubados em estufa de cultura bacteriológica por 24 h a 42°C e em 35°C, respectivamente. Após o período de incubação, foram feitas estrias, com o auxílio de alça níquel-cromo nos meios seletivos Ágar Bismuto Sulfito (BSA), Ágar Brilliant Green (BGA) e Ágar *Salmonella - Shigella* (SS), cujas placas foram incubadas em 35°C/24 a 48 h. Quando presentes, colônias típicas em número de até cinco foram transferidas das placas e semeadas em tubos de Ágar Tríplice-açúcar-ferro (TSIA) que, por sua vez, foram incubados em 35°C por 24 h.

Métodos de análise para avaliação da qualidade físico-química da geleia real

Os parâmetros físico-químicos analisados foram: pH, acidez (meq. kg⁻¹), umidade (%), açúcares redutores e totais (%), proteínas (%), cinzas (%) e lipídeos (%).

Os critérios de qualidade, padrões estabelecidos e os respectivos métodos de referência indicados pela Instrução Normativa n° 3, de 19 de janeiro de 2001 do MAPA (Brasil, 2001), são apresentados na Tabela 3.

O pH fundamenta-se na determinação da concentração dos íons de hidrogênio presentes na solução de geleia real. Considerando os altos conteúdos de ácidos graxos insolúveis em água, a determinação do pH das amostras, foi realizada em meio metanólico com auxílio de um medidor de pH (HANDYLAB OX10), balança analítica (GEHAKA AG) e agitador magnético (EVLAB, 017-1), seguindo as normas analíticas da Association of Official Analytical Chemists (AOAC,1984).

Tabela 3. Critérios de qualidade, padrões estabelecidos e métodos de referência para análise da geleia real

Critério de qualidade	Legislação Brasileira	Método - Referência
pH	3,4 a 4,5	pHmetro
Índice de acidez (mgKOH.g ⁻¹)	23,0 a 53,0	Titulométrico
Umidade %	60 a 70	Gravimétrico
Proteína % (min.)	10	Micro Kjeldahl
Açúcares redutores % (min.)	10	Titulométrico
Sacarose % (max)	5	Titulométrico
Cinzas % (max)	1,5	Gravimétrico
Lipídeos totais % (min.)	3	Gravimétrico (Soxhlet)

Fonte: Brasil (2001)

A acidez foi determinada com auxílio de medidor de pH (HANDYLAB OX10), balança analítica (GEHAKA AG) e agitador magnético (EVLAB 017-1). O método baseia-se na neutralização da solução ácida da geleia real, mediante o uso de uma solução de hidróxido de potássio na presença de um indicador interno, a fenolftaleína que foi expressa em meq.kg⁻¹ (AOAC, 1984).

A umidade foi determinada por método gravimétrico tendo por base a perda de massa da amostra, por secagem em estufa com circulação de ar a 70°C ± 2°C até peso constante. A massa perdida representa o conteúdo de água da amostra (AOAC, 1984).

Para determinação da porcentagem de açúcares totais e redutores empregou-se o método de Somogy-Nelson (Somogy, 1945). Neste, a solução açucarada tratada com cloreto 2, 3, 5-trifenil tetrazólio desenvolve cor, em virtude de sua reação com os açúcares redutores que foram quantificados em espectrofotômetro, no qual a absorbância foi determinada em 550 nm.

O teor de proteína das amostras foi determinado em destilador de nitrogênio "Micro Kjeldahl" (TECNAL). O método fundamenta-se na transformação do nitrogênio da amostra em sulfato de amônio, por meio de digestão ácida e posterior destilação com

liberação da amônia, que é fixada em solução ácida e titulada. O nitrogênio fixado é determinado por titulação com ácido sulfúrico 0,001 N e por meio de um fator de correção (6,25) o resultado é transformado em proteína bruta (AOAC, 1984).

Os minerais foram determinados por calcinação das amostras em forno mufla (GEHAKA) com 550°C, até obtenção de cinzas claras de peso constante seguindo as normas da AOAC (1984). O método fundamenta-se na perda de peso do produto que está sendo incinerado pela destruição da matéria orgânica, sem decomposição dos constituintes do resíduo mineral ou perda por volatilização.

A determinação da quantidade de extrato etéreo das amostras foi realizada em determinador de Soxlet. O método baseia-se na quantificação dos óleos e gorduras presentes nas amostras extraídas com um solvente orgânico, que pode ser éter etílico anidro (AOAC, 1984).

Análises estatísticas

Os resultados foram analisados utilizando o software Statistical Analysis System (SAS, 2008). Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Resultados

Nas Tabelas 4 e 5 são apresentados os níveis de microrganismos e a composição físico-química das amostras de geleia real analisadas. Os resultados obtidos foram comparados com os padrões estabelecidos pela legislação brasileira (Brasil, 2001).

Tabela 4. Níveis de microrganismos das amostras de geleia real analisadas (25g do produto fresco): Média dos valores e padrões estabelecidos pela legislação brasileira para: Número mais provável de coliformes a 35°C e 45°C (NMP.g⁻¹), bolores e leveduras (UFC.g⁻¹) e *Salmonella spp* (25g)

*Fonte de variação	Coliformes a 35°C (NMP.g ⁻¹)	Coliformes a 45°C (NMP.g ⁻¹)	Bolores e Leveduras (UFC.g ⁻¹)	<i>Salmonella spp</i> (25g)
SLiPa	<3	<3	< 10 ¹	Ausente
SLi	<3	<3	< 10 ¹	Ausente
SPa	<3	<3	< 10 ¹	Ausente
SPiLc	<3	<3	< 10 ¹	Ausente
SPi	<3	<3	< 10 ¹	Ausente
SLc	<3	<3	< 10 ¹	Ausente
C	<3	<3	< 10 ¹	Ausente
**Média (UFC.g ⁻¹)	<3	<3	< 10 ¹	Ausente
Valores de F	ns	ns	ns	ns
***Padrão	<3 NMP.g ⁻¹	<3 NMP.g ⁻¹	100 UFC.g ⁻¹	Ausência/25g

Médias não diferem estatisticamente (P>0,05); *Fonte de variação: suplemento óleo linhaça e óleo de palma (SLiPa), suplemento óleo de linhaça (SLi), suplemento óleo de palma (SPa), suplemento proteína isolada de soja e levedo de cerveja (SPiLc), suplemento proteína isolada (SPi), suplemento levedo de cerveja (SLc), e tratamento-controle (C). **Médias de todas as amostras (intervalo de confiança de 95%);*** Padrão estabelecido pela legislação (Brasil, 2001); ns= não-significativo

Tabela 5. Composição físico-química das amostras de geleia real analisadas (100g do produto fresco): Valor de F, Coeficientes de Variação (CV%), média dos valores, valores mínimos e máximos e padrões estabelecidos para: pH, acidez (meq.kg⁻¹), umidade (%), açúcar redutor (%), açúcar total (%), proteínas (%), cinzas (%) e lipídeos (%)

*Fonte de variação	pH	Acidez (meq.kg ⁻¹)	Umidade (%)	Açúcar redutor (%)	Açúcar total (%)	Proteínas (%)	Cinzas (%)	Lipídeos (%)
Valor de F	1,50	14,30	2,40	46,46	106,1	1,43	1,8862	0,5221
P=	0,2544	0,0001	0,08148	0,0001	0,2831	0,2598	0,0001	0,7813
CV (%)	0,76	2,83	0,64	13,28	2,96	2,89	26,83	12,20
SLiPa	3,98	20,13ab	66,69	10,52a	14,96	14,24	0,66b	3,45
SLi	3,94	20,70ab	66,93	12,26d	15,05	13,80	0,81a	3,41
SPa	3,99	20,00a	67,01	9,69ab	14,38	14,35	0,79a	3,03
SPiLc	3,98	20,13ab	66,69	10,52a	14,96	14,24	0,66b	3,45
SPi	3,97	21,50c	67,08	7,94c	13,98	14,43	1,08abc	3,43
SLc	3,96	20,83bc	67,32	8,92b	14,31	14,47	0,95a	3,18
C	3,99	20,00a	67,58	10,25a	14,03	13,98	0,82a	3,59
**Média (min. e max.)	3,97 (3,92-4,02)	20,47 (20,0-21,5)	67,04 (66,23-67,81)	10,01 (7,35-12,44)	14,52 (15,14-13,96)	14,21 (13,11-14,77)	0,82 (0,39-1,15)	3,36 (2,13-5,80)
***Padrão	3,4-4,5	23-53	60-70	10,0 (min.)	15,0 (max.)	10,0 (min.)	1,5 (max)	3,0 (min.)

Médias seguidas por letras nas colunas diferem estatisticamente entre si (P<0,05); *Fonte de variação: suplemento óleo linhaça e óleo de palma (SLiPa), suplemento óleo de linhaça (SLi), suplemento óleo de palma (SPa), suplemento proteína isolada de soja e levedo de cerveja (SPiLc), suplemento proteína isolada (SPi), suplemento levedo de cerveja (SLc) e tratamento-controle (C); **Média das amostras (intervalo de confiança de 95%); *** padrão estabelecido pela legislação brasileira (Brasil, 2001)

Discussão

Qualidade microbiológica das amostras da geleia real

Não foi observada diferença significativa (intervalo de confiança de 95%) pela análise de variância (Tabela 4) na qualidade microbiológica da geleia real produzida entre as colônias de abelhas suplementadas e não-suplementadas, não sendo estabelecida correlação entre composição microbiana das amostras de geleia real analisadas e os tipos de suplementos avaliados.

Estudos que demonstram o efeito antiviral benéfico da geleia real “in vitro”, foi realizado por Krell (1996) e efeitos inibitórios sobre fungos foi desenvolvido por Blum *et al.* (1959). Segundo estes autores, a ausência de microrganismos na geleia real pura ocorre pela presença de princípios ativos com propriedades bacteriostáticas e bactericidas, especialmente sobre as formas de microrganismos não-esporulados.

A atividade inibitória da geleia real frente à *Escherichia coli*, *Salmonella spp*, *Proteus*, *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus* foi verificada por Lavie (1968) e Yatsunami e Echigo (1985). Estes autores atribuíram grande parte do efeito antibiótico da geleia real à composição de sua fração lipídica solúvel em éter, que apresenta alto conteúdo de compostos ácidos orgânicos aromáticos polares e compostos insaturados, destacando-se o ácido 10-hidróxi-2-decenoico (10-HDA). Segundo Fontana *et al.* (2004), a fração insolúvel em éter contém dois peptídeos denominados roialisina e geleína, com efeito antimicrobiano para bactérias gram-positivas, gram-negativas, fungos e leveduras.

Barker *et al.* (1959) contestaram o valor antibiótico atribuído ao ácido 10-HDA e defenderam a ideia que a resistência da geleia real observada frente a bactérias e vírus foi pela presença de flavonoides (incorporados ao produto a partir do pólen utilizado para sua preparação) e da própolis (que recobre os favos que está em contacto permanente com esta substância durante sua elaboração). Segundo Takenaka e Echigo (1980), as proteínas e os aminoácidos também contribuíram para a atividade antibacteriana e fungicida por serem amplamente usados no sistema imunológico dos insetos para defesa frente a microrganismos patogênicos (Sauerwald *et al.*, 1998).

Os resultados observados na Tabela 4 podem também estar associados ao curto período de estocagem das amostras analisadas que foi, em média de três meses, o que favoreceu a manutenção de suas propriedades antimicrobianas. Segundo Chen e Chen (1995), o ácido 10-HDA é termoestável, mas sua atividade bactericida diminui com as condições impróprias, ou longos prazos de armazenamento.

Sendo assim, a presença de substâncias ativas (ácido 10-HDA, aminoácidos, peptídeos, flavonoides) nas amostras estudadas, associado ao baixo pH do meio, constituíram meio impróprio para o desenvolvimento dos microrganismos estudados.

Qualidade físico-química das amostras da geleia real

Considerando os tratamentos estudados, não foi observada diferença significativa ($P > 0,05$) pela análise de variância, para a maioria dos parâmetros físico-químicos estudados, entre amostras de geleia real produzida por abelhas suplementadas e não-suplementadas.

Neste estudo, foi observado que, independente do tipo de suplemento fornecido, os resultados dos parâmetros analisados estão muito próximos aos limites estabelecidos pela legislação brasileira, não podendo ser estabelecida associação entre os tipos de suplementos fornecidos e os componentes da geleia real analisados.

O teor de açúcar redutor detectado nos tratamentos com óleo de palma, proteína isolada de soja e levedo de cerveja, foi inferior ao mínimo estabelecido pela legislação brasileira que é de 10%.

Os demais dados apresentados na Tabela 5 estão próximos aos observados por Crane (1990), segundo esta autora, por se tratar de uma substância secretada por glândulas específicas, a composição da geleia real pode não ser diretamente afetada, mantendo-se relativamente constante quando comparada com os valores obtidos na análise de diferentes colônias, subespécies, raças, período de produção das abelhas e pela alimentação, ao contrário dos demais produtos apícolas que são elaborados a partir da transformação de compostos coletados das plantas.

Neste estudo foram observadas grande variações na composição entre as amostras de geleia real analisadas. Outros autores, também encontraram diferenças (Melampy e Jones, 1939; Townsend e Lucas, 1940; Haydak, 1970; Palma, 1992; Schmidt e Buchmann, 1992; Lercker *et al.*, 1993; Piana, 1996; Schmitzova *et al.*, 1998; Parfitt, 1999; Bogdanov, 2004; Garcia-Amoedo e Almeida-Muradian, 2007) e atribuíram estas diferenças às condições nutricionais das colônias avaliadas, idade das nutrizas, além dos métodos laboratoriais usados para análises de seus componentes.

Segundo Queiroz *et al.* (2001), a suplementação pode ser indicada em sistemas comerciais de produção de geleia real durante o ano todo, incluindo as estações de outono e inverno, períodos entre floradas, regiões de monoculturas nas quais a quantidade de pólen é reduzida ou de baixa qualidade nutricional e regiões canavieiras onde o mel produzido possui características sensoriais com pouca aceitação comercial.

Neste estudo, a suplementação fornecida às abelhas africanizadas não modificou as características físico-químicas e microbiológicas do produto final, atendendo os requisitos de identidade e de qualidade do produto indicadas por lei (Brasil, 2001), não havendo restrição para o seu fornecimento. Considerando estes resultados, o fornecimento de suplementos às abelhas africanizadas submetidas à produção de geleia real poderia fortalecer e ajudar no desenvolvimento tecnológico da indústria apícola brasileira, melhorando o mercado nacional desta atividade apícola.

Referências

- APHA (1992) *Compendium of methods for the microbiological examination of foods (3rd edition)*. American Public Health Association; Washington, DC. 1219 pp.
- AOAC Association of official analytical chemists (1984) *official methods of analysis* (13rd edition). Arlington; Washington, DC. 850 pp.
- BARKER, S A; FOSTER, A B; LAMB, D C; HODGSON, N (1959) Identification of 10-hydroxy-d2-decenoic acid in royal jelly. *Nature* 183: 996-997.
- BLUM, M S; NOVAK, A F; TABER, S (1959) 10-hydroxy-d2-decenoic acid, an antibiotic found in royal jelly. *Science* 130: 452-453.
- BOGDANOV, S (2004) Beeswax: quality issues today. *Bee World* 85: 46-50.
- BRASIL (2001) Instrução Normativa n.3, de 19 de janeiro de 2001. Regulamentos técnicos de identidade e qualidade de apitoxina, cera de abelha, geleia real, geleia real liofilizada, pólen apícola, própolis e extrato de própolis. *Diário Oficial da União*; Brasília, DF. Seção 1 pp. 18-23.
- CHEN, C; CHEN, S (1995) Changes in protein components and storage stability of royal jelly under various conditions, *Food Chemical* 54:195– 200.
- CRANE, E (1990) The newer hive products: pollen, propolis, royal jelly, bee venom, bee brood. In Crane, E (ed). *Bees and beekeeping science, practice and world resources*. Comstock Publishing Associaes, UK. pp. 452-465.
- DOOLITTLE, G M (1899) Mr. Doolittle's queen rearing methods. *American Bee Journal* 39: 435-436.
- FONTANA, R; MENDES, M A; DE SOUZA, B M; KONNO, K (2004) *Peptides* 25(6): 919–928.
- GARCIA-AMOEDO, L H; ALMEIDA-MURADIAN, L B (2007) Physicochemical composition of pure and adulterated royal jelly. *Química Nova* 30 (2): 257-259.
- HAYDAK, M H (1970) Honey bee nutrition. *Annual Review of Entomology* 15: 143-156.
- KRELL, R (1996) *Value-added products from beekeeping*. Food and Agriculture Organization; Rome, Italy, pp. 87-113.
- LAVIE, P (1968) Propriete's antibacteriennes et action physiologique des produits de la ruche et des abeilles. *Chauvin* 3: 1-115.
- LERCKER, G; CABONI, M F; VECCHI, M A; SABATINI, A G; NANETTI, A (1993) Caratterizzazione dei principali costituenti della gelatina reale. *Apicoltura* (8): 27-37.
- MELAMPY, R M; JONES, D B (1939) Chemical composition and vitamin of royal jelly. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 41: 382-388.
- PALMA, M S (1992) Composition of freshly harvested Brazilian royal jelly: indentification of carbohydrates from the sugar fraction. *Journal of Apicultural Research* 31 (1): 42-44.
- PARFITT, K (1999) *Martindale (32nd edition)*. Pharmaceutical Press; London, UK. 1626 pp.
- PIANA, L (1996) Royal jelly, in: Krell R (Ed.), Value added products from beekeeping, *FAO Agriculture Services Bull* 124: 195–226.
- QUEIROZ, M L; BARBOSA, S B P; AZEVEDO, M (2001) Produção de geleia real e desenvolvimento de abelhas *Apis mellifera*, na região semi-árida de Pernambuco. *Revista Brasileira de Zootecnia* 30 (2): 449-453.

- SAS INSTITUTE INC (2008) *System for microsoft windows*. OnlineDoc® for Windows 9.2. Cary; NC, USA.
- SAUERWALD, N; POLSTER, J; BENGSCHE, E; NIESSEN, L; VOGEL, R F (1998) Combined antibacterial and antifungal properties of water soluble fractions of royal jelly. *Advanced Food Science* 20 (1/2): 46-52.
- SCHMIDT, J O; BUCHMANN, S L (1992) Other products of the hive. In Graham J M (ed). *The hive and the honeybee*. Dadant and Sons; Hamilton, Illinois, USA. pp. 927-988.
- SCHMITZOVA, J; KLAUDINY, J; ALBERT, S; SCHRODER W; SCHRECKENGOST, W; HANES, J; JUDOVA, J; SIMUTH, J (1998) A family of major royal jelly proteins of the honeybee *Apis mellifera* L. *Cellular and Molecular Life Sciences* 54 (9): 1020-1030.
- SOMOGY, M (1945) A new reagent for determination of sugars. *Journal of Biological Chemistry* pp. 61- 68.
- TAKENAKA, T; ECHIGO, T (1980) General chemical composition of the royal jelly. *Bulletin. of the Faculty of Agriculture* 20: 71-78.
- TOWNSEND, G F; LUCAS, C C (1940) The chemical nature of royal jelly. *Biochemical Journal* 34: 1155-1162.
- WILLSON, R B (1955) Royal jelly: a review. *American Bee Journal* 95: 15-21.
- WINSTON, M L (1987) *The biology of the honey bee*. Harvard University Press; Massachusetts, EUA. 281 pp.
- YANG, Y F (1988) *Zhongcaoyao* 19(11): 33 *apud* JIA L; ZHANG, H X; HU, Z D (1995) Separation and determination of 10-hydroxy-2-decenoic acid in royal jelly by capillar electrophoresis. *Chromatographia* 41 (9/10): 605-609.
- YATSUNAMI, K; ECHIGO, T (1985) Antibacterial activity of royal jelly. *Bulletin of the Faculty of Agriculture* 25: 13-22.

V – Longevidade de abelhas africanizadas alimentadas com diferentes suplementos proteicos

Resumo

Para avaliar a qualidade nutricional de cinco suplementos elaborados com óleo de linhaça, óleo de palma, proteína isolada de soja e levedo de cerveja, foi estimado o tempo de vida de abelhas operárias africanizadas confinadas em gaiolas experimentais, mantidas em estufa com 32°C e UR de 70% durante 76 dias. Dietas contendo mistura de ácidos graxos poli-insaturados e saturados com proteína isolada de soja e/ou levedo de cerveja foram mais consumidas e proporcionaram maior longevidade e menor taxa de mortalidade. Variações das fontes de ácidos graxos são desejáveis em suplementos destinados à nutrição de abelhas africanizadas.

Palavras-chave: *Apis mellifera*, levedo de cerveja, proteína isolada de soja, óleo de linhaça, óleo de palma, suplementos

V – Life span of Africanized honey bees fed with various proteics supplements

Abstract

To evaluate the nutritional quality of five supplements elaborated with linseed oil, palm oil, isolated soy protein and beer yeast it was performed a study about the life span of Africanized honey bees, confined into experimental cages maintained in incubator, at 32⁰C and relative humidity of 70% for 76 days. The supplements containing a mixture of polyunsaturated and saturated fatty acids with linseed oil, palm oil and/or isolated soy protein and beer yeast were frequently used, resulting in a larger life span and smaller mortality rate when compared to supplements elaborated only with sources of polyunsaturated or saturated fatty acids. Variations of fatty acid sources are expected and desirable in supplements to Africanized honey bees.

Keywords: *Apis mellifera*, beer yeast, soybean isolated protein, linseed oil, palm oil, supplementation

Introdução

As abelhas exigem, logo após sua emergência, diferentes nutrientes para completar o desenvolvimento final dos tecidos, músculos e glândulas do seu corpo (Herbert Jr., 1997). Proteínas, carboidratos, minerais, lipídeos, vitaminas e água são fornecidos principalmente pelo néctar, pólen e água (Free, 1970). O néctar constitui sua principal fonte de carboidratos e o pólen fornece todos os outros elementos nutricionais indispensáveis (Winston, 1987). Entretanto, em períodos de baixa disponibilidade de pólen, as abelhas utilizam gradualmente os recursos estocados nos favos e, quando esgotado, utilizam proteínas e lipídeos dos seus tecidos para produzir alimento larval sobrevivendo por um período curto de tempo (Haydak, 1970; Winston *et al.*, 1983).

Para estas ocasiões, vários suplementos elaborados com farinhas de soja ou peixe, levedura de cerveja e lactalbuminas (Shimanuki e Herbert, 1985) têm sido avaliados, no entanto, poucos estudos foram realizados até o momento para estimar a qualidade nutricional dos recursos empregados e, isto tem preocupado pesquisadores e apicultores há muito tempo. A avaliação de um suplemento pode ser realizada por uma variedade de medidas e observações relacionadas: produção total de mel, produção diária de cria, produtividade e longevidade individual das abelhas operárias adultas (Winston *et al.*, 1983).

De modo geral, um bom suplemento deve ser coletado e depois de ingerido deve disponibilizar os elementos nutricionais essenciais para o crescimento, desenvolvimento das colônias, longevidade e boa capacidade produtiva (Haydak, 1945; Moeller, 1967; Standifer *et al.*, 1973; Doull *et al.*, 1980; Herbert e Shimanuki, 1980; Winston *et al.*, 1983).

Dependendo da composição química do suplemento fornecido é possível que o desempenho das colônias possa variar, por isso, o objetivo deste estudo foi avaliar a qualidade nutricional de suplementos alternativos elaborados com diferentes fontes de óleo e proteína por meio da avaliação do consumo, determinação da preferência, taxa de mortalidade e tempo de vida de abelhas africanizadas confinadas em gaiolas a 32°C e 70% de umidade relativa.

Material e métodos

Cinco suplementos foram elaborados combinando-se duas fontes de óleo (linhaça e palma), duas de proteína (proteína isolada de soja e levedo de cerveja) e duas de

carboidratos (açúcar e mel). Foram feitas três repetições para cada tratamento, totalizando 21 gaiolas. Cada unidade experimental foi representada por uma gaiola com 125 operárias africanizadas recém-emergidas. A distribuição dos tratamentos é apresentada na Tabela 1.

Tabela 1. Tratamentos experimentais para avaliação da longevidade de abelhas africanizadas suplementadas com óleo de linhaça, óleo de palma, proteína isolada de soja e levedo de cerveja (SLiPa/PiLc), óleo de linhaça (SLi), óleo de palma (SPa), controle, proteína isolada de soja (SPi), levedo de cerveja (SLc) e pólen polifloral

Tratamentos	Suplementos
I- SLiPa/PiLc	Óleo de linhaça, óleo de palma, proteína isolada de soja e levedo de cerveja
II- SLi	Óleo de linhaça
III- SPa	Óleo de palma
IV- Controle	Açúcar e água (1:1) – sem suplemento protéico
V- SPi	Proteína isolada de soja
VI- SLc	Levedo de cerveja
VII- Pólen	Pólen polifloral
Numero de gaiolas	21

Elaboração dos suplementos

Os suplementos foram elaborados utilizando dois ingredientes proteicos (proteína isolada de soja e levedo de cerveja), dois energéticos (açúcar e mel) e dois lipídicos (óleo de linhaça e palma). Para seleção das fontes foi considerado: valor energético, composição de ácidos graxos essenciais, teor de proteína bruta, vitaminas e sais minerais (Tabela 2). Em todos, foram acrescentados quantidades suficientes de conservador ácido ascórbico para ajuste do pH a 5,1, saborizantes e aromatizantes para tornar os suplementos mais palatáveis e atrativos, pólen, lecitina de soja e núcleo vitamínico.

O pólen utilizado na composição dos suplementos foi obtido por meio de coletores de pólen colocados no alvado de colônias de abelhas africanizadas, no mesmo local e época de realização deste experimento. Após a coleta, foi desidratado em estufa de secagem com circulação de ar a 65°C por 24 h, moído, peneirado e acondicionado em sacos de polietileno e mantido em freezer a -20°C.

As quantidades dos ingredientes selecionados para elaboração dos suplementos estão apresentadas na Tabela 3. A Tabela 4 apresenta a composição química calculada dos suplementos prontos.

Tabela 2. Composição química dos ingredientes selecionados para elaboração dos suplementos

Composição Química	Unidade em 100g	Ingredientes Selecionados								
		Proteína Isolada Soja	Óleo de Linhaça	Óleo de Palma	Levedo de Cerveja	Açúcar	Mel	Pólen	Lecitina de soja	Núcleo de Vitaminas
Água	g	4,20	0,00	0,00	8,90	0,03	17,10	16,80	0,00	0,00
Calorias	kcal	350,00	900,00	900,00	269,00	387,00	304,00	405,00	850,00	0,00
Carboidratos	g	0,00	0,00	0,00	30,40	99,90	82,40	35,00	0,20	0,00
Fibra total	g	0,00	2,40	0,00	0,00	0,00	0,20	1,10	0,00	0,00
Minerais	g	5,70	0,00	0,00	7,40	0,00	0,60	2,60	0,00	0,00
Cálcio	mg	200,00	0,00	0,00	232,00	1,00	6,00	260,00	10,00	0,00
Fósforo	mg	674,00	0,00	0,00	1597,00	0,00	4,00	430,00	36,00	0,00
Sódio	mg	1000,00	0,00	0,00	605,00	0,00	4,00	200,00	0,00	0,00
Tiamina (B1)	mg	0,30	0,00	0,00	17,60	0,00	0,01	800,00	12,00	22,30
Riboflavina (B2)	mg	0,30	0,00	0,00	6,60	0,02	0,04	1920,00	4,00	160,00
Niacina (B3)	mg	0,40	0,00	0,00	34,60	0,00	0,12	20,00	25,00	980,00
Ác. Pantototênico (B5)	mg	4,20	0,00	0,00	11,30	0,00	0,07	2600,00	0,00	323,40
Piridoxina (B6)	mg	0,80	0,00	0,00	1,60	0,00	0,02	380,00	0,00	81,70
Cianocobalamina (B12)	mg	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	500,00	0,00	0,80
Ác. fólico	mg	0,10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1850,00	0,00	8,00
Biotina	mg	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,70	0,00	1,60
Vitamina A	mg	1,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	590,00	0,40	70,00
Vitamina E	mg	10,80	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	20,00	240,00	400,00
Lípídeos totais	g	0,00	100,00	100,00	1,40	0,00	0,00	6,20	40,00	0,00
Palmitico C16:0	g	0,00	0,00	43,50	44,90	0,00	0,00	28,70	11,70	0,00
Oleico C18:1	g	0,00	27,00	36,60	33,90	0,00	0,00	2,90	18,00	0,00
Linoleico C18:2	g	0,00	16,00	9,10	5,10	0,00	0,00	5,40	0,00	0,00
Linolênico 18:3	g	0,00	57,00	0,20	0,60	0,00	0,00	49,50	0,00	0,00
Proteínas	g	90,00	0,00	0,00	49,00	0,00	0,30	26,20	0,00	0,00

Fonte: USDA (2006)

Tabela 3. Quantidades dos ingredientes em 100 g do suplemento óleo linhaça, óleo de palma, proteína isolada de soja e levedo de cerveja (SLiPa/PiLc), suplemento óleo de linhaça (SLi), suplemento óleo de palma (SPa), controle (C), suplemento proteína isolada de soja (SPi), suplemento levedo de cerveja (SLc) e pólen polifloral

Componentes utilizados na elaboração dos suplementos (g/100g)										
TRATAMENTOS	Água	Proteína Isolada de Soja	Óleos (grama)		Levedo Cerveja	Açúcar	Mel	Pólen	Lecitina de Soja	Núcleo de Vitaminas
			Linhaça	Palma						
SLiPa/PiLc	-	17,5	4,0	4,0	17,5	40,9	10,0	5,0	1,0	0,1
SLi	-	17,5	8,0	-	17,5	40,9	10,0	5,0	1,0	0,1
SPa	-	17,5	-	8,0	17,5	40,9	10,0	5,0	1,0	0,1
C	50	-	-	-	-	50,0	-	-	-	-
SPi	-	35,0	4,0	4,0	0,0	40,9	10,0	5,0	1,0	0,1
SLc	-	-	4,0	4,0	35,0	40,9	10,0	5,0	1,0	0,1
Pólen polifloral	-	-	-	-	-	-	-	100,0	-	-

Tabela 4. Composição química calculada dos suplementos elaborados com suplemento misto (SLiPa/PiLc), óleo de linhaça (SLi), óleo de palma (SPa), proteína isolada de soja (SPi), levedo de cerveja (SLc), pólen e controle (C) – xarope de açúcar e água (1:1) fornecidos às abelhas africanizadas submetidas ao teste de longevidade

Composição	Tratamentos							
	U	SLiPa/ PiLc	SLi	SPa	SPi	SLc	Pólen	C
Água	g	4,9	4,9	4,9	4,0	5,7	16,8	50,0
Calorias	kcal	397,8	397,8	397,8	411,9	383,6	405,0	193,5
Carboidratos	g	56,2	56,2	56,2	50,9	61,5	35,0	50,0
Fibra total	g	0,2	0,3	0,1	0,2	0,2	1,1	0,0
Minerais	g	2,5	2,5	2,5	2,2	2,8	2,6	0,0
Cálcio	mg	89,7	89,7	89,7	84,1	95,3	260,0	0,0
Fósforo	mg	419,7	419,7	419,7	258,2	581,2	430,0	0,5
Sódio	mg	291,3	291,3	291,3	360,4	222,2	200,0	0,0
Vitamina B1	mg	43,3	43,3	43,3	40,2	46,3	800,0	0,0
Vitamina B2	mg	97,4	97,4	97,4	96,3	98,5	1920,0	0,0
Vitamina B3	mg	8,4	8,4	8,4	2,4	14,4	20,0	0,0
Vitamina B5	mg	133,0	133,0	133,0	131,8	134,3	2600,0	0,0
Vitamina B6	mg	19,5	19,5	19,5	19,4	19,6	380,0	0,0
Vitamina B12	mg	25,0	25,0	25,0	25,0	25,0	500,0	0,0
Ácido Fólico	mg	92,5	92,5	92,5	92,6	92,5	1850,0	0,0
Biotina	mg	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,7	0,0
Vitamina A	mg	29,7	29,7	29,7	29,9	29,6	590,0	0,0
Vitamina E	mg	5,7	5,7	5,7	7,6	3,8	20,0	0,0
Lipídeos	g	9,0	9,0	9,0	8,7	9,2	6,2	0,0
C16:0	g	11,1	9,4	12,9	3,3	19,0	28,7	0,0
C18:1	g	8,8	8,4	9,2	2,9	14,7	2,9	0,0
C18:2	g	2,2	2,4	1,9	1,3	3,1	5,4	0,0
C18:3	g	4,9	7,1	2,6	4,8	5,0	49,5	0,0
Proteína Bruta	g	25,7	25,7	25,7	32,8	18,5	26,2	0,0

Fonte: USDA (2006)

A cada três dias, as abelhas mortas de cada gaiola foram removidas e contadas e a água, o xarope, o pólen e o suplemento avaliado, substituídos por outros frescos (Figura 3).

Preparo das gaiolas

As abelhas utilizadas foram obtidas de dez favos de cria fechada, retirados de colônias africanizadas filhas de rainhas irmãs, para diminuir a variação genética pela longevidade (Milne Jr., 1980). Após, foram imediatamente colocados dentro de envelopes de papel jornal perfurados e deixados em estufa regulada a 32-35°C e 70% de UR até a emersão.

Os testes foram conduzidos em triplicatas, transferindo-se 125 abelhas recém-emergidas dos favos para 21 gaiolas (9 x 6 x 15 cm). Estas foram identificadas e cada uma foi suprida com água, um pedaço de cera alveolada, xarope de açúcar e água (1:1) e o suplemento teste (Figura 1).

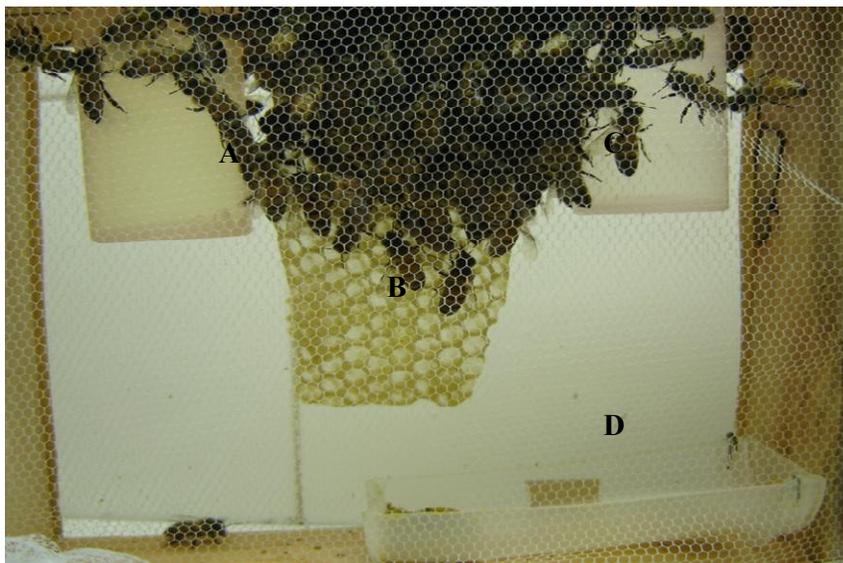


Fig. 1. Gaiola experimental com 125 abelhas emergentes, água (A), pedaço de cera alveolada (B), xarope de açúcar e água (1:1) (C), recipiente para o fornecimento do suplemento-teste (D)

Os suplementos foram fornecidos em recipientes de polietileno medindo 24 mm de diâmetro e 70 mm de comprimento, colocados na base das gaiolas em quantidade de aproximadamente 3 g (Figura 2). A cada três dias os suplementos avaliados foram substituídos por outros novos e o consumo registrado (Figura 3).



Fig. 2. Recipiente de polietileno contendo 3 g do suplemento avaliado

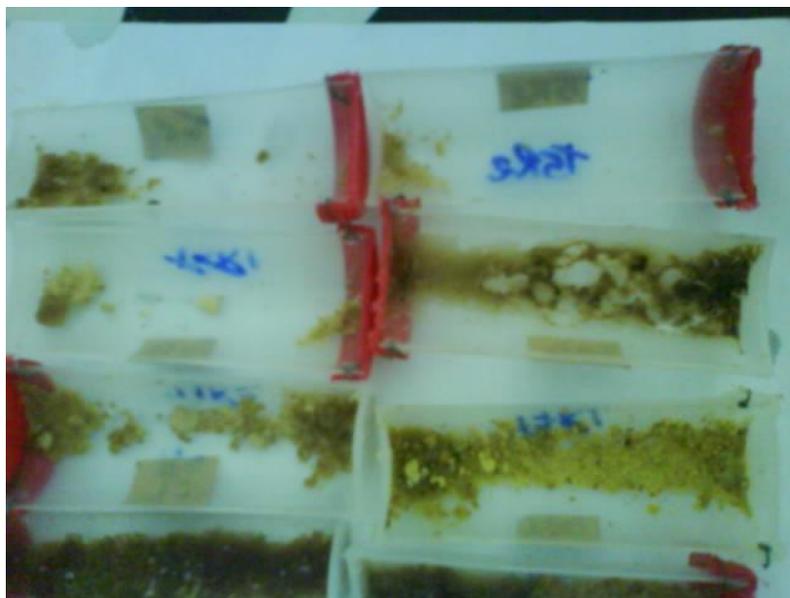


Fig. 3. Sobras dos suplementos fornecidos durante a realização do teste de longevidade

Consumo de suplemento

O consumo médio acumulado dos suplementos foi calculado pela soma das diferenças de pesos observadas entre as quantidades iniciais fornecidas (em média 3 g) e as sobras registradas, a cada três dias durante o período experimental. Os registros de consumo foram realizados até o 30º dia do período experimental que foi de 76 dias, considerando

que, após este tempo, a quantidade de suplemento ingerido pelas abelhas em todos os tratamentos foi insignificante. Em condições normais, nesta idade, as exigências de nitrogênio pelas abelhas são reduzidas por apresentarem estruturas corporais (músculos, asas, glândulas) completamente desenvolvidas e estarem aptas para o desenvolvimento de trabalhos fora da colmeia (Haydak, 1970).

Teste de preferência

O teste de preferência foi conduzido com o objetivo de avaliar se as abelhas seriam capazes de selecionar, em função da preferência, os suplementos elaborados quando oferecidos simultaneamente em uma mesma gaiola experimental. Recipientes de polietileno divididos em compartimentos foram abastecidos com aproximadamente 1 g de cada um dos suplementos estudados. A cada três dias, as sobras foram registradas e os suplementos velhos substituídos por outros novos e oferecidos em posições diferentes dentro da mesma gaiola.

Taxa de mortalidade

As taxas de mortalidade médias por tratamento, expressas em porcentagens (%), foram calculadas a cada seis dias aproximadamente, dividindo-se o número total de abelhas mortas pelo número inicial de abelhas tratadas (125). Estas observações foram realizadas até o 53º dia do período experimental, quando todas as abelhas do tratamento-controle morreram (Tabela 7).

Incremento na longevidade

O incremento médio de longevidade foi calculado contando-se os dias adicionais de vida que as abelhas dos diferentes tratamentos apresentaram após a morte das operárias do controle (53º dia).

Análises estatísticas

Os tratamentos envolveram abelhas filhas de rainhas irmãs, condições nutricionais e ambientais similares. Sendo assim, excluindo a influência destas variáveis, a melhor medida para avaliar a qualidade do suplemento foi a comparação das médias das quantidades consumidas de cada suplemento, verificação da preferência, determinação da taxa de mortalidade e do incremento adicional de longevidade pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o software Statistical Analysis System (SAS, 2008).

Resultados

Consumo de suplemento

A Tabela 5 apresenta os valores médios de consumo dos suplementos avaliados (n=3), com respectivos desvios-padrão dos suplementos elaborados e do controle (xarope de açúcar e água 1:1), consumidos durante 30 dias do período experimental. A Figura 4 apresenta as quantidades médias consumidas de cada suplemento, da emersão até o 30º dia de vida adulta.

Tabela 5. Quantidade consumida (média \pm desvio-padrão) de suplemento misto (SLiPa/PiLc), óleo de linhaça (SLi), óleo de palma (SPa), proteína isolada de soja (SPi), levedo de cerveja (SLc) e pólen, fornecidos às abelhas africanizadas submetidas ao teste de longevidade, da emersão até o 30º dia de vida adulta

Tempo acumulado	SLiPa/PiLc	SLi	SPa	SPi	SLc	Pólen
0 - 3º dia	2,42 $\pm 0,96$	0,40 $\pm 0,18$	0,54 $\pm 0,30$	1,83 $\pm 0,46$	2,62 $\pm 0,22$	1,55 $\pm 0,01$
4º - 8º dia	2,12 $\pm 0,69$	1,42 $\pm 1,30$	1,49 $\pm 1,30$	2,21 $\pm 0,55$	1,85 $\pm 0,14$	0,83 $\pm 0,71$
9º - 15º dia	1,40 $\pm 0,22$	0,56 $\pm 0,33$	1,61 $\pm 0,57$	1,72 $\pm 0,20$	1,70 $\pm 0,43$	1,22 $\pm 0,05$
16º - 21º dia	2,78 $\pm 0,40$	0,71 $\pm 0,24$	1,16 $\pm 0,71$	1,73 $\pm 0,27$	2,38 $\pm 0,48$	1,55 $\pm 0,01$
22º - 26º dia	1,93 $\pm 0,34$	0,86 $\pm 0,19$	0,45 $\pm 0,12$	1,50 $\pm 0,45$	0,11 $\pm 0,02$	0,53 $\pm 0,46$
27º - 30º dia	0,48 $\pm 0,47$	0,23 $\pm 0,02$	0,27 $\pm 0,16$	0,12 $\pm 0,10$	0,15 $\pm 0,06$	0,11 $\pm 0,01$
Média acumulada	11,12	4,18	5,53	9,11	8,80	5,79

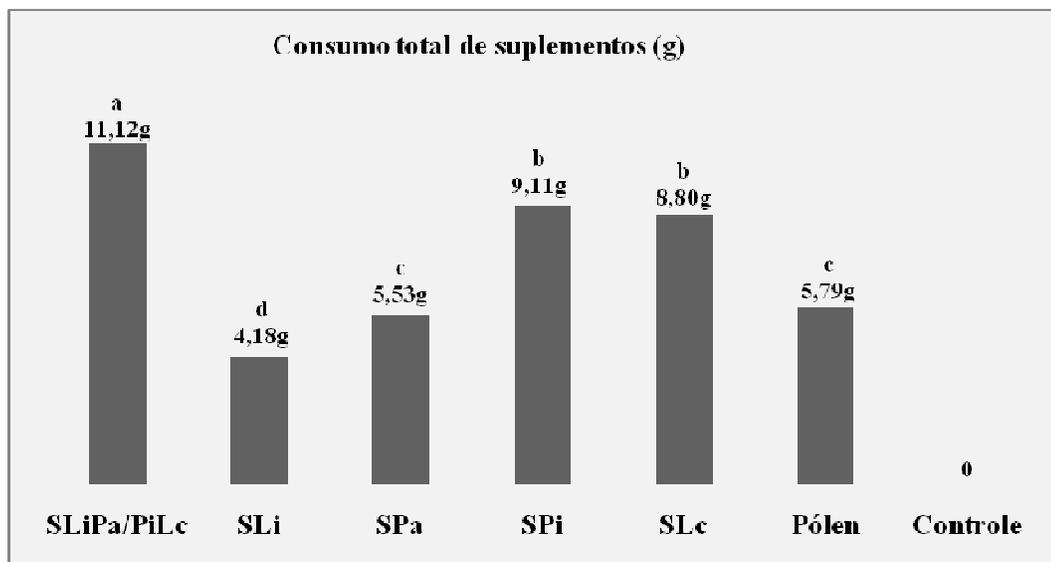


Fig. 4. Consumo médio (g) dos suplementos elaborados (n=3), óleo linhaça, óleo de palma, proteína isolada de soja e levedo de cerveja (SLiPa/PiLc), óleo de linhaça (SLi), óleo de palma (SPa), proteína isolada de soja (SPi), levedo de cerveja (SLc), pólen e controle (sem suplemento) fornecidos às abelhas africanizadas submetidas ao teste de longevidade, da emersão até o 30º dia de vida adulta. Médias acompanhadas por letras iguais nas colunas, não diferem estatisticamente entre si ($P>0,05$)

Teste de preferência

A Tabela 6 apresenta os valores médios de consumo dos suplementos, com respectivos desvios-padrão (n=3) observados no teste de preferência. A Figura 5 apresenta as quantidades médias consumidas de cada suplemento durante o período de realização do teste de preferência.

Tabela 6. Quantidade consumida (média \pm desvio-padrão) de suplemento misto (SLiPa/PiLc), óleo de linhaça (SLi), óleo de palma (SPa), proteína isolada de soja (SPi), levedo de cerveja (SLc), pólen e controle (sem suplemento) fornecidos simultaneamente às abelhas africanizadas submetidas ao teste de preferência, da emersão até o 30º dia de vida adulta

Tempo acumulado	SLiPa/PiLc	SLi	SPa	SPi	SLc	Pólen
0 - 3º dia	0,81 \pm 0,26	0,47 \pm 0,18	0,18 \pm 0,15	0,61 \pm 0,46	0,87 \pm 0,12	0,52 \pm 0,1
4º - 8º dia	0,71 \pm 0,19	0,47 \pm 0,50	0,50 \pm 0,30	0,74 \pm 0,35	0,62 \pm 0,24	0,28 \pm 0,21
9º - 15º dia	0,47 \pm 0,12	0,19 \pm 0,13	0,54 \pm 0,27	0,57 \pm 0,10	0,57 \pm 0,23	0,41 \pm 0,1
16º - 21º dia	0,93 \pm 0,20	0,24 \pm 0,14	0,39 \pm 0,11	0,58 \pm 0,17	0,79 \pm 0,28	0,52 \pm 0,21
22º - 26º dia	0,64 \pm 0,14	0,29 \pm 0,12	0,15 \pm 0,12	0,50 \pm 0,15	0,70 \pm 0,01	0,18 \pm 0,16
27º - 30º dia	0,16 \pm 0,17	0,09 \pm 0,02	0,09 \pm 0,06	0,04 \pm 0,00	0,50 \pm 0,06	0,04 \pm 0,01
Média acumulada	3,71	1,74	1,84	3,04	4,05	1,93

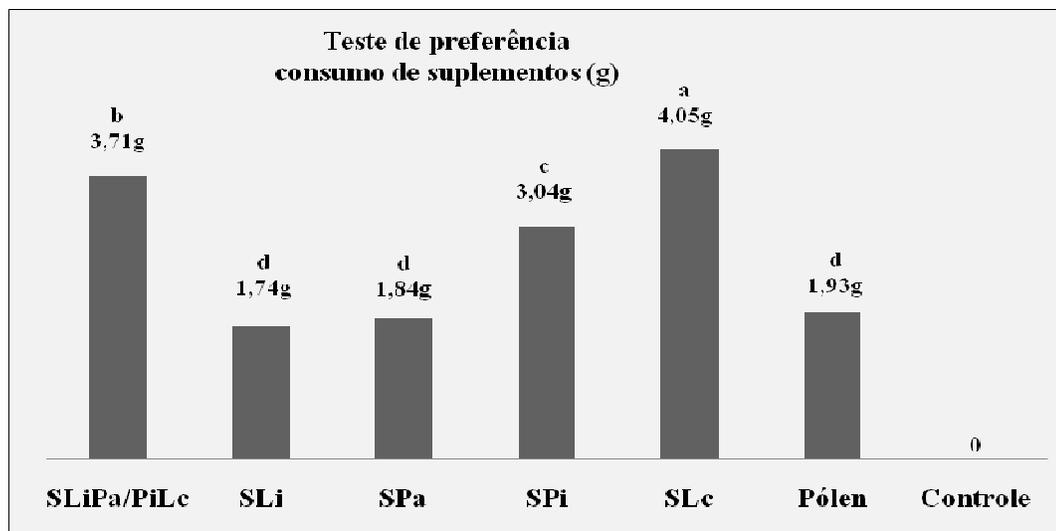


Fig. 5. Consumo médio (g) dos suplementos elaborados (n=3), suplemento óleo linhaça, óleo de palma, proteína isolada de soja e levedo de cerveja (SLiPa/PiLc), óleo de linhaça (SLi), óleo de palma (SPa), proteína isolada de soja (SPi), levedo de cerveja (SLc), pólen e controle (sem suplemento), fornecidos simultaneamente às abelhas africanizadas de uma mesma gaiola submetidas ao teste de preferência, da emersão até o 30º dia de vida adulta. Médias acompanhadas por letras iguais nas colunas, não diferem estatisticamente entre si ($P>0,05$)

Taxa de mortalidade

A Tabela 7 apresenta a taxa de mortalidade acumulada (%) das abelhas confinadas e suplementadas, da emersão até 53º dia de observação. A Figura 6 apresenta a taxa de mortalidade acumulada (n=3) das abelhas africanizadas submetidas ao teste de longevidade. A Figura 7 apresenta as curvas de mortalidade exibida pelas abelhas suplementadas em gaiolas da emersão até o 53º dia de observação.

Tabela 7. Taxa de mortalidade acumulada (%) de abelhas africanizadas submetidas ao teste de longevidade, alimentadas com suplemento misto (SLiPa/PiLc), óleo de linhaça (SLi), óleo de palma (SPa), proteína isolada de soja (SPi), levedo de cerveja (SLc), pólen e controle (xarope de açúcar e água 1:1), da emersão até a morte das abelhas do tratamento-controle

Taxa de mortalidade acumulada (%)							
Dias de vida	SLiPa/PiLc	SLi	SPa	SPi	SLc	Pólen	Controle
0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
5	10,1	0,00	6,9	8,0	7,2	10,7	5,9
15	12,5	4,80	11,2	10,9	13,1	14,1	9,9
21	26,1	5,87	23,5	23,7	19,2	20,3	30,4
27	36,5	8,27	32,8	34,9	24,5	42,7	55,5
34	58,1	23,73	65,3	53,3	45,3	66,4	88,5
39	73,6	57,87	75,5	68,5	51,2	94,4	95,5
44	77,9	76,00	78,4	72,5	60,8	98,1	96,3
48	81,9	84,00	84,8	76,0	66,7	98,7	98,4
53	88,3	92,00	92,8	88,5	73,9	100,0	100,0

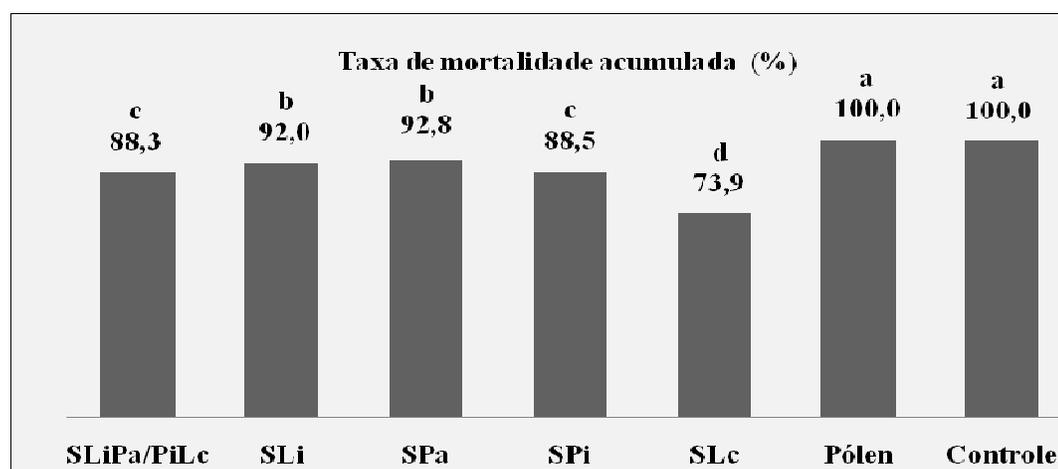


Fig. 6. Taxa de mortalidade acumulada (n=3) de abelhas africanizadas submetidas ao teste de longevidade, alimentadas com suplemento misto (SLiPa/PiLc), óleo de linhaça (SLi), óleo de palma (SPa), proteína isolada de soja (SPi), levedo de cerveja (SLc), pólen e controle (xarope de açúcar e água 1:1), da emersão até 53º dia de observação. Médias acompanhadas com letras iguais nas colunas, não diferem estatisticamente entre si (P>0,05)

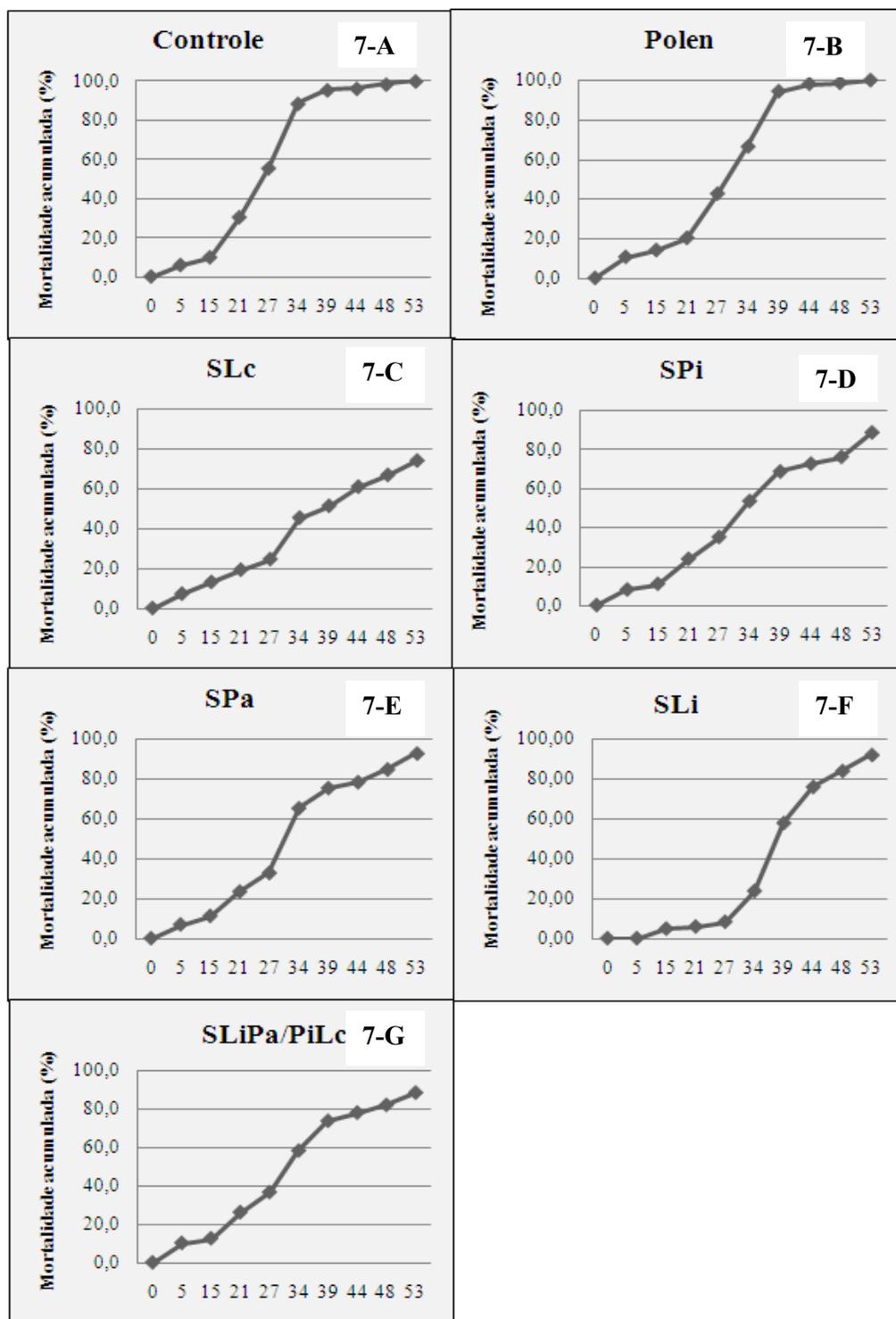


Fig. 7. Curvas de mortalidade (média de três repetições) de abelhas africanizadas confinadas em gaiolas do nascimento até 53º dia de vida adulta alimentadas com suplemento misto (SLiPa/PiLc), óleo de linhaça (SLi), óleo de palma (SPa), proteína isolada de soja (SPi) e levedo de cerveja (SLc), pólen e controle (xarope de açúcar e água 1:1)

Incremento na longevidade

Os valores observados foram de três, oito, 16, 16 e 22 dias para os tratamentos óleo de linhaça, óleo de palma, proteína isolada de soja, óleo de linhaça com óleo de palma e levedo de cerveja respectivamente (Tabela 8). Estes valores foram convertidos em taxa adicional de sobrevivência (%).

A Tabela 8 apresenta o incremento médio na longevidade (em dias) das abelhas confinadas em gaiolas e submetidas aos tratamentos. A Figura 8 apresenta o incremento na longevidade das abelhas confinadas em gaiolas e submetidas aos diferentes tratamentos.

Tabela 8. Incremento médio na longevidade (n=3) de abelhas africanizadas confinadas em gaiolas e alimentadas com suplemento misto (SLiPa/PiLc), óleo de linhaça (SLi), óleo de palma (SPa), proteína isolada de soja (SPi) e levedo de cerveja (SLc), observado do 54º dia até o 76º dia do período experimental

Tempo de vida	SLiPa/PiLc	SLi	SPa	SPi	SLc
54º dia	15	10	09	14	33
57º dia	10	00	05	10	23
62º dia	05	00	00	05	15
66º dia	03	00	00	02	09
70º dia	00	00	00	00	06
76º dia	00	00	00	00	00
Total (dias)	16	3	08	16	22

O ganho total no tempo de vida das abelhas suplementadas com diferentes dietas variou de três a 22 dias, com média de 13 dias. No controle, as abelhas viveram em média 26 dias, apresentando alta mortalidade depois do terceiro dia de vida. Neste tratamento, todas as abelhas morreram até o 53º dia de vida (Figura 7-A). No tratamento em que as abelhas foram suplementadas com pólen, não foi observado tempo adicional na longevidade, apresentando taxa de mortalidade igual das abelhas submetidas ao controle (Figura 7-B). Nos tratamentos óleo de palma e óleo de linhaça as abelhas apresentaram baixo incremento no tempo de vida, três e oito dias, respectivamente, com uma média de 5,5 dias enquanto que nos tratamentos óleo de linhaça com óleo de palma, proteína isolada de soja e levedo de cerveja foi observado um incremento de 16, 16 e 22 dias respectivamente, com uma média de 18 dias.

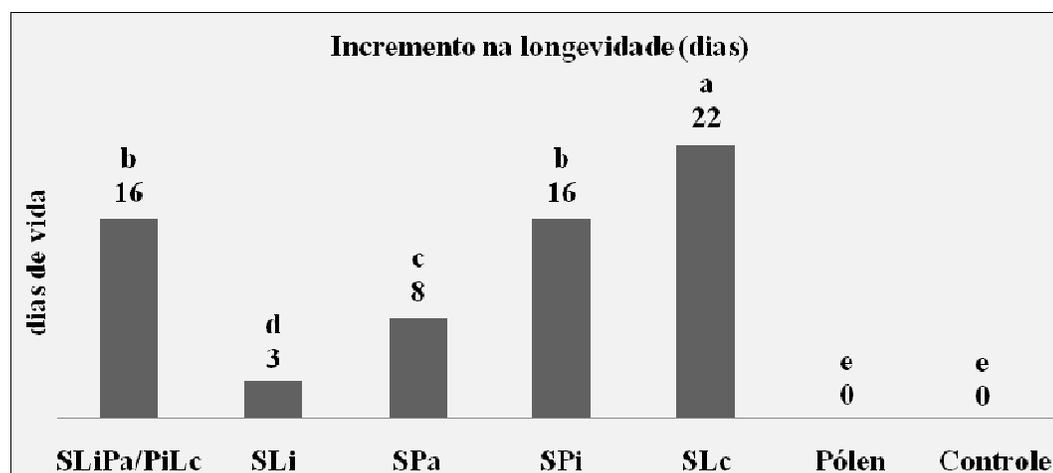


Fig. 8. Incremento na longevidade (n=3) de abelhas africanizadas confinadas em gaiolas alimentadas com suplemento misto (SLiPa/PiLc), óleo de linhaça (SLi), óleo de palma (SPa), proteína isolada de soja (SPi), levedo de cerveja (SLc), pólen e controle (xarope de açúcar e água 1:1), medido a partir do 54º dia do período experimental. Médias seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente entre si ($P>0,05$)

Foi observado um adicional na longevidade de 5,7, 15,1, 30,2, 30,2 e 41,5% para os tratamentos óleo de linhaça, óleo de palma, proteína isolada de soja, óleo de linhaça com óleo de palma e levedo de cerveja, respectivamente.

Os suplementos proteína isolada de soja, levedo de cerveja e o suplemento misto (elaborados com adição das duas fontes de óleo) foram os mais consumidos (Tabela 5 e Figura 4), preferidos (Tabela 6 e Figura 5), promoveram as menores taxas de mortalidade (Tabela 7 e Figuras 6, 7-C, 7-D e 7-G) e os maiores incrementos na longevidade (Tabela 8 e Figura 8). O suplemento elaborado com levedo de cerveja e mistura de óleo de palma e linhaça foi o que promoveu o maior tempo adicional de longevidade (41,5%), diferindo dos demais suplementos avaliados ($P<0,05$).

Discussão

Consumo de suplemento

Comparando os dados de consumo, os resultados observados diferiram entre si ($P<0,05$) com valores mínimos de 4,18 (suplemento óleo de linhaça) e máximos de 11,12 g (suplemento óleo de linhaça com óleo de palma) vide Figura 4.

O consumo do suplemento óleo de linhaça diminuiu abruptamente próximo ao 15º dia, ilustrando um suplemento que essencialmente foi menos aceito pelas abelhas, enquanto que o SPa apresentou queda de consumo gradativa até o 30º dia de observação (Tabela 5), ambos os suplementos foram elaborados com apenas uma fonte de óleo. O baixo consumo do suplemento elaborado com óleo de linhaça pode ser atribuído ao forte cheiro de peixe do suplemento pronto. Segundo Manning (2001) e Manning e Harvey (2002), as abelhas apresentam tolerância à ingestão de ácido linoleico presente no óleo de linhaça, enquanto que o consumo excessivo de ácido oleico presente nesta mesma fonte de óleo pode estar associado com a redução do tempo de vida pelas alterações que causa na palatabilidade dos suplementos.

Neste estudo, os suplementos óleo de linhaça e óleo de palma foram os menos consumidos enquanto que os suplementos elaborados com as duas fontes de óleo (suplementos óleo de linhaça com óleo de palma, proteína isolada de soja e levedo de cerveja) foram os mais consumidos. Com esta observação, conclui-se que misturas de ácidos graxos poli-insaturados e saturados constituem suplementos balanceados com características sensoriais agradáveis estimulando esta fase da alimentação das abelhas africanizadas (Tabela 5 e Figura 4).

O suplemento levedo de cerveja foi elaborado com uma mistura de óleo de linhaça, óleo de palma e levedo de cerveja e resultou em suplemento rico em vitaminas do complexo B, ácidos graxos poli-insaturados e saturados (Tabela 4). Os ingredientes utilizados constituíram recursos nutritivos que garantiram ótimo consumo e aceitação, reduzida taxa de mortalidade e o maior incremento na longevidade. Quando preparado, mostrou aroma agradável, granulometria fina e alta higroscopicidade, formando no interior da gaiola uma pasta que possivelmente facilitou sua coleta e seu consumo. Este suplemento não oferece nenhum risco, podendo ser fornecido às abelhas como suplemento especialmente nos períodos de escassez ou de baixa qualidade de néctar e/ou pólen.

Abelhas que foram suplementadas com pólen mostraram relativamente baixo consumo e baixa longevidade quando comparadas com os resultados dos outros suplementos (Tabela 5 e Figura 7-B). A causa da morte antecipada não foi determinada, porém, esta observação sugere que, embora consumido, alguns componentes presentes no pólen fornecido possivelmente não proporcionaram

benefício real para sua nutrição, causando alta taxa de mortalidade (Tabela 7 e Figura 7-B).

Segundo DeGroot (1953), para alguns tipos de pólen, o baixo consumo pode estar associado à presença de uma grande quantidade de óleo na camada externa ou de compostos químicos de gosto amargo. Segundo este mesmo autor, geralmente, o pólen contém todos os aminoácidos essenciais em quantidades satisfatórias, mas em algumas espécies de plantas estas quantidades podem variar. Estudos de longevidade realizados por Schmidt e Johnson (1984) mostraram que o baixo consumo de pólen ocorre pela falta de substâncias atrativas, presença de elementos tóxicos naturais ou um pobre balanço de nutrientes. vários fatores que podem estar associados, entre eles a quantidade inadequada de aminoácidos essenciais e de proteína que o mesmo contém. Schmidt *et al.* (1987) alimentaram abelhas *Apis mellifera* com 25 variedades de pólen unifloral e vários blends como única fonte de proteína e avaliaram a longevidade média destas abelhas frente a controles que receberam somente água e açúcar. Estes autores observaram grande variação na quantidade de pólen consumido e na longevidade das abelhas e atribuíram essas diferenças à concentração de proteína do pólen consumido.

Nesse estudo, a mistura de óleos de linhaça e palma (Tabelas 3, 6 e 8) foi aceitável não somente para aproximar a composição do suplemento à composição de uma dieta natural equilibrada, mas também por maximizar o consumo proporcionando maior longevidade das abelhas tratadas (Figuras 4, 5 e 8). O consumo observado foi uma medida parcial de quanto os suplementos foram atrativos ou fago-estimulantes para as abelhas. Suplementos prontamente consumidos, a exemplo do elaborado com levedo de cerveja, provavelmente continha maior quantidade desses fatores.

Teste de preferência

Para o teste de preferência, os resultados observados diferiram entre si ($P < 0,05$) com valores mínimos de 1,74 g (suplemento óleo de linhaça) e máximos de 4,05 g (suplemento levedo de cerveja) (Figura 5). Estes resultados permitem afirmar que em termos de nutrição de abelhas, em condições naturais, elas são capazes de distinguir entre fontes de pólen e não-pólen (Levin e Bohart, 1955, Doull, 1966; Schmidt, 1982; Schmidt e Johnson, 1984), e também quando confinadas, conseguem

distinguir ativamente entre diferentes fontes de suplementos, preferindo as que oferecem um melhor balanço de nutrientes, em especial às misturas que contenham fontes mistas de ácidos graxos, aminoácidos e vitaminas do complexo B (Tabelas 4 e 6 e Figura 5).

Segundo Doull (1966), Robinson e Nation (1968) e Schmidt (1985), a base sobre a qual as abelhas discriminam fontes não-florais e alguns tipos de pólen, ou como as abelhas quase sempre reconhecem a maioria do pólen como alimento, ainda não é conhecida, muito embora haja evidências que fatores atrativos e fagoestimulantes estejam envolvidos.

Taxa de mortalidade

Na Tabela 7 e Figuras 7-C, 7-D e 7-G destacam-se respectivamente os suplementos levedo de cerveja, proteína isolada de soja e óleo de linhaça com óleo de palma, elaborados com as duas fontes de óleo (Tabela 3). Estes suplementos foram os mais consumidos (Tabela 5), proporcionaram as menores taxas de mortalidade acumulada (Tabela 7) e proporcionaram o maior incremento na longevidade diferindo-se dos demais tratamentos ($P < 0,05$).

A Figura 7-G mostra que abelhas tratadas com suplemento misto morreram mais uniformemente até o 53º dia de vida adulta, enquanto outras, alimentadas com suplemento linhaça (Figura 7-F) morreram lentamente em uma taxa 50% menor que os demais tratamentos nos primeiros 30 dias, após, morreram rapidamente exibindo uma longevidade menor ($P < 0,05$) que os demais tratamentos (Tabela 8 e Figura 8).

As Figuras 7-E e 7-F apresentam as curvas de mortalidade das abelhas tratadas com suplementos palma e linhaça, respectivamente. Ambos os suplementos foram elaborados com apenas um tipo de óleo e apresentaram curvas de mortalidade muito próximas ($P > 0,05$) e alta taxa de mortalidade, próxima a observada no controle (Figuras 7-A).

Comparando a taxa de mortalidade acumulada (Tabela 7) das abelhas tratadas com suplementos elaborados com apenas um tipo de óleo ou com a mistura, é possível sugerir alguns efeitos favoráveis do óleo de linhaça quando misturado ao de palma e aumento na taxa de mortalidade quando ambos foram utilizados puros nos suplementos (Figura 6, 7-E e 7-F).

Com relação às fontes de proteínas utilizadas, a longevidade foi superior para as abelhas que receberam levedo de cerveja como fonte exclusiva de proteína (suplemento levedo de cerveja), em comparação com proteína isolada de soja. Segundo Haydak (1935), o fornecimento de levedura desidratada garante desenvolvimento das glândulas hipofaríngeas em abelhas recém-emergidas, enquanto que Haydak (1949) verificou que o fornecimento de farinha de soja causou abrupta redução no nascimento de cria prevista e atribuiu este fato à falta do aminoácido niacina na farinha de soja.

Incremento de longevidade

A mistura de partes iguais de óleo de linhaça e palma nos suplementos proporcionou os melhores resultados no incremento de longevidade das abelhas confinadas, possivelmente, por suprir as exigências nutricionais das abelhas durante o período de confinamento. Segundo Robinson e Nation (1968; 1970) e Manning e Harvey (2002), a concentração lipídica predominante nas abelhas é de ácido graxo oleico seguido pelo linoleico, palmítico e esteárico. O suplemento linhaça conferiu às abelhas africanizadas o menor tempo de incremento de longevidade, diferindo-se dos demais suplementos avaliados ($P < 0,05$). Segundo Mannig (2007), dietas que contêm excesso de ácido graxo linoleico, provocam alta mortalidade de abelhas. Este autor atribuiu este fato, ao efeito adverso que este ácido graxo confere na palatabilidade da dieta.

Foi possível concluir que o suplemento misto, suplemento proteína isolada de soja e o suplemento levedo de cerveja, constituíram fontes atrativas de alimento, provavelmente por apresentarem composição química rica em ácidos graxos saturados, insaturados, aminoácidos essenciais e vitaminas do complexo B, que possivelmente, induziram a ocorrência de todas as fases de alimentação das abelhas africanizadas: consumo, digestão e aproveitamento dos nutrientes, expressos no significativo consumo e preferência, redução na taxa de mortalidade e no incremento do tempo de vida para as abelhas africanizadas.

A introdução ou a retirada de proteína isolada de soja e levedo de cerveja não tiveram tanta influência nos parâmetros avaliados quanto à introdução ou à retirada dos óleos de linhaça e palma, e a presença dos dois apresentou melhores resultados principalmente se combinados com levedo de cerveja.

Referências

- DEGROOT, A P (1953) Protein and amino acid requirements of the honeybee (*Apis mellifica* L.). *Physiologia Comparata et Oecologia* 3: 1-83.
- DOULL, K M (1966) The relative attractiveness to pollen collecting honeybees of some different pollens. *Journal of Agricultural Research* 5: 9-14.
- DOULL, K M; HANCOCK T W; STANDIFER L N (1980) The physical characteristics of artificial protein diets for honeybees (*Apis mellifera*) II. *Apidologie* 11: 209-215.
- FREE, J B (1970) *Insect pollination of crops*. Academic Press; New York, USA. 544pp.
- HAYDAK, M H (1935) Brood rearing by honeybees confined to a pure carbohydrate diet. *Journal of Economic Entomology* 29 (5): 870-877.
- HAYDAK, M H (1945) Value of pollen substitutes for brood rearing of honeybees. *Journal of Economic Entomology* 38: 484-487.
- HAYDAK, M H (1949) Causes of deficiency of soybean flour as a pollen substitute for honey bees. *Journal of Economic Entomology* 42 (4): 573-579.
- HAYDAK, M H (1970) Honey bee nutrition. *Annual Review of Entomology* 15: 143-156.
- HERBERT JR., E W (1997) Honey bee nutrition. In Graham, J M (ed) *The hive and the honey bee*. Dadant and Sons; Hamilton, Illinois, USA. pp 197-233.
- HERBERT, E W JR; SHIMANUKI H (1980) An evaluation of seven potential pollen substitutes for honey bees. *American Bee Journal* 120: 349-350.
- LEVIN, M D; BOHART, G E (1955) Selection of pollens by honey bees. *American Bee Journal* 95: 392-402.
- MANNING, R (2001) Fatty acids in pollen: a review of their importance for honeybees. *Bee World* 82: 60-75.
- MANNING, R; HARVEY, M (2002) Fatty acids in honeybee-collected pollens from six endemic Western Australian eucalypts and the possible significance to the Western Australian beekeeping industry. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 42: 217-223.
- MANNING, R (2007) Lipid-enhanced pollen and lipid-reduced flour diets and their effect on the longevity of honey bees (*Apis mellifera* L.). *Entomology* 4 (3): 251-257.
- MILNE, Jr. C P (1980) Laboratory measurement of honey production in the honeybee. 2. Longevity or length of life of caged workers. *Journal of Apicultural Research* 19: 172-175.
- MOELLER, F E (1967) Honeybee preference for pollen supplements or substitutes and their use in colony management. *American Bee Journal* 107: 48-50.
- ROBINSON, F A; NATION, J L (1968) Substances that attract caged honeybee colonies to consume pollen supplements and substitutes. *Journal of Apicultural Research* 7: 83-88.
- ROBINSON, F A; NATION, J L (1970) Long-chain fatty acids in honeybees in relation to sex, caste and substitutes. *Journal of Apicultural Research* 9 (3): 121-127.
- SAS INSTITUTE INC (2008) *System for microsoft windows*. OnlineDoc® for Windows 9.2. Cary; NC, USA.
- SCHMIDT, J O (1982) Pollen foraging preferences of honey bees. *Southwestern Entomologist* 7: 255-259.
- SCHMIDT, J O; BUCHMANN, S L (1985) Pollen digestion and nitrogen utilization by *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae). *Comparative Physiology and Biochemistry* 82: 499-503.

- SCHMIDT, J O; JOHNSON, B E (1984) Pollen feeding preference of *Apis mellifera*, a polylectic bee. *Southwestern Entomologist* 9: 41-47.
- SCHMIDT, J O; THOENES, S C; LEVIN, M D (1987) Survival of honey bees, *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae), fed various pollen sources. *Annals of the Entomologist Society of America* 80: 176-183.
- SHIMANUKI, H; HERBERT, E W (1985) Alimento artificial con proteínas para las colonias de abejas. In, *XXX Congresso Internacional de Apicultura*, Nagoya, Japão. 320 pp.
- STANDIFER, L N; HAYDAK, M H; MILLS, J P; LEVIN, M D (1973) Value of three protein rations in maintaining honeybee colonies in outdoor flight cages. *Journal of Apicultural Research* 12: 137-143.
- USDA (2006) Nutrient Database for Standard Reference. <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/>. Acessado em: 12 jan. 2007.
- WINSTON, M L; CHALMERS W T; LEE, P C (1983) Effects of two pollen substitutes on brood mortality and length of adult life in the honeybee. *Journal of Apicultural Research* 22: 49-52.
- WINSTON, M L (1987) *The biology of the honey bee*. Harvard University Press; Massachusetts, EUA. 281 pp.

VI – Viabilidade econômica da produção de geleia real com abelhas africanizadas suplementadas

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar economicamente o fornecimento de seis suplementos proteicos para abelhas africanizadas, submetidas à produção de geleia real, para verificar se os investimentos com a suplementação das colônias proporcionam rentabilidade aos apicultores, criando opções lucrativas para diversificação dos produtos apícolas. Suplementos elaborados com óleo de linhaça, óleo de palma, proteína isolada de soja, levedo de cerveja, mel e açúcar produziram taxa de retorno de 68,06 a 77,78% superior ao controle ($P < 0,05$), indicando que é economicamente viável suplementar recrias de abelhas africanizadas em produção de geleia real.

Palavras-chave: *Apis mellifera*, custo de produção, rentabilidade, suplementação

VI – Economic viability of the royal jelly production with supplemented Africanized honey bees

Abstract

This study was carried out to evaluate economically the supply of six proteic supplements for Africanized honeybees submitted to the royal jelly production to verify if the investments with the colonies supplementation provide the financial yield to beekeepers, increasing profits for bee products diversification. Supplements elaborated with linseed oil, palm oil, isolated soy protein, beer yeast, honey and sugar had internal tax of return of 68.06 to 77.78% higher than the control ($P < 0.05$), indicating that it is economically viable to supplement Africanized honey bees in royal jelly production.

Keywords: *Apis mellifera*, production cost, profitability, supplementation

Introdução

Entre os países com potencial para obtenção de grandes quantidades de produtos apícolas destaca-se o Brasil, que se diferencia dos demais países por apresentar características climáticas excepcionais, ampla e variada vegetação melífera e silvestre e abelhas africanizadas, que se sobressaem das demais abelhas pela sua alta rusticidade e forte potencial para a produção de mel, pólen, cera, própolis, apitoxina e geleia real (Bertoldi *et al.*, 2004; Sanguino *et al.*, 2007).

Atualmente, a geleia real não é considerada um produto da apicultura convencional no Brasil. Uma das alternativas para diversificar e expandir o setor apícola seria incentivar a produção de geleia real, especialmente nos períodos de escassez de pasto apícola, por meio da suplementação das colônias (Portela e Gallego, 1999).

Diferente do mel e do pólen elaborados a partir de recursos florais, a geleia real é um produto que apresenta alto custo de produção, pelo tempo e insumos que se exigem para atender os objetivos da produção (Nogueira-Couto e Couto, 2006). Desta forma, sua produção sempre tem sido realizada em épocas de abundância de recursos florais.

Por apresentar composição química rica em vitaminas, ácidos orgânicos essenciais, elementos ativos proteicos e hormônios esteroides, a geleia real é considerada um superalimento, capaz de proporcionar inúmeros benefícios funcionais à saúde humana e tem despertado cada vez mais o interesse dos consumidores em adquirir este produto, o que torna esta atividade uma opção altamente atrativa (Vantoor e Littlejohn, 1994).

A geleia real é secretada em pequena quantidade pelas glândulas hipofaríngeas e mandibulares para alimentar as larvas de abelhas operárias até o terceiro dia de vida, alimentação das larvas de zangão durante toda a fase larvária, alimentação da rainha durante toda a vida larvária e adulta (Haydak, 1970). Para sua síntese, as abelhas exigem carboidratos, vitaminas, ácidos graxos, minerais, aminoácidos essenciais, os quais são obtidos em condições naturais mediante a coleta de néctar e pólen (Herbert, 1997). Para assegurar sua produtividade e lucro em períodos de escassez é necessária complementação dos recursos naturais com suplementos (Pereira *et al.*, 2006).

Apesar da importância da geleia real, constata-se um reduzido esforço de pesquisa na sua avaliação econômica. De maneira geral, as pesquisas no Brasil

concentram-se, sobretudo, em aspectos técnicos e biológicos, havendo a necessidade de se promover avaliações econômicas dos sistemas que se pretende implantar.

Somente com o desenvolvimento de técnicas adequadas às abelhas africanizadas, a apicultura brasileira poderá crescer e se expandir mostrando-se competitiva para esta atividade. Assim, o presente artigo é resultado de um estudo sobre a avaliação econômica da produção de geleia real com abelhas africanizadas, suplementadas em sistema de recrias, para o desenvolvimento tecnológico da indústria apícola brasileira, uma vez que existe a necessidade de oferecer aos apicultores, métodos de produção de geleia real mais lucrativos que assegurem, além da diversificação da produção, ampliação de renda anual e crescimento do mercado nacional deste produto.

Material e métodos

Preparo das colmeias recrias

As recrias foram constituídas com dois ninhos modelo Langstroth sobrepostos, separados por uma tela excludora horizontal de rainha. O ninho inferior ficou com dez caixilhos e o superior com nove, distribuídos para manter um espaço central para produção de geleia real, com cria operculada, aberta e mel, intercalados e sem acesso direto ao exterior. O caixilho de transferência possuía três sarrafos transversais removíveis, para fixação de 100 cúpulas de acrílico, sendo 33 localizadas no sarrafo superior, 33 no do meio e 34 no sarrafo inferior.

A substituição dos favos de cria ocorreu a cada dez dias aproximadamente, quando já havia nascido a maioria das operárias. Este manejo consistiu no remanejamento de quatro a cinco favos com cria do ninho inferior para o superior, para manter neste uma boa quantidade de nutrizas destinadas ao cuidado e alimentação das larvas transferidas e espaço no núcleo inferior para que a rainha realizasse a postura. Esse processo se estendeu até o fim da coleta de dados.

Para avaliar os seis suplementos, realizaram-se dois ensaios experimentais. O primeiro entre dezembro de 2007 a fevereiro de 2008 e o segundo de março a maio de 2008. A origem genética das abelhas rainhas não foi levada em consideração, no entanto, todas as rainhas tinham a mesma idade, eram recém-fecundadas e apresentavam um ótimo padrão de postura sobre a recria em produção.

Em cada ensaio, 20 recrias foram divididas aleatoriamente em quatro tratamentos. Nas recrias-controle as abelhas não foram suplementadas. Foram realizadas 15 observações por recria. A unidade experimental foi representada por uma recria.

Preparo dos suplementos

Os suplementos foram elaborados utilizando dois ingredientes proteicos (proteína isolada de soja e levedo de cerveja), dois energéticos (açúcar e mel) e dois lipídicos (óleo de linhaça e palma). Para seleção das fontes foi considerado: valor energético, composição de ácidos graxos essenciais (DeGroot, 1953), teor de proteína bruta, vitaminas e sais minerais (Tabela 1).

Todos os suplementos apresentaram em sua composição quantidades iguais de mel, açúcar, pólen, lecitina de soja e núcleo vitamínico e variáveis das fontes de óleos e proteínas (Tabela 2). Em todos os suplementos foram acrescentadas quantidades suficientes de ácido ascórbico para ajuste do pH a 5,1 (Marchini *et al.*, 2006), saborizantes e aromatizantes para tornar os suplementos mais palatáveis e atrativos. Para atender as exigências nutricionais das abelhas, a quantidade de cada ingrediente para elaboração dos suplementos foi definida, em função da composição química do pólen coletado pelas abelhas (Keeler *et al.*, 2005) e da composição química calculada dos ingredientes selecionados (Tabela 3) considerando que, dentro da colônia, os suplementos seriam metabolizados juntamente com o néctar pelas nutrizes e secretado na forma de geleia real.

As quantidades dos ingredientes selecionados para elaboração dos suplementos estão apresentadas na Tabela 2. A Tabela 3 apresenta a composição química calculada dos suplementos prontos.

Tabela 1. Composição química dos ingredientes selecionados para elaboração dos suplementos

Composição Química	Unidade em 100g	Ingredientes Selecionados								
		Proteína isolada soja	Óleo Linhaça	Óleo Palma	Levedo cerveja	Açúcar	Mel	Pólen	Lecitina de soja	Núcleo vitaminas
Água	G	4,20	0,00	0,00	8,90	0,03	17,10	16,80	0,00	0,00
Calorias	kcal	350,00	900,00	900,00	269,00	387,00	304,00	405,00	850,00	0,00
Carboidratos	G	0,00	0,00	0,00	30,40	99,90	82,40	35,00	0,20	0,00
Fibra total	G	0,00	2,40	0,00	0,00	0,00	0,20	1,10	0,00	0,00
Minerais	G	5,70	0,00	0,00	7,40	0,00	0,60	2,60	0,00	0,00
Cálcio	mg	200,00	0,00	0,00	232,00	1,00	6,00	260,00	10,00	0,00
Fósforo	mg	674,00	0,00	0,00	1597,00	0,00	4,00	430,00	36,00	0,00
Sódio	mg	1000,00	0,00	0,00	605,00	0,00	4,00	200,00	0,00	0,00
Tiamina (B1)	mg	0,30	0,00	0,00	17,60	0,00	0,01	800,00	12,00	22,30
Riboflavina (B2)	mg	0,30	0,00	0,00	6,60	0,02	0,04	1920,00	4,00	160,00
Niacina (B3)	mg	0,40	0,00	0,00	34,60	0,00	0,12	20,00	25,00	980,00
Ác. Pantotênico (B5)	mg	4,20	0,00	0,00	11,30	0,00	0,07	2600,00	0,00	323,40
Piridoxina (B6)	mg	0,80	0,00	0,00	1,60	0,00	0,02	380,00	0,00	81,70
Cianocobalamina B12)	mg	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	500,00	0,00	0,80
Ácido fólico	mg	0,10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1850,00	0,00	8,00
Biotina	mg	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,70	0,00	1,60
Vitamina A	mg	1,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	590,00	0,40	70,00
Vitamina E	mg	10,80	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	20,00	240,00	400,00
Lipídeos totais	G	0,00	100,00	100,00	1,40	0,00	0,00	6,20	40,00	0,00
Palmítico C16:0	G	0,00	0,00	43,50	44,90	0,00	0,00	28,70	11,70	0,00
Oleico C18:1	G	0,00	27,00	36,60	33,90	0,00	0,00	2,90	18,00	0,00
Linoleico C18:2	G	0,00	16,00	9,10	5,10	0,00	0,00	5,40	0,00	0,00
Linolênico 18:3	G	0,00	57,00	0,20	0,60	0,00	0,00	49,50	0,00	0,00
Proteínas	G	90,00	0,00	0,00	49,00	0,00	0,30	26,20	0,00	0,00

Fonte: USDA (2006)

Tabela 2. Quantidade de ingredientes em 100 g do suplemento óleo linhaça e óleo de palma (SLiPa), suplemento óleo de linhaça (SLi), suplemento óleo de palma (SPa), suplemento proteína isolada de soja e levedo de cerveja (SPiLc), suplemento proteína isolada de soja (SPi), suplemento levedo de cerveja (SLc) e controles (C I e C II), fornecidos às colônias de abelhas africanizadas submetidas à produção de geleia real

Componentes (g/100g) - Ensaio I									
TRATAMENTOS	Proteína isolada de soja	Óleos (grama)		Levedo Cerveja	Açúcar	Mel	Pólen	Lecitina de soja	Núcleo de vitaminas
		Linhaça	Palma						
SLiPa	17,5	4,0	4,0	17,5	40,9	10,0	5,0	1,0	0,1
SLi	17,5	8,0	-	17,5	40,9	10,0	5,0	1,0	0,1
SPa	17,5	-	8,0	17,5	40,9	10,0	5,0	1,0	0,1
Controle (C I)	-	-	-	-	50,0	-	-	-	-
Ensaio II									
SPiLc	17,5	4,0	4,0	17,5	40,9	10,0	5,0	1,0	0,1
SPi	35,0	4,0	4,0	0,0	40,9	10,0	5,0	1,0	0,1
SLc	-	4,0	4,0	35,0	40,9	10,0	5,0	1,0	0,1
Controle (C II)	-	-	-	-	50	-	-	-	-

Tabela 3. Composição química calculada do suplemento óleo linhaça e óleo de palma (SLiPa), suplemento óleo de linhaça (SLi), suplemento óleo de palma (SPa), suplemento proteína isolada de soja e levedo de cerveja (SPiLc), suplemento proteína isolada (SPi), suplemento levedo de cerveja (SLc) fornecidos às colônias de abelhas africanizadas

Composição química	Unidade em 100g	Suplementos					
		SLiPa	SLi	SPa	SPiLc	SPi	SLc
Água	g	4,9	4,9	4,9	4,9	4,0	5,7
Calorias	kcal	397,8	397,8	397,8	397,8	411,9	383,6
Carboidratos	g	56,2	56,2	56,2	56,2	50,9	61,5
Fibra total	g	0,2	0,3	0,1	0,2	0,2	0,2
Minerais	g	2,5	2,5	2,5	2,5	2,2	2,8
Cálcio	mg	89,7	89,7	89,7	89,7	84,1	95,3
Fósforo	mg	419,7	419,7	419,7	419,7	258,2	581,2
Sódio	mg	291,3	291,3	291,3	291,3	360,4	222,2
Tiamina (B1)	mg	43,3	43,3	43,3	43,3	40,2	46,3
Riboflavina (B2)	mg	97,4	97,4	97,4	97,4	96,3	98,5
Niacina (B3)	mg	8,4	8,4	8,4	8,4	2,4	14,4
Ác. Pantotênico (B5)	mg	133,0	133,0	133,0	133,0	131,8	134,3
Piridoxina (B6)	mg	19,5	19,5	19,5	19,5	19,4	19,6
Cianocobal (B12)	mg	25,0	25,0	25,0	25,0	25,0	25,0
Ác. fólico	mg	92,5	92,5	92,5	92,5	92,6	92,5
Biotina	mg	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Vitamina A	mg	29,7	29,7	29,7	29,7	29,9	29,6
Vitamina E	mg	5,7	5,7	5,7	5,7	7,6	3,8
Lipídeos totais	g	9,0	9,0	9,0	9,0	8,7	9,2
Palmítico C16:0	g	11,1	9,4	12,9	11,1	3,3	19,0
Oleico C18:1	g	8,8	8,4	9,2	8,8	2,9	14,7
Linoleico C18:2	g	2,2	2,4	1,9	2,2	1,3	3,1
Linolênico 18:3	g	4,9	7,1	2,6	4,9	4,8	5,0
Proteína Bruta	g	25,7	25,7	25,7	25,7	32,8	18,5

Fonte: USDA (2006)

Produção de geleia real

Para produção de geleia real foi utilizado o método modificado de Doolittle (1899) que consiste em transferir larvas de sua célula de origem para cúpulas comerciais de acrílico ou de cera.

Os quadros porta-cúpulas foram introduzidos nas recrias, 24 a 48 h antes da transferência, para ficar com o mesmo cheiro da colônia e enceramento das cúpulas. As larvas destinadas à transferência foram selecionadas de favos de crias provenientes das

colônias fornecedoras de larvas e tinham menos de 36 horas de vida. No momento da transferência, uma gota de geleia real diluída em água destilada (1:1) foi colocada em cada cúpula e a larva foi transferida com auxílio de um estilete metálico. Durante a transferência, a temperatura do laboratório foi controlada a $34 \pm 2^\circ\text{C}$ e a umidade a 60%. Após, os sarrafos foram cuidadosamente devolvidos às recrias.

A coleta da geleia real foi realizada 62 a 68 h após a transferência, com um sistema de sucção a vácuo produzido por um motor elétrico. A geleia real foi estocada em freezer em temperaturas inferiores a -18°C .

Consumo de suplemento

A cada transferência, 75 g de suplemento fresco foi fornecido no interior das recrias pelo alvado. A cada transferência, independente do tratamento, todas as recrias foram suplementadas com 900 mL de xarope de açúcar e água (1:1). Os dados de consumo foram calculados com base nas somas das quantidades fornecidas a cada transferência realizada.

Análise econômica

Para avaliar os resultados desta pesquisa foram usados os seguintes indicadores econômicos: Receita Bruta (RB), Custo Total (CT), Receita Líquida (RL), Relação Benefício-Custo (RB/C) e Taxa de Retorno (TR) (Vianello e Simões, 2002; Santana, 2005). O método utilizado para confecção do orçamento para cada suplemento seguiu método proposto por Hoffmann *et al* (1986) e Noronha (1987).

A quantidade média de produção de geleia real por tratamento foi expressa em gramas por colheita. O ajuste de retorno foi calculado para cada tratamento por meio de uma redução de 10% da produção média final obtida, para descontar a diferença entre o rendimento experimental e o de um apicultor que poderia realizar esse tratamento em seu apiário. A RB foi estimada de acordo com o valor de venda da produção ajustada e calculada multiplicando-se a média de cada tratamento pelo preço que o apicultor poderia receber pelo produto ao vendê-lo. O preço de venda no varejo da geleia real foi fixado em R\$ 1,00 /g, tomados dos preços de venda praticados no mercado de Maringá – PR e adjacências. Assim, o montante a ser recebido pelos apicultores refere-se ao valor da produção comercializada nesses locais.

Para determinação do CT, que consiste na soma das despesas incorridas pelo apicultor na condução da atividade, coletaram-se dados referentes aos coeficientes

técnicos de produção, como gastos com a compra de insumos utilizados para a elaboração dos suplementos e mão-de-obra. As quantidades de ingredientes foram calculadas considerando o consumo de 75 g/recrta, totalizando 375 g por tratamento. Os custos com a suplementação foram expressos em Reais (R\$) por colheita (Tabela 5).

Os valores movimentados com pagamento de mão-de-obra de duas pessoas ao fazer o trabalho, que incluiu as tarefas relacionadas com a coleta da geleia real e transferência de larvas, foram calculados com base no valor do salário mínimo vigente no mês de março de 2009 (R\$ 465,00/ mês).

Ressalte-se que não se considerou a variação de preços no período experimental. Assume-se a hipótese que essas variações dos preços dos insumos e com mão-de-obra se neutralizam ao longo do tempo, mantendo-se constante.

O valor da RL representou o lucro líquido expresso em reais (R\$). Foi calculada subtraindo-se os custos totais variáveis da receita bruta ajustada. A atividade é desejável se a diferença entre os benefícios e custos for positiva, em termos de quantidade de geleia real (em peso médio) obtida em cada tratamento, por colheita realizada (Santana, 2005).

A Relação RB/C consistiu em determinar a relação entre a receita líquida dos benefícios e o valor presente dos custos para cada tratamento. Assim, o suplemento foi considerado viável economicamente, quanto maior fosse esse valor. A RB/C indica quantas unidades de capital investido foi convertido em benefício.

A TR foi calculada comparando-se o fluxo de receitas atualizado de cada tratamento, com os custos totais observados. A TR do investimento foi expressa em reais e representou o ganho que cada real investido em suplemento reverteu em ganho de geleia real. Este diferencial foi transformado em porcentagem (%), para comparação dos suplementos estudados.

Com a determinação dos rendimentos médios dos tratamentos, que variam em termos de custo e benefício líquidos, foi elaborado um orçamento de dados parciais.

Análises estatísticas

As análises estatísticas foram processadas utilizando o software Statistical Analysis System (SAS, 2008). Os dados dos efeitos dos tratamentos sobre a produção total (g), produção por tratamento (g) e rendimento por tratamento estudado, foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e às médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Resultados

Consumo de suplemento e rendimento de produção da geleia real

A quantidade total de suplementos fornecidos e consumidos durante seis meses do período experimental foi de 5.625 g/tratamento, que corresponde a um consumo médio de 25 g de suplemento/colônia/dia. O rendimento total por colheita de geleia real não apresentou correlação com o consumo de suplementos pelas recrias ($P>0,05$). Isto significa que os suplementos, embora tenham sido consumidos igualmente, produziram diferentes efeitos na produção de geleia real (Figura 1). A Tabela 4 apresenta a produção total, a média e o rendimento de produção de geleia real por tratamento nos dois ensaios experimentais.

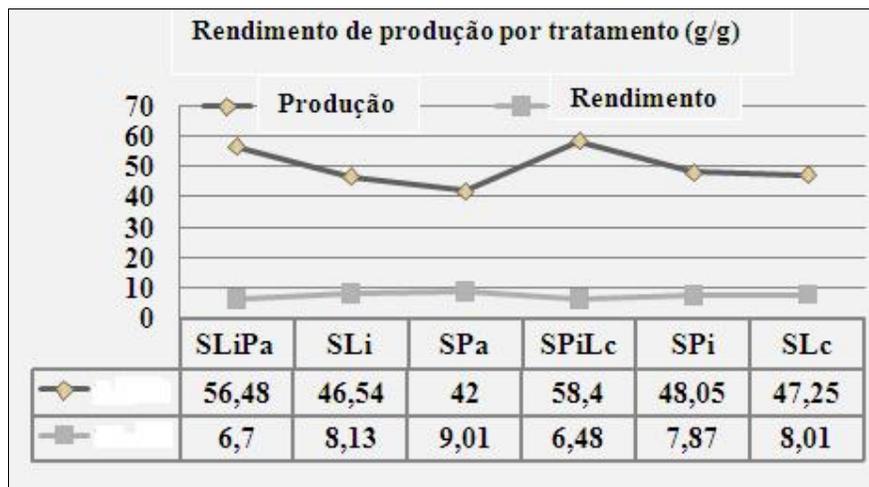


Fig.1. Produção e o rendimento da geleia real de abelhas africanizadas submetidas à produção de geleia real com suplementos elaborados com óleo linhaça e óleo de palma (SLiPa), óleo de linhaça (SLi), óleo de palma (SPa), proteína isolada de soja e levedo de cerveja (SPiLc), proteína isolada de soja (SPi) e levedo de cerveja (SLc)

Tabela 4. Produção total de geleia real (g), média da produção (g) e rendimento (g/g) da geleia real produzida por 20 recrias de abelhas africanizadas cada uma com 100 cúpulas transferidas (n=15) nos dois ensaios experimentais suplementadas com mistura de óleo de palma e óleo de linhaça (SLiPa), óleo de linhaça (SLi), óleo de palma (SPa), proteína isolada de soja com levedo de cerveja (SPiLc), proteína isolada de soja (SPi), levedo de cerveja (SLc) e controles (C I e C II)

TRATAMENTOS								
	Ensaio I				Ensaio II			
Produção	SLiPa	SLi	SPa	C I	SPiLc	SPi	SLc	C II
Total (g)	847,21 A	698,17 B	630,01 CB	476,60 D	876,06 A	720,71 B	708,73 B	521,2 DC
Média de Produção (g)	56,48 A	46,54 B	42,00 BC	31,77 D	58,40 A	48,05 B	47,25 B	34,75 DC
Rendimento (g/g)	6,70 A	8,13 B	9,01 BC	-	6,48 A	7,87 B	8,01 B	-

Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas (P<0,05)

Análise econômica

A Tabela 5 apresenta a estimativa parcial da receita bruta, custos totais, receita líquida, taxa de retorno e relação receita bruta/custo para produção de geleia real nos dois ensaios experimentais.

Tabela 5. Estimativa parcial da Receita Bruta (RB), Custo Total (CT), Receita Líquida (RL), Relação Receita Bruta/Custo (RB/C) e Taxa de Retorno (TR) para produção de geleia real com suplementos elaborados com mistura de óleo de palma e linhaça (SLiPa), óleo de linhaça (SLi), óleo de palma (SPa), mistura de proteína isolada de soja e levedo de cerveja (SPiLc), proteína isolada de soja (SPi), levedo de cerveja (SLc) e controles (C I e C II)

RESULTADOS	SUPLEMENTOS							
	ENSAIO I				ENSAIO II			
	SLiPa	SLi	SPa	C I	SPiLc	SPi	SLc	C II
Média de produção (g)	56,48	46,54	42,00	31,77	58,40	48,05	47,25	34,74
Ajuste a 10% (g)	51,35	42,31	38,18	28,88	53,09	43,68	42,95	31,50
RB (R\$)	51,35	42,31	38,18	28,88	53,09	43,68	42,95	31,50
Proteína de soja (R\$)	0,47	0,47	0,47	0,00	0,47	0,95	0,00	0,00
Levedo de cerveja (R\$)	0,09	0,09	0,09	0,00	0,09	0,09	0,18	0,00
Óleo de linhaça (R\$)	0,14	0,29	0,00	0,00	0,14	0,14	0,14	0,00
Óleo de palma (R\$)	0,02	0,00	0,04	0,00	0,02	0,02	0,02	0,00
Pólen (R\$)	0,25	0,25	0,25	0,00	0,25	0,25	0,25	0,00
Mel (R\$)	0,04	0,04	0,04	0,00	0,04	0,04	0,04	0,00
Açúcar (R\$)	0,05	0,05	0,05	0,00	0,05	0,05	0,05	0,00
Premix (R\$)	0,01	0,01	0,01	0,00	0,01	0,01	0,01	0,00
Custo 375 g (R\$)	3,98	4,44	3,51	0,00	3,98	5,75	2,54	0,00
Mão-de-obra/coleta (R\$)	15,50	15,50	15,50	15,50	15,50	15,50	15,50	15,50
CT (R\$)	20,55	21,14	19,96	15,51	20,55	22,80	18,73	15,51
RL (R\$)	30,81	21,13	18,22	13,32	32,54	20,84	24,18	16,05
RB/C (R\$)	2,50	2,00	1,91	1,86	2,58	1,92	2,29	2,04
TR (%)	77,78	46,49	32,20	0,00	68,06	38,27	35,97	0,00

Discussão

Consumo de suplemento e rendimento de produção da geleia real

Neste estudo, as abelhas aceitaram os seis suplementos indistintamente, sem apresentar qualquer evidência de rejeição, não diferindo nas quantidades consumidas ($P > 0,05$), no entanto, o benefício nutricional expresso em rendimento de produção foi diferenciado para os grupos de abelhas tratadas. Não foram registradas, durante o período experimental, sobras de suplementos em todos os tratamentos. A sobra está intimamente relacionada com características do suplemento oferecido. Segundo Echazarreta (2001) as sobras são observadas quando as características sensoriais ligadas ao odor, sabor, textura e tamanho das partículas não são consideradas na elaboração de um suplemento destinado à nutrição de abelhas.

A produção total de geleia real diferiu ($P < 0,05$), entre os suplementos avaliados com valores mínimos de 476,60 a 521,20 g, nos tratamentos-controle dos dois ensaios experimentais realizados e máximos 847,21 a 876,06 g, para os tratamentos realizados com suplementos mistos elaborados com óleos de linhaça, proteína isolada de soja e levedo de cerveja, respectivamente, não sendo observado diferenças significativas na produção total de geleia real para os demais tratamentos ($P > 0,05$). A menor produção de geleia real foi observada nas recrias suplementadas com óleo de palma, o qual não diferiu ($P < 0,05$) do tratamento-controle realizado no segundo ensaio experimental.

As maiores produções e as melhores taxas de retornos de investimento observadas nos tratamentos com suplementos mistos elaborados com proteína isolada de soja e levedo de cerveja e óleos de linhaça e palma devem-se às particularidades da composição química dos suplementos fornecidos (Tabela 3). Estes resultados demonstram que as abelhas exigem para produção de geleia real além de fontes energéticas, fontes de aminoácidos e ácidos graxos essenciais e a falta ou escassez de qualquer um deles resulta em queda na produção (Sing e Sing, 1996). Segundo Pereira *et al.* (2006), em condições normais, quando ocorre um período de escassez de néctar e pólen, as colônias apresentam baixa na produtividade.

Segundo Pereira *et al.* (2006), se não houver disponibilidade de néctar e pólen no decorrer do ano, a suplementação artificial é vital para produção de geleia real, contudo, neste estudo, foi observado que a suplementação proteica das colônias de abelhas africanizadas constitui fator limitante para uma produção rendável de geleia real, mais que a suplementação energética.

Comparando a produção dos tratamentos-controle com as obtidas com o fornecimento de suplementos mistos elaborados com proteína isolada de soja, levedo de cerveja, óleos de linhaça e palma ficou evidente que o principal obstáculo para a produção de geleia real foi a escassez ou a baixa qualidade do pólen floral disponível nas condições locais de realização deste estudo.

O rendimento de produção que representa a relação entre a quantidade de suplemento consumido (g) e a produção de geleia real obtida (g) foi mais compensatório com o fornecimento do suplemento proteína isolada de soja (7,87 g/g), suplementos com óleo de linhaça com óleo de palma (6,70 g/g) e com proteína isolada de soja com levedo de cerveja (6,48 g/g). Os menores rendimentos foram observados com o fornecimento dos suplementos óleo de palma (8,13 g/g) e óleo de linhaça (9,01 g/g), possivelmente por não atenderem como única fonte de óleo destes suplementos as

exigências nutricionais das colônias. Estes resultados permitem inferir que, por ter uma origem glandular, a produção de geleia real varia de acordo com a qualidade nutricional das fontes disponíveis, portanto, um alimento por mais consumido que seja, nem sempre assegura uma correta nutrição e benefício real para as abelhas.

Análise econômica

A RL da produção de geleia real com suplementação artificial foi analisada em relação às TR médias obtida por colheita. Estes valores representaram uma entrada de R\$ 32,54, 30,81 e 24,18 para os tratamentos com suplementos proteína isolada de soja com levedo de cerveja, óleo de linhaça com óleo de palma e levedo de cerveja, respectivamente. A Receita Líquida foi menor para o suplemento óleo de palma pela baixa produção obtida com esta suplementação enquanto que para os suplementos linhaça e proteína isolada de soja a causa foi o Custo Total de produção dos respectivos suplementos. Estes resultados apontam para a valorização da suplementação mista quanto para aumento da Receita Líquida. A proteína isolada de soja foi a principal causa do aumento no custo do suplemento palma, enquanto que o levedo de cerveja reduziu o custo do suplemento levedo de cerveja. Estas diferenças resultaram em retorno econômico maior para os suplementos proteína isolada de soja com levedo de cerveja, óleo de linhaça com óleo de palma e levedo de cerveja (Tabela 5).

A RB/C, que relacionou as receitas aos custos, constituiu em um indicador de eficiência econômica por apontar o retorno do investimento realizado. O seu valor que representa o ganho de mercado obtido a partir do capital investido (%), também variou em termos de dinheiro (R\$). Comparando com o tratamento-controle, no qual as abelhas receberam apenas suplementação energética (xarope de água e açúcar 1:1), os melhores benefícios foram obtidos com os suplementos proteína isolada de soja com levedo de cerveja (2,58), óleo de linhaça com óleo de palma (2,50) e levedo de cerveja (2,29). Estes valores complementam os indicadores econômicos e permitem aos apicultores interessados a escolha de uma suplementação lucrativa que possibilita a produção de geleia real em locais de baixo fluxo de néctar e pólen.

Todos os índices calculados foram maiores que 1 (um), indicando que o apicultor poderia obter lucro com o fornecimento de qualquer um dos suplementos. Contudo, os valores da relação RB/C para os suplementos com linhaça, com palma e com proteína isolada de soja apresentaram-se muito próximos aos valores obtidos no controle, mostrando que o fornecimento destes suplementos é pouco compensatório.

Segundo Santana (2005), o investimento é tanto mais viável quanto maior que um for o valor observado.

A TR com a suplementação foi analisada em relação aos controles, com mínimo de 32,20% para o tratamento palma e máximos de 77,78 e 68,06% para os tratamentos óleo de linhaça com óleo de palma e proteína isolada de soja com levedo de cerveja. Para o tratamento levedo de cerveja, a TR obtida foi de 35,97% e uma relação RB/C de 2,29, constituindo uma opção barata e compensatória de suplementação.

Em relação aos insumos utilizados para elaboração dos suplementos, a proteína isolada de soja e o óleo de linhaça foram os ingredientes de maior peso na composição dos custos dos suplementos analisados. Misturas de levedo de cerveja, proteína isolada de soja, óleo de linhaça, óleo de palma, açúcar, pólen e mel em suplementos destinados à nutrição de abelhas são aceitáveis e garantem benefícios econômicos superiores na produção de geleia real.

Todos os indicadores de viabilidade, RL, RB/C e TR, auferidos pelos suplementos levedo de cerveja com proteína isolada de soja, óleo de linhaça com óleo de palma e levedo de cerveja são significativos e cobrem com folga os custos correspondentes com a suplementação das recrias. Em função disso, recomenda-se aos apicultores o investimento com a suplementação das colônias de abelhas africanizadas submetidas à produção de geleia real neste sistema de produção, tendo em vista que atualmente, a demanda por geleia real é muito superior à oferta e seria interessante a ampliação deste setor apícola.

De modo geral, os resultados obtidos são de uso prático podendo ser reproduzidos por apicultores que pretendem diversificar a produção apícola ou que possuem propriedades rurais localizadas próximas de canaviais, cultivos de monoculturas ou em locais onde a disponibilidade de néctar e pólen é baixa ou de pouca qualidade nutricional para abelhas africanizadas.

Referências

- BERTOLDI, F C; GONZAGA, L; REIS, V D A (2004) Características físico-químicas do mel de abelhas africanizadas (*Apis mellifera scutellata*), com florada predominante de hortelã-docampo (*Hyptis crenata*) produzido no Pantanal. In *IV Simpósio sobre Recursos Naturais e Sócio - Econômicos do Pantanal*. Corumbá, MS.
- DOOLITTLE, G M (1899) Mr. Doolittle's queen rearing methods. *American Bee Journal* 39: 435-436.
- DEGROOT, A P (1953) Protein and amino acid requirements of the honey bee (*Apis mellifera* L.). *Physiologia Comparata et Oecologia* 3: 197-285.
- FREITAS, J C; ECHAZARRETA, C (2001) Importancia de la granulometría en ingredientes para la alimentación de las abejas. In *XV Seminario Americano de Apicultura*. Tepic, Nayarit, México. pp. 54-58.
- HAYDAK, M H (1970) Honey bee nutrition. *Annual Review of Entomology* 15: 143-156.
- HERBERT JR., E W (1997) Honey bee nutrition. In Graham, J M (ed) *The hive and the honey bee*. Dadant and Sons; Hamilton, Illinois, USA. pp 197-233.
- HOFFMANN, R; SERRANO, O; MARZABEL, E N; THAME, M C; ENGLER, C J J (1986) *Administração da empresa agrícola*. Pioneira; São Paulo, SP. 320 pp.
- MARCHINI, L C; REIS, V D A; MORETI, A C C C (2006) Composição físico-química de amostras de pólen coletado por abelhas africanizadas *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) em Piracicaba, Estado de São Paulo. *Ciência Rural* 36 (3): 949-953.
- NORONHA, J F (1987) *Projetos agropecuários: administração financeira, orçamento e viabilidade econômica*. Campus; Rio de Janeiro, RJ. 289 pp.
- NOGUEIRA-COUTO, R H; COUTO, L A (2006) *Apicultura: manejo e produtos*. Funep; Jaboticabal, SP. 193 pp.
- PEREIRA, F M; FREITAS, B M; VIEIRA NETO, J M; LOPES, M T R; BARBOSA, A L; CAMARGO, R C R (2006) Desenvolvimento de colônias de abelhas com diferentes alimentos proteicos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 41 (1): 1-7.
- PORTELA, E M R; GALLEGU, J C S (1999) *Alimentación de las abejas: Aplicación práctica de los fundamentos fisiológicos de la nutrición*. Portada y gráficos; España, ESP. 195 pp.
- SANGUINO, A C; SANTANA A C; HOMMA, A K O; BARROS, P L C; KATO, O K; AMIN, M M G H (2007) Análise econômica de investimentos em sistemas de produção agroflorestal no estado do Pará. *Revista Ciência Agrária* 47: 23-47
- SANTANA, A C (2005) *Elementos de economia, agronegócio e desenvolvimento local*. UFRA; Belém, PA. 197 pp.
- SAS INSTITUTE INC (2008) *System for microsoft windows*. OnlineDoc® for Windows 9.2. Cary; NC, USA.
- TEEL, R G D; TORRIE, J H (1985) *Bioestatística: principios y procedimientos (2nd edition)*. Editorial McGraw-Hill Latino Americana S.A.; Bogotá, Colombia. 622
- USDA (2006) Nutrient Database for Standard Reference. <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/>. Acessado em: 12 jan. 2007.
- VANTOOR, R F; LITTLEJOHN, R P (1994) Evaluation of management techniques in production on royal jelly honey bees in New Zealand. *Journal of Apicultural Research* 33 (3): 160-166.
- VIANELLO, S M P; SIMÕES, M C (2002) Avaliação econômica de um sistema agroflorestal para implantação no município de Avaí no Estado de São Paulo. *Informações Econômicas* 32 (8): 7-16.

VII – CONCLUSÕES GERAIS

Os resultados indicam que:

A) suplementos elaborados com mistura de óleo de linhaça, óleo de palma, proteína isolada de soja e levedo de cerveja proporcionaram maior aceitação de larvas transferidas e os melhores resultados de produção de geleia real, possivelmente por oferecerem melhor equilíbrio de nutrientes;

B) a suplementação artificial das colônias de abelhas africanizadas não modificou a composição físico-química e microbiológica da geleia real produzida, não havendo restrição para o seu fornecimento, podendo ser indicada em sistemas comerciais de produção de geleia real e durante os períodos de escassez ou baixa qualidade do néctar e/ou pólen;

C) a presença de ácidos graxos poli-insaturados e saturados, aminoácidos essenciais, vitaminas do complexo B em suplementos destinados a abelhas africanizadas proporcionaram ótima aceitação, consumo, redução na taxa de mortalidade e adicional de tempo de longevidade para abelhas confinadas;

D) todos os indicadores de viabilidade, Receita Líquida, relação Receita Bruta/Custo e Taxa de Retorno, auferidas pelos suplementos mistos e suplemento levedo de cerveja são significativos e cobrem com folga os custos correspondentes com a suplementação das recrias. O fornecimento destes suplementos constitui opções lucrativas para diversificação da produção apícola.

VIII – ARTIGO VULGARIZADO

Nutrição de abelhas - manejo e conceitos relacionados para o apicultor suplementar suas abelhas com máxima relação custo/ benefício

No Brasil, as pesquisas com alimentação apícola são recentes. Levando-se em consideração que as abelhas existentes no Brasil são fruto do cruzamento entre européias e africanas, estas abelhas podem ser consideradas diferentes das demais encontradas em outros países do mundo. Desta forma, sua exploração exige cuidados especiais sobretudo quanto sua alimentação tendo em vista que, atualmente, estas abelhas estão sendo forçadas a produzir mais para serem exploradas com finalidade econômica e comercial.

Para se obter boas colheitas e um bom crescimento populacional, as colônias necessitam de um ótimo aporte alimentar para que possa manifestar toda sua capacidade produtiva. Com este objetivo a Universidade Estadual de Maringá (UEM), por meio do Departamento de Zootecnia, Programa de Pós-Graduação em zootecnia, vêm desenvolvendo com seus alunos estudos voltados à nutrição das abelhas africanizadas.

Neste artigo serão repassadas informações importantes para orientar os apicultores quanto a uma adequada nutrição das colônias de abelhas africanizadas de modo a obter maior lucro com a exploração das mesmas.

Primeiramente, é bom lembrar que em ambientes com abundância de recursos naturais, as abelhas independem do homem para crescer e se reproduzir. No entanto, locais com ecossistema destruído, têm obrigado o apicultor a planejar e analisar melhor os ambientes para levar suas abelhas, ou programar uma forma de mantê-las, especialmente, durante os períodos mais críticos de escassez e de baixa qualidade do pólen e/ou do néctar.

Para o sucesso da exploração, o apicultor, deve conhecer as características e opções de alimentação artificial para suas colônias, como uma ferramenta a mais de seu manejo e atualizar-se frequentemente.

Hoje, existem muitas dietas apícolas, porém nem todas, apresentam qualidade ou são devidamente consumidas, isto ocorre em parte, pela falta de pesquisa básica e também pela forte adaptação da abelha ao pólen e néctar como únicas fontes de alimentos na natureza.

É bom lembrar que, ao obter alimento, a abelha pode não estar convenientemente nutrida, por não ingerir todos os nutrientes necessários. Em algumas circunstâncias, uma alimentação incorreta por mais abundante que seja, pode alterar severamente a nutrição e provocar sérios prejuízos. Desta forma, é importante saber com o que, quanto e como podemos suplementar.

Para auxiliar, recomenda-se 10 dicas importantes que o apicultor deve observar ao comprar ou elaborar um suplemento para suas abelhas:

1. O apicultor deve buscar no suplemento, uma mistura de ingredientes digestíveis, isto irá garantir o fornecimento de um balanço de nutrientes para satisfazer as funções vitais de crescimento, reprodução e longevidade das colônias.
2. Os alimentos devem ser fornecidos especialmente em qualidade. Uma colônia em produção consome em média 30 gramas de suplemento por dia. Atenção! Nem sempre uma alimentação abundante assegura uma correta nutrição.
3. Na seleção de um suplemento, lembrar: as abelhas buscam na natureza néctar e pólen, para atender a demanda de energia, aminoácidos, minerais e vitaminas, é imprescindível que o substituto oferecido apresente composição química que contenha todos estes nutrientes;
4. Ofereça a suas abelhas água de boa qualidade, pois, embora não apresente valor nutricional, a água é vital e até mais importante que o próprio néctar ou pólen para a manutenção das diferentes funções vitais do organismo. Para a colônia, a água é fundamental no desenvolvimento da cria, elaboração e secreção da geleia real, e compõe aproximadamente 80% do peso do corpo da abelha adulta, além de desempenhar papel importante na regulação e manutenção da temperatura e umidade relativa do ninho de cria.
5. Como fontes de carboidratos forneça as abelhas os mesmos açúcares encontrados no mel e no néctar. Sacarose (açúcar da cana) é a opção mais segura e barata. Farinhas e/ou farelos de soja, contém altas quantidades de amido e fibras que apresentam baixa digestibilidade, portanto, dependendo

da concentração na dieta podem resultar em efeitos tóxicos desastrosos para nutrição de suas abelhas.

6. Quanto às vitaminas, as mais importantes são: B1, B2, B5, B6, B12, PP, M, C, Colina e Inositol além das vitaminas A e K que desempenham papel importante na produção de geleia real, desenvolvimento normal das crias e longevidade das abelhas – Uma fonte barata e muito apreciada pelas abelhas é o levedo de cerveja;
7. Dos minerais, potássio, fósforo, magnésio e ferro são os mais comumente encontrados no pólen. No corpo das abelhas, destaca-se o potássio e o fósforo. O levedo de cerveja constitui excelente fonte destes minerais, dispensando o uso de sal normalmente adicionado em rações destinadas a suplementação de outras espécies animais;
8. O conteúdo elevado de minerais na dieta pode ser tóxico às abelhas. Existem apicultores que aconselham adicionar sal comum (NaCl) nas dietas das abelhas. É bom lembrar, que seu benefício ainda não foi demonstrado!
9. Como nos mamíferos, todos os insetos necessitam de 20 aminoácidos dos quais 10 são essenciais e devem estar presentes na dieta. São estes: arginina, histidina, isoleucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano e valina. Para um balanço dos mesmos, uma alternativa é combinar o levedo de cerveja, com a proteína isolada de soja.
10. Inclua nos suplementos óleos e gorduras. Uma boa opção é a mistura de óleo de linhaça com óleo de palma. Além de importantes fontes de energia, estas fontes constituem alguns aromas, semelhantes aos encontrados no pólen, capazes de atrair insetos sendo um dos principais fatores responsáveis pelo consumo do suplemento pronto.

Seguindo as regras acima, o apicultor poderá suplementar suas abelhas em regiões ou estações do ano pobres em recursos florais e viabilizar seus apiários para a produção de qualquer tipo de atividade apícola na época de abundância de recursos florais.

APICULTOR - SUCESSO EM SEU EMPREENDIMENTO!