

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE MESTRADO

USO DE RESÍDUOS DO HIDROMEL NA ALIMENTAÇÃO
SUPLEMENTAR DE *Apis mellifera* L. AFRICANIZADA

Miriam Monteiro da Costa

CRUZ DAS ALMAS - BAHIA
JULHO - 2024

**USO DE RESÍDUOS DO HIDROMEL NA ALIMENTAÇÃO
SUPLEMENTAR DE *Apis mellifera* L. AFRICANIZADA**

Miriam Monteiro da Costa
Bacharela em Agroecologia
Universidade Federal de Alagoas, 2022

Dissertação apresentada ao Colegiado
do Programa de Pós-Graduação em
Ciências Agrárias, da Universidade
Federal do Recôncavo da Bahia, como
requisito parcial para a obtenção do
Título de Mestre em Ciências Agrárias
(Área de Concentração: Agricultura
Tropical).

Orientadora: Profa. Dra. Geni da Silva Sodré
Coorientador: Prof. Dr. Carlos Alfredo Lopes de Carvalho
Coorientadora: Dra. Samira Maria Peixoto Cavalcante Silva

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA
JULHO - 2024**

FICHA CATALOGRÁFICA

C837u

Costa, Miriam Monteiro da.

Uso de resíduos do hidromel na alimentação suplementar de *Apis mellifera* L. africanizada / Miriam Monteiro da Costa._ Cruz das Almas, BA, 2024.
88f.; il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias Ambientais e Biológicas, Mestrado em Ciências Agrárias.

Orientadora: Profa. Dra. Geni da Silva Sodré.

Coorientador: Prof. Dr. Carlos Alfredo Lopes de Carvalho.

Coorientadora: Dra. Samira Maria Peixoto Cavalcante Silva.

1.Abelha – Manejo. 2.Abelha – Alimentação e rações.
3.Segurança alimentar e nutricional – Análise. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias Ambientais e Biológicas. II.Título.

CDD: 638.1

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE MESTRADO**

**USO DE RESÍDUOS DO HIDROMEL NA ALIMENTAÇÃO
SUPLEMENTAR DE *Apis mellifera* L. AFRICANIZADA**

Comissão Examinadora da Defesa de Dissertação
Miriam Monteiro da Costa

Aprovada em 19 de julho de 2024

Profa. Dra. Geni da Silva Sodré
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB
Examinadora Interno (Orientadora)

Dra. Marly Silveira Santos
EMulti, Cruz das Almas - BA
Examinadora Externa

 Documento assinado digitalmente
EDMILSON SANTOS SILVA
Data: 02/10/2024 00:28:23-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Edmilson Santos Silva
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB
Examinador Interno

DEDICATÓRIA

A minha saudosa irmã Bia[†], por ter sido um exemplo de perseverança e obstinação. Através de sua coragem, os que estavam sob sua guarda foram protegidos e conseguiram mudar o rumo de suas vidas. Saudades!

AGRADECIMENTOS

Ao meu amado filho Matheus M de Souza, agradeço por ser em todos os momentos difíceis da minha vida, a luz e a força que me guiou até o presente momento;

A minha saudosa irmã Bia Monteiro C. Oliveira[†], agradeço por estar sempre ao meu lado, apoiando, incentivando, acreditando em meu potencial, sendo modelo, de valores e princípios, a serem seguidos. Não há palavras para expressar a gratidão que sinto por essa pessoa que sempre esteve ao meu lado. Saudade eterna;

A minha mãe[†], que me ensinou a ser como o bambu que “se curva, porém, jamais se quebra”;

A todos os meus familiares, pela ajuda em superar os obstáculos enfrentados no percurso da minha vida;

Ao meu eterno orientador, Rafael Navas[†], que antes de fazer a grande viagem, desbravou as portas do conhecimento e, de forma simples, profissional e imparcial, guiou a todos ao seu redor na arte de ser um pesquisador exemplar. Sou imensamente grata por sua orientação, querido professor;

Aos meus professores da graduação, em particular ao professor Dr. Luan Danilo Ferreira de Andrade Melo (meu querido orientador substituto), Dra. Themis Silva e Dr. José Roberto, quero expressar minha profunda gratidão. Sempre me forneceram inspiração para perseverar nos meus estudos. Cada um com suas características únicas, serve como um modelo a ser admirado e seguido;

Minhas amigas de graduação, Ana Carolina e Raquel Melo. Enfrentamos desafios difíceis juntas, mas conseguimos alcançar nossos objetivos. Agradeço por todos os momentos, meninas!

Agradeço imensamente a Ygor dos Santos Oliveira, a dona Maria Caldas e ao senhor Valmir Caldas, amigos que encontrei ao longo dessa jornada. Cada um de vocês trouxe alegria, apoio e momentos memoráveis para minha vida. Obrigado por compartilharem risos, histórias e por serem fontes de conforto;

Aos(as) meus orientadores(as) do Curso de Mestrado: Dra. Geni da Silva Sodré, Dra. Samira S. M. C. Silva e Dr. Carlos Alfredo L. de Carvalho, obrigada pela acolhida, apoio e incentivo. Agradeço por tudo;

Aos professores da Pós-graduação: Dra. Irana Paim Silva, Dr. Ossival Lolato Ribeiro, Dr. Carlos Alberto da Silva Ledo, Dr. Liniker Fernandes da Silva e Dr. Emerson D. Chamb . Grata pelos ensinamentos;

Aos queridos amigos da Pós-graduação: Ediane Rodrigues, Jefferson Alves, Malena Andrade, Vitor Castor, Jessica Ramos, Laércio dos Santos e Milena Conceição. Nossa jornada foi marcada por momentos de alegria, suspiros e até lágrimas. Agradeço profundamente por terem me apoiado e ajudado a superar os desafios que encontramos pelo caminho. Desejo a todos vocês: sucesso, reconhecimento e todo “amor que houver nessa vida”;

A todos da pós-graduação, em especial a mestranda Ariane Ascenso, doutorando Drauzio C. Gama e ao mestrando e técnico José Gabriel F. de Lima, pelo apoio;

A todos os integrantes do Núcleo de Estudo dos Insetos (INSECTA), que me acolheram e contribuíram (direta e indiretamente) para realização desta pesquisa, em especial, nossa querida Maria das Graças (dona Gal), que me proporcionou tantos momentos alegres. Agradeço também, a Mailin Vasconcelos,

Emmanuel Emydio, Nadison Barbosa, Uanderson Gomes e Jackson de Jesus, por suas contribuições;

Ao Grupo de Pesquisa Insecta/UFRB, pela infraestrutura oferecida. Sem esse apoio não seria possível a realização dos trabalhos;

À Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), pela oportunidade de cursar o mestrado nessa conceituada instituição. Meus sinceros agradecimentos;

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo suporte financeiro, fundamental para a manutenção dos trabalhos.

EPÍGRAFE

"Ele dorme. Embora a sorte lhe tenha sido adversa, ele viveu. Morreu quando perdeu seu anjo. Partiu com a mesma simplicidade como a chegada da noite após o dia." Victor Hugo

USO DE RESÍDUOS DO HIDROMEL NA ALIMENTAÇÃO SUPLEMENTAR DE *Apis mellifera* AFRICANIZADA

RESUMO GERAL

Uma alimentação balanceada contribui para a segurança nutricional das abelhas, particularmente as fontes proteicas, de forma a potencializar sua imunidade contra parasitos e patógenos. Nesse contexto, esta pesquisa foi conduzida com o propósito de testar suplementação mineral proteica na prevalência de *Leptus* sp., *Varroa destructor* e *Vairimorpha* sp. em colônias de *Apis mellifera* africanizada, bem como investigar os efeitos da suplementação alimentar com resíduos da produção de hidromel no desenvolvimento dessas colônias. A pesquisa foi conduzida no Núcleo de Estudo dos Insetos - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. O desenho experimental foi inteiramente casualizado, com seis tratamentos e cinco repetições. Os tratamentos foram: T1- sem suplementação alimentar (controle); T2- xarope de sacarose e água; T3- xarope de sacarose e água adicionado de 1g de complexo aminoácido comercial; T4- xarope de sacarose e água adicionado de 1g de resíduo de leveduras; T5- xarope de sacarose e água adicionado de 1g bentonita; T6- xarope de sacarose e água adicionado de 1g de resíduo de leveduras + bentonita. Foi realizada a análise bromatológica dos resíduos do hidromel (leveduras e bentonita), determinando a matéria seca (MS), matéria mineral (MM) e proteína bruta (PB). Os parâmetros avaliados foram: consumo das colônias; peso das colônias; taxa de infestação por ácaros *Leptus* sp. e *V. destructor*; níveis de infecção pelo microsporídio *Vairimorpha* sp.; comportamento higiênico; teor de proteína total das abelhas e mapeamento das áreas com crias e alimento. Os dados da análise bromatológica demonstraram diferentes teores (%) de MS, MM e PB nos tratamentos T4 (20,31; 4,89; 43,55), T5 (7,55; 50,70; 4,86) e T6 (13,41; 42,86; 26,90). O consumo médio dos suplementos foi de 79,20%, e apenas o T1 apresentou diferença significativa no peso das colônias (8,70 kg = inicial; 6,80 kg = final). Houve diferenças significativas na taxa de *V. destructor* em T2 e T3, assim como nos níveis de infecção por *Vairimorpha* sp. em ambos os tratamentos ($p \leq 0,05$). Colônias dos tratamentos T4, T5 e T6 foram consideradas higiênicas. Houve redução significativa no teor de proteína total nos tratamentos: T4 ($p= 0,01031$), T5 ($p= 0,03495$) e T6 ($p= 0,0006928$). Em T1 houve diferença significativa, com diminuição da área de crias ($F_{(5,24)} = 4,4753$; $p= 0,0051$) e aumento da área vazia ($F_{(5,24)} = 2,7359$; $p= 0,043$) ao final do experimento. Em conclusão, colônias dos tratamentos T2 e T3 tiveram aumento nas taxas de *V. destructor* e nos níveis de infecção por *Vairimorpha* sp. As colônias suplementadas com resíduos do hidromel (T4, T5 e T6) tiveram redução na taxa de infestação por *V. destructor* e infecção por *Vairimorpha* sp., além de terem altos percentuais de comportamento higiênico. Níveis proteicos e minerais, ideais para compor a dieta de *A. mellifera* africanizada foram encontrados no resíduo de leveduras (T4), destacando a importância de estudos de resíduos do hidromel como suplementação alternativa para essas abelhas em períodos de restrição alimentar.

Palavras-chave: Doenças das colmeias, Pós-bióticos, Subprodutos da agroindústria.

USE OF HYDROMEL WASTE IN FOOD SUPPLEMENTAL FROM AFRICANIZED *Apis mellifera*

GENERAL ABSTRACT

A balanced diet contributes to the nutritional security of bees, particularly protein sources, in order to enhance their immunity against parasites and pathogens. In this context, this research was conducted with the purpose of testing protein mineral supplementation on the prevalence of *Leptus* sp., *Varroa destructor* and *Vairimorpha* sp. in colonies of Africanized *Apis mellifera*, as well as investigating the effects of dietary supplementation with residues from mead production on the development of these colonies. The research was conducted at the Insect Study Center - Federal University of Recôncavo da Bahia. The experimental design was completely randomized, with six treatments and five replications. The treatments were: T1- without food supplementation (control); T2- sucrose syrup and water; T3- sucrose syrup and water added with 1g of commercial amino acid complex; T4- sucrose syrup and water added with 1g of yeast residue; T5- sucrose syrup and water added with 1g bentonite; T6- sucrose syrup and water added with 1g of yeast residue + bentonite. Bromatological analysis of mead residues (yeast and bentonite) was carried out, determining dry matter (DM), mineral matter (MM) and crude protein (CP). The parameters evaluated were: colony consumption; weight of colonies; *Leptus* sp. mite infestation rate. and *V. destructor*; infection levels by the microsporidian *Vairimorpha* sp.; hygienic behavior; total protein content of bees and mapping of areas with brood and food. Data from bromatological analysis demonstrated different levels (%) of DM, MM and CP in treatments T4 (20.31; 4.89; 43.55), T5 (7.55; 50.70; 4.86) and T6 (13.41; 42.86; 26.90). The average supplement consumption was 79.20%, and only T1 showed a significant difference in colony weight (8.70 kg = initial; 6.80 kg = final). There were significant differences in the rate of *V. destructor* in T2 and T3, as well as in the levels of infection by *Vairimorpha* sp. in both treatments ($p \leq 0.05$). Colonies from treatments T4, T5 and T6 were considered hygienic. There was a significant reduction in total protein content in the treatments: T4 ($p= 0.01031$), T5 ($p= 0.03495$) and T6 ($p= 0.0006928$). In T1 there was a significant difference, with a decrease in the brood area ($F(5,24) = 4.4753$; $p= 0.0051$) and an increase in the empty area ($F(5,24) = 2.7359$; $p= 0.043$) at the end of the experiment. In conclusion, colonies from T2 and T3 treatments had an increase in *V. destructor* rates and infection levels by *Vairimorpha* sp. The colonies supplemented with mead residues (T4, T5 and T6) had a reduction in the rate of infestation by *V. destructor* and infection by *Vairimorpha* sp., in addition to having high percentages of hygienic behavior. Protein and mineral levels, ideal for composing the diet of Africanized *A. mellifera*, were found in the yeast residue (T4), highlighting the importance of studies of mead residues as an alternative supplementation for these bees in periods of food restriction.

Keywords: Agroindustry byproducts, Hive diseases, Postbiotics.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1. Classificação dos níveis de infecção, intensidade e quantidade de esporos/abelhas (mL) de microsporídio *Vairimorpha* sp.....47

Tabela 2. Composição bromatológica do resíduo de leveduras, da bentonita e da mistura resíduo de levedura e bentonita, em percentagem.....49

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1. Esquema do procedimento para fornecimento e avaliação (pesagem) do consumo suplementar (tratamentos) das colônias *Apis mellifera* para se determinar a taxa de consumo semanal dos tratamentos (peso inicial – peso final) de cada colônia.....44

Figura 2. A) Média de consumo total (kg) do alimento em cada tratamento; B) peso das colônias de *Apis*, antes e depois dos tratamentos.....51

Figura 3. Taxa de infestação por *Leptus* sp., antes e depois dos tratamentos nas colônias de *Apis mellifera*, usadas no experimento.....53

Figura 4. Taxa de infestação por *Varroa destructor* antes e depois dos tratamentos nas colônias de *Apis mellifera*, usadas no experimento.....54

Figura 5. O número médio de esporos por abelha, do microsporídio *Vairimorpha* sp. antes e depois da aplicação dos tratamentos nas colônias de *Apis mellifera* usadas no experimento..... 56

Figura 6. Percentagem de colônias *Apis mellifera* e seus respectivos níveis de infecção por microsporídio *Vairimorpha* sp. antes e depois da aplicação dos tratamentos57

CAPÍTULO 2

Figura 1. A) Procedimentos de padronização: apiário da Fazenda Experimental da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia; B) Marcação das rainhas identificação de quadros das colmeias de *A. mellifera* africanizada.....70

Figura 2. A) Demarcação da área para perfuração das células com cria operculada (área A) e demarcação da área controle (área B) no formato de losango (paralelogramo), totalizando 100 células (10 x 10 fileiras) para avaliação do comportamento higiênico; B1) Área “A” com 100 células perfuradas com alfinete entomológico e área “B” com células não perfuradas (controle); B2) Avaliação das áreas demarcadas pelo teste de CH apresentando a área “A” higienizada pelas abelhas em 24h após a perfuração e área “B” (controle) ainda fechada.....71

Figura 3. Análise de proteína total nas abelhas utilizadas nessa pesquisa: A) dissecação das abelhas para retirada da bolsa de veneno e maceração; B) 0,05g da amostra dos abdomens macerados, armazenados em *eppendorf*[®]; C) transferência das amostras, com adição de 98µL H₂O deionizada para *eppendorf*[®]; D) 25µL das amostras, distribuídas em poços da microplaca mais reagente para posterior leitura da absorbância.....73

Figura 4. Mapeamento dos quadros das áreas de alimento e crias: A) captura de imagem dos quadros, por fotografias; B) Mensuração das áreas (total, vazia, alimento, crias) através do software ImageJ®74

Figura 5. Mensuração das taxas, em porcentagem, de comportamento higiênico antes e depois do experimento, nas colônias pertencentes aos tratamentos T4: resíduo de leveduras; T5: resíduo de bentonita e T6: composto de resíduos leveduras e bentonita.....76

Figura 6. Concentração de proteína total nas amostras (abdomens) das abelhas *Apis mellifera* africanizadas de cada colônia, antes e depois da aplicação dos tratamentos.....78

Figura 7. Mensuração das variáveis área total de favos e área de alimento nos favos de colônias *Apis mellifera* africanizadas, antes e após a aplicação dos tratamentos.....81

Figura 8. Mensuração das variáveis “área de crias e área vazia” nos favos das colônias de *Apis mellifera* africanizadas, antes e após a aplicação dos tratamentos.....82

SUMÁRIO

1.0	INTRODUÇÃO GERAL	15
2.0	REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1	Abelhas.....	17
2.2	Ácaros <i>Leptus</i> sp. e <i>Varroa destructor</i> - impacto na saúde das abelhas	17
2.3	Microsporídios <i>Vairimorpha</i> sp. e o impacto na saúde das abelhas	19
2.4	Comportamento higiênico (CH) e proteína total no desenvolvimento das abelhas	19
2.5	Nutrição das abelhas	20
2.6	Alimento natural e alimento artificial na apicultura	22
2.7	As alternativas alimentares para manutenção das colônias <i>Apis melliferas</i>	23
2.8	Subproduto da colmeia: produção do hidromel e seus resíduos	25
3.0	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28
	CAPÍTULO 1 – Influência da suplementação alimentar na prevalência de parasitos e patógeno em colônias de <i>Apis mellifera</i> L. africanizada¹	37
	RESUMO	37
	ABSTRACT	38
1.0	INTRODUÇÃO.....	39
2.0	MATERIAL E MÉTODOS	42
2.1	Local de estudo e desenho experimental	42
2.2	Procedimentos para o preparo dos tratamentos suplementares.....	42
2.2.1	Análises bromatológicas do resíduo de leveduras e da bentonita.....	42
2.2.2	Formulação dos tratamentos	43
2.2.3	Fornecimento e avaliação do consumo nos tratamentos	43
2.3	Pesagem das colônias.....	45
2.4	Coleta de amostras nas colônias.....	45
2.5	Determinação da infestação por ácaros <i>Leptus</i> sp. e <i>Varroa destructor</i>	45
2.6	Determinação dos níveis de infecção por <i>Vairimorpha</i> sp.	46
2.7	Análises estatísticas	47
3.0	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	49
3.1	Análises bromatológicas do resíduo de leveduras e da bentonita	49
3.2	Avaliação do consumo dos suplementos e peso das colônias	51
3.3	Taxas de infestação por ácaros <i>Leptus</i> sp. e <i>Varroa destructor</i>	53
3.4	Níveis de infecção por microsporídio <i>Vairimorpha</i> sp.	55
4.0	CONCLUSÕES.....	59
5.0	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59
	CAPÍTULO 2 – Suplementação artificial e seus efeitos no desenvolvimento de <i>Apis mellifera</i> L. africanizada	66
	RESUMO	66
	ABSTRACT	67
1.0	INTRODUÇÃO.....	68
2.0	MATERIAL E MÉTODOS	69
2.1	Local de estudo.....	69
2.2	Colônias e design experimental	69
2.3	Comportamento Higiênico.....	70

2.4	Análise de proteína total nas abelhas	72
2.5	Mapeamento dos quadros das colônias experimentais	73
2.6	Análises Estatísticas	74
2.6.1	Proteína total nas colônias de <i>Apis mellifera</i>	74
2.6.2	Mapeamento dos quadros nas colônias de <i>Apis mellifera</i>	75
3.0	RESULTADOS E DISCUSSÃO	75
3.1	Taxas de Comportamento Higiénico (CH) nas colônias de <i>Apis mellifera</i>	75
3.2	Análise de proteína total nas abelhas <i>Apis mellifera</i>	77
3.3	Mapeamento dos quadros nas colônias de <i>Apis mellifera</i> africanizada... ..	80
4.0	CONCLUSÕES	84
5.0	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	84
	CONSIDERAÇÕES FINAIS	88

1. INTRODUÇÃO GERAL

Os polinizadores desempenham papel importante na reprodução de quase 90% das plantas com flores. Especificamente, os insetos atuam na polinização de culturas como: leguminosas, frutíferas e graníferas contribuindo em torno de 30% para economia mundial na produção de alimentos, gerando cerca de 168 bilhões de dólares/ano (PORTO *et al.*, 2020). Além disso, as culturas que depende da polinização por insetos são consideradas mais valiosa em comparação com as culturas não dependentes de polinizadores, isso por garantir aspectos como qualidade dos frutos dessas culturas (MEENA *et al.*, 2018).

Países como o Brasil, que cultivam cacau, soja, café, amêndoas e girassol, consideradas commodities, se beneficia da polinização por abelhas (GEERAERT *et al.*, 2020). Dentre elas, *Apis mellifera* é considerada como polinizadora de culturas mais eficaz em todo o mundo (HUNG *et al.*, 2018). Esse benefício resulta do mutualismo entre plantas e abelhas, que se baseia na troca de néctar e pólen. As abelhas têm preferência por flores que possuam néctar e pólen em abundância, facilitando a polinização das culturas visitadas. Em retribuição as plantas fornecem os recursos alimentares necessários para as abelhas, o que contribui para o crescimento populacional das colônias e o desempenho no forrageamento (GHOSH; JEON; JUNG, 2020). Desta forma, tanto a produção agrícola, quanto a nutrição desses polinizadores são favorecidas.

A segurança nutricional das abelhas está diretamente ligada à quantidade de alimentos armazenados na colmeia, especialmente a reserva de pólen, que influencia diretamente na produção de geleia real, uma substância rica em nutrientes, como proteínas, vitaminas e hormônios. Uma dieta diversificada, a partir da variedade floral, fornece às abelhas pólen e néctar ricos em nutrientes como proteínas e minerais em quantidades adequadas (PERERA; KARUNARATNE, 2019; SHRESTHA *et al.*, 2020).

Fatores como a expansão urbana, o uso excessivo de agroquímicos (HAN *et al.*, 2019), o desmatamento e a consequente redução dos locais para nidificação e dos recursos tróficos, têm alertado os pesquisadores quanto aos possíveis impactos negativos nas colônias de *A. mellifera*, pois esses fatores combinados modificam a fisiologia desses insetos, afetam suas populações, além de impactar na biodiversidade, no setor agrícola e apícola (LIN *et al.*, 2024).

Uma colônia bem nutrida fortalece o sistema imunológico das abelhas conferindo-lhes resistência contra parasitos e patógenos (CASTELLI *et al.*, 2020). Entretanto, dietas artificiais, deficientes em nutrientes, usadas para alimentar as abelhas durante a redução da flora apícola, podem ter efeitos prejudiciais (LANDAVERDE; RODRÍGUEZ; PARRELLA, 2023), tais como o aumento de hemócitos granulares na hemolinfa e a redução da atividade metabólica. Esses efeitos comprometem o desenvolvimento e a saúde das colônias (YAZLOVYTSKA *et al.*, 2023).

No contexto apresentado, o presente estudo testou resíduos de subproduto da colmeia, o hidromel, na alimentação das abelhas *Apis mellifera* africanizada, de forma a verificar os impactos dessa dieta na saúde e no desenvolvimento das colônias. Baseando-se nas descobertas de que dietas ricas em proteínas e minerais conferem segurança alimentar às abelhas, esta pesquisa sugeriu que: colônias de *Apis mellifera* africanizada suplementadas com resíduos da produção de hidromel, que contêm proteínas e minerais, reduziriam a prevalência de *Varroa destructor*, *Leptus* sp. e *Vairimorpha* sp.; que aumentariam o teor de proteína total nas abelhas, as áreas de crias e as áreas de alimentos, em comparação com colônias suplementadas com alimentos tradicionais e com o controle.

2.0 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Abelhas

Pertencentes à ordem Hymenoptera as abelhas são agentes polinizadores que exercem papel fundamental para biodiversidade e ecossistemas (WANG *et al.*, 2020). Esses insetos são divididos em dois grupos principais: Abelhas solitárias, que não formam colônias e não têm divisão de castas, realizando todas as tarefas de forma individual; e abelhas sociais, que vivem em colônias organizadas, como as *Apis mellifera*. Diferentemente das solitárias, essas colônias são divididas em castas constituídas por rainha, operárias e zangões, cada membro desempenha atividades específicas e formam um superorganismo eficiente (THAMM *et al.*, 2023).

2.2 Ácaros *Leptus* sp. e *Varroa destructor* - impacto na saúde das abelhas

Dentre os ácaros, *Leptus* sp. (Acari: Erythraeidae) é um ectoparasito de diferentes insetos. Existem 281 espécies conhecidas, com 227 delas identificadas somente por suas larvas. Seu ciclo de vida inclui seis estágios: ovo, pré-larva, larva, protoninfa, deutoninfa e tritoninfa. As fêmeas dos ácaros depositam ovos no solo, onde eclodem e as larvas fixam-se nas abelhas quando elas realizam o forrageamento em busca de recursos alimentícios. Esses ácaros parasitam *A. mellifera* somente na fase larval (SALVATIERRA; ALMEIDA, 2017; BERNARD; FELSKA; MAKOL, 2019).

As larvas de *Leptus* sp. parasitam as abelhas adultas campeiras, perfuram suas cutículas, se alimentam da hemolinfa criando um sistema de tubos ramificados no corpo da abelha hospedeira, o que resulta em operárias visivelmente menores (MARTÍNEZ *et al.*, 2024). Além disso, essas larvas podem transmitir a bactéria *Spiroplasma* que compromete o sistema imunológico, a reprodução e a longevidade das abelhas (FRANÇA, 2021). Após completar a metamorfose larval, o ácaro volta para o solo na fase de deutoninfa para concluir seu ciclo de vida (TORRICO-BAZOBERRY *et al.*, 2020).

O ácaro mais importante para as abelhas *A. mellifera* é o *V. destructor* que, aparentemente, não prejudica severamente as colônias do poli-híbrido *A. mellifera* africanizada, quando comparado com as subespécies europeias. Porém ele é um

ectoparasito, que também depende das colônias de abelhas para sobreviver. Sua reprodução está relacionada a sua habilidade de explorar as células de cria das operárias para se reproduzir e a capacidade de se estabelecer em novas colônias (CAN; SABOORI, 2023; WANG *et al.*, 2020).

Pouco antes da célula de cria ser operculada pelas abelhas nutrizas, um ácaro fêmea maduro entra na célula, perfura a pupa (cria) para se alimentar dos nutrientes contidos no seu corpo gorduroso (LING *et al.*, 2023). Dois dias após invadir a célula de cria (já operculada) essa fêmea madura realizará postura de um ovo de macho e posteriormente a cada 24h (aproximadamente) realizará postura de mais quatro a cinco ovos de fêmeas. Todos os indivíduos dentro da célula se alimentaram do corpo gorduroso da pupa (TRUONG *et al.*, 2023; LITTLE; SHUTLER; WILLIAMS, 2022). Com as ninfas maduras, sexualmente, o macho consegue fecundar de três a quatro ninfas antes de finalizar seu ciclo de vida. Ao final do desenvolvimento as fêmeas fecundadas, juntamente com a fêmea madura e a abelha desenvolvida, emergirão do alvéolo. As fêmeas emergidas invadirão novas células de crias ou migrarão para outras colônias e assim iniciar um novo ciclo reprodutivo do *V. destructor* (WU *et al.*, 2023; HAN *et al.*, 2024).

Ferimentos nas abelhas causados pelo *V. destructor* servem como entrada para vírus como *Acute Bee Paralysis Virus* (ABPV), *Kashmir Bee Virus* (KBV) e *Deformed Wing Virus* (DWV). O DWV é o causador de asas defeituosas e vida curta às abelhas, levando à perda de colônias. O DWV-B é virulento na Europa, enquanto o DWV-A causa perdas de colônias nos EUA. As variantes interagem de formas diferentes com o *V. destructor*, onde a DWV-B consegue se replicar nesse hospedeiro (BEAUREPAIRE *et al.* 2020; KEVILL *et al.*, 2019; RYABOV *et al.*, 2019). Embora o DWV-B torne as pupas mais susceptíveis à remoção pela imunidade social, ele prejudica a função cognitiva das abelhas adultas, diminuindo a eficiência da higiene social das *A. mellifera* (GISDER *et al.* 2018).

De uma forma geral, as *A. mellifera* africanizadas são mais tolerantes ao *V. destructor*, justamente por seu comportamento higiênico (CH) e de grooming (habilidade de identificar e remover ectoparasitos tanto em si mesmas quanto em outras abelhas), estando esses comportamentos relacionados com a genética da rainha (MAUCOURT *et al.*, 2023; SOBRINHO *et al.*, 2023).

2.3 Microsporídios *Vairimorpha* sp. e o impacto na saúde das abelhas

Os microsporídios *Vairimorpha* sp. são parasitas patogênicos que causam doenças nas colônias de *A. mellifera*. Anteriormente, esses patógenos eram classificados no gênero *Nosema*, mas foram recentemente classificados como parte do gênero *Vairimorpha* devido a estudos filogenéticos. Três espécies de *Vairimorpha* infectam abelhas melíferas: *V. apis*, *V. ceranae* e *V. neumannii*, com diferenças em doenças, distribuição geográfica e sintomas clínicos (TOKAREV *et al.*, 2020; GEORGI *et al.*, 2022; PROUTY, 2023).

A nosebose, causada pelos microsporídios de *Vairimorpha* sp. é uma doença comum em abelhas ocidentais. Inicialmente, acreditava-se que apenas *V. apis* infectava abelhas ocidentais, mas *V. ceranae* foi descoberto em abelhas asiáticas e, posteriormente, também infectou abelhas ocidentais, suplantando *V. apis* em várias populações de abelhas em todo o mundo (URUEÑA; BLASCO-LAVILLA; DE LA RÚA, 2023).

Os microsporídios *Vairimorpha* sp. se reproduzem no intestino médio das abelhas adultas, resultando na destruição do epitélio intestinal, problemas digestivos, desnutrição, envelhecimento prematuro e redução da vida útil das abelhas infectadas. Nas colônias, a infecção prejudica o tamanho, a capacidade de criação e a produção de mel (PTASZYŃSKA; GANCARZ, 2023).

2.4 Comportamento higiênico (CH) e proteína total no desenvolvimento das abelhas

As operárias da espécie *A. mellifera* são notavelmente habilidosas em identificar e remover larvas doentes, danificadas ou mortas de células operculadas. Pela observação dessa característica natural entre as abelhas, foi desenvolvida a técnica para avaliação desse comportamento nas colônias de *A. mellifera* L. Esse teste de comportamento realizado por meio de técnicas higiênicas como a perfuração, resulta na formação de pequenos orifícios nas células e na liberação de fluido corporal das crias tratadas, servindo de estímulo para limpeza das células pelas operárias faxineiras (SELTZER *et al.*, 2023).

Algumas abelhas, devido à sua sensibilidade olfativa, detectam os estímulos de ninhadas doentes e abrem as células danificadas, enquanto outras, menos sensíveis, recobrem as células, aparentemente ignorando o problema. Em casos extremos, a abertura excessiva de células pode ocorrer, mesmo em ninhadas

saudáveis, indicando possível disfunção na higiene da colônia (GRAMACHO; SPIVAK, 2003).

As operárias que removem indivíduos infectados atuam de forma semelhante a um mecanismo de defesa para evitar que a infecção se espalhe pela colônia, preservando a saúde e o desenvolvimento do grupo limitando o crescimento de parasitos e infecção por patógenos (SPIVAK; DANKA, 2021).

As abelhas mantêm equilíbrio na colônia por meio de comportamento higiênico e por instintos, essenciais para controlar doenças. Estudos genéticos destacam genes relacionados à remoção de pupas infectadas, enquanto a imunidade natural, centrada em peptídeos antimicrobianos, destaca a importância da lisozima na digestão bacteriana e proteína total da hemolinfa, na saúde das abelhas. Outros fatores como idade, dietas e patógenos impactam a quantidade de proteína nas abelhas (ELFAR *et al.*, 2023; LAZAROV; VELEVA; ZHELYAZKOVA, 2020; MOKARRAMAT-YAZDI *et al.*, 2020).

Estudos recentes, sobre suplementação proteica e sua ação no metabolismo das abelhas e no desenvolvimento das colônias de *A. mellifera*, citam que os teores de proteínas na hemolinfa e corpos gordurosos, desses insetos, são usados como indicadores confiáveis do seu estado nutricional (BASUALDO *et al.*, 2013). Os corpos gordurosos desempenham papel importante na síntese de proteínas e peptídeos antimicrobianos, incluindo a possibilidade de acumulação de vitelogenina, uma proteína de reserva empregada em diversos processos metabólicos, inclusive, no desenvolvimento embrionário e na síntese de alimento para as crias (BARRAGÁN; BASUALDO; RODRÍGUEZ, 2022).

2.5 Nutrição das abelhas

A alimentação natural das abelhas *A. mellifera* é dividida em duas categorias: o néctar e o pólen (BONOAN; GONZALEZ; STARKS, 2020). O néctar, constitui a principal fonte de carboidratos, rico em sacarose, que através da invertase e amilase é convertido em glicose e frutose para fornecer energia. O pólen, cujo teor de proteínas varia de 2,5% a 61%, conforme sua fonte botânica (TSURUDA; CHAKRABARTI; SAGILI, 2021), provê às abelhas, proteínas, lipídios, vitaminas, esteróis vitais e diversos micronutrientes necessários para a estabilidade nutricional das abelhas (VAUDO *et al.*, 2020; KHAN *et al.*, 2021).

As abelhas se alimentam, principalmente, de água e matéria seca, composta por matéria orgânica e material mineral.

A matéria orgânica compreende os glicídios (açúcares), lipídios (gordura) que são convertidos em açúcares simples pela enzima lipase e atuam no transporte e armazenamento (DRANCA; URSACHI; OROIAN, 2020; DESCAMPS *et al.*, 2021). As proteínas são lisadas pela protease para atuarem na construção dos tecidos (AYLANC; FALCÃO; VILAS-BOAS, 2023) e as vitaminas (B2, B6, C) são essenciais para a nutrição, reprodução e fortalecimento imunológico das abelhas.

O material mineral compreende os macronutrientes e micronutrientes (KIELISZEK *et al.*, 2018; THAKUR; NANDA, 2020) que mantêm o equilíbrio celular e contribuem para o equilíbrio nutricional das colônias (KHALIFA *et al.*, 2020).

Insetos, no geral, enfrentam desafios ao equilibrar os nutrientes devido à variação na alimentação, aos fatores como temperatura, a umidade (JALEEL *et al.*, 2020). Além disso, a infestação de ácaros parasitos e a infecção por fungos e vírus afetam a disponibilidade de nutrientes (GEORGI *et al.*, 2022; TRAYNOR *et al.*, 2020) impactando a saúde das abelhas e influenciando o desenvolvimento e comportamento das colônias (PAPEŽÍKOVÁ *et al.*, 2020).

Para conferir segurança nutricional e resistência das abelhas à agentes estressores, como pragas e doenças é necessária uma alimentação balanceada. Porém, na criação racional de abelhas, após a colheita de mel, parte dos sacarídeos são substituídos por xaropes de água e açúcar (SMART; OTTO; LUNDGREN, 2019). Além dos xaropes, suplementos proteicos, como os "hambúrgueres" à base de soja e milho estão disponíveis no mercado e variam de conteúdo, havendo uma demanda significativa por esses alimentos comerciais na apicultura (ZHANG *et al.*, 2023).

Enquanto alguns suplementos comerciais atendem às exigências funcionais de 20-30% de proteína em comparação ao pólen, muitos apicultores criam misturas próprias, quase sempre sem critérios técnicos de qualidade e quantidade, resultando em composições frequentemente abaixo do teor proteico mínimo (TELLERÍA *et al.*, 2019). Esse cenário tem incentivado estudos sobre os impactos dos suplementos na saúde das abelhas, incluindo sua influência na prevalência de microsporídios e ácaros nas colônias alimentadas com essas dietas chamadas de "artificiais" (PEIRSON *et al.*, 2023).

2.6 Alimento natural e alimento artificial na apicultura

As alterações na flora apícola, decorrentes de mudanças paisagísticas e da agricultura intensiva podem repercutir nas populações de abelhas (PRENDERGAST; DIXON; BATEMAN, 2022). A saúde fisiológica e a resistência das colônias, como as de *A. mellifera*, estão intrinsecamente ligadas à presença destas fontes de nutrientes naturais no ambiente (BEGUM *et al.*, 2023).

No ambiente natural, as abelhas buscam local protegido e constroem suas colmeias em troncos ou em galhos (CUNNINGHAM *et al.*, 2022), enquanto na criação racional de abelhas, os enxames são capturados e introduzidos em caixas de madeira (colmeias), padrão Langstroth (MEIKLE; BARG; WEISS, 2022; FATHY, 2023). Em ambas situações, as abelhas coletam néctar e pólen que, com adição de água e enzimas resulta num alimento conhecido como pão de abelha, rico em nutrientes essenciais (KIM *et al.*, 2022) e vital para a atividade imunológica e funções fisiológicas da colônia (DE JONG *et al.*, 2019).

A falta de alimentos naturais devido a fatores ambientais, pode resultar na diminuição de recursos de alimentos e consequentemente numa dieta deficiente (PAIVA *et al.*, 2019) havendo necessidade de introdução de suplementação artificial que pode ser energético ou proteico (TOPAL *et al.*, 2022; PARAY *et al.*, 2021).

A suplementação artificial ocorre em determinadas épocas do ano variando conforme a região geográfica, a vegetação e o clima local (DEQUENNE; PHILIPPART; CANI, 2022; SAYED *et al.*, 2022) e deve ser rica em carboidratos e proteínas, para evitar o declínio das populações de abelhas e redução dos produtos da colmeia (TUCUCH-HAAS *et al.*, 2020; UTRERA *et al.*, 2020).

A maioria das suplementações proteicas comerciais são à base de ervilha em pó, farelo de arroz, ou farinha de soja e milho, e são oferecidos às colônias em forma de hambúrgueres (bifes) que são utilizados para a manutenção das abelhas e não têm a finalidade de aumentar o enxame, apenas mantê-los para que os apicultores não os percam em períodos atípicos ou quebra no fluxo de entrada natural de alimentos (TSURUDA; CHAKRABARTI; SAGILI, 2021).

Os alimentos de subsistência também são representados por energéticos à base de açúcares e podem ser utilizados de forma direta, como os açúcares refinados ou VHP, sobre alimentadores, dentro das colmeias (BORTOLOTTI; POŠĆIĆ; BOGO, 2020). No momento de necessidade, as abelhas adicionam água ao açúcar disponível e realizam a mistura desses produtos, convertendo-os em

açúcares mais simples (glicose e frutose) para sua alimentação (KUMARI *et al.*, 2023).

Outras misturas são utilizadas na alimentação das *A. mellifera* africanizadas e podem ser sólidos, como mel com adição de açúcar ou enriquecido com leveduras de cerveja, e alimentos líquidos, como xaropes com água e açúcar, em proporções variadas.

Dependendo da finalidade os açúcares podem ser misturados à frio ou à quente, no caso do açúcar invertido (FRIZZERA *et al.*, 2020). Porém, a qualidade e os tipos variam e a forma de processar esses xaropes geram preocupações com o 5-hidroximetilfurfural (HMF), um composto orgânico que demonstrou ser prejudicial às abelhas adultas quando presente em concentração elevada (HMF > 900 ppm) (BUGAROVA *et al.*, 2021).

2.7 As alternativas alimentares para manutenção das colônias *Apis mellifera*

À medida que os desafios ambientais ameaçam as populações de abelhas em todo o mundo, pesquisadores e apicultores têm buscado desenvolver novas fontes de alimento que possam sustentar esses insetos (DECOURTYE *et al.*, 2019). Buscas por novas fontes alimentares abrangem desde a pesquisa de plantas e flores com alto valor nutricional até a criação de formulações específicas de néctar e pólen. Ao explorar novas opções alimentares, pesquisas buscam garantir, principalmente, a saúde das abelhas, a produtividade das culturas agrícolas que dependem da polinização e a oferta dos produtos e subprodutos das colmeias de *A. mellifera* (PARREÑO *et al.*, 2022; KIELISZEK *et al.*, 2023).

Nos últimos anos, houve um aumento do reconhecimento da importância de apoiar, tanto a criação racional de abelhas, quanto as abelhas em seu ambiente natural (abelhas selvagens), devido ao seu papel na agricultura e na reprodução de plantas em sistemas naturais (AIZEN *et al.*, 2019). Com isso, estudos sobre os impactos dos alimentos suplementares às colônias *A. mellifera* ganharam relevância no meio científico (STONER *et al.*, 2022).

Existem estudos com novas fontes de alimentos para abelhas utilizando compostos bioativos da microbiota intestinal das abelhas, como probióticos e pós-bióticos, visando melhorar o crescimento e a saúde de *A. mellifera*, além de prevenir

doenças nas colônias (SACCÀ; LODESANI, 2020). Porém, até o momento, são poucos os estudos focados nos pós-bióticos usados como suplementos alimentares mostrando impactos positivos na saúde das abelhas (GARCÍA-VICENTE *et al.*, 2023).

Pós-bióticos são produtos derivados de alimentos contendo substâncias bioativas produzidas na fase de fermentação dos probióticos, que por sua vez são bactérias ou leveduras vivas benéficas à saúde quando consumidas adequadamente. Os pós-bióticos, sendo produtos resultantes da atividade metabólica desses microrganismos também contêm compostos bioativos benéficos ao sistema gastrointestinal. Eles podem ser encontrados em alimentos fermentados, suplementos ou produtos afins. Como os pós-bióticos não contêm microrganismos vivos, os riscos associados à sua ingestão são minimizados (ŻÓŁKIEWICZ *et al.*, 2020).

Ainda que os pós-bióticos sejam pouco estudados, observa-se um crescente avanço na utilização de resíduos com compostos bioativos da agroindústria na alimentação de outros insetos. Dietas compostas por resíduo de cerveja (seco) e leveduras de cerveja (cru), que são ricos em proteínas, foram utilizadas na criação de larvas de insetos das ordens Lepidoptera, Coleoptera e Diptera, destinadas à alimentação humana por meio da entomofagia (BOUKID *et al.*, 2021).

Um estudo realizado por Andreadis *et al.* (2022) investigou o uso de resíduos de subproduto como alternativas ao farelo de trigo na alimentação de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae). Também foram testados resíduos do processamento de azeite e resíduos parcialmente degradados de plantas aromáticas e medicinais. Os resultados mostraram melhorias no valor nutricional, no crescimento das larvas de *T. molitor* e atividade antioxidante nesses resíduos. Esses estudos destacam a importância do uso consciente dos recursos naturais e redução do desperdício, com o aproveitamento dos subprodutos e seus resíduos na criação de insetos.

Na mesma abordagem, o uso dos resíduos da produção de suco de uva, que geralmente são descartados pela agroindústria, foi usado na criação e enriquecimento nutricional de larvas de *Zophobas atratus* (Coleoptera), também usado na entomofagia (NASCIMENTO *et al.*, 2022).

Há pesquisas comprovando que os resíduos (bagaço) da produção de suco de uva e do vinho, apresentaram em sua composição propriedades antioxidantes, compostos fenólicos, lipídios, fibras, minerais, carboidratos, e também proteínas, as quais foram encontradas em quantidades que variam de 11% a 13%, dependendo da variedade da uva. Esses compostos foram avaliados como sendo adequados para dieta suplementar e complementar em alimentos funcionais (BALLI *et al.*, 2021).

2.8 Subproduto da colmeia: produção do hidromel e seus resíduos

Produtos apícolas como: própolis, geleia real, apitoxina, pólen apícola e mel, bem como seus componentes bioativos, têm potencial nutracêutico, agindo na regulação de mediadores inflamatórios e na melhoria da resposta imune, demonstrados em estudos “pré-clínicos, in vivo e clínicos” com animais e humanos (MOHAMED *et al.*, 2018; MÜNSTEDT; MÄNNLE, 2020). Suas propriedades incluem ação anti-inflamatórias, imunoprotetora, antioxidante, antimicrobiana, entre outras (NAINU *et al.*, 2021).

O mel é o produto da colmeia mais difundido no mundo, sendo uma fonte rica em nutrientes, incluindo carboidratos, proteínas, vitaminas e minerais, cuja composição varia dependendo da espécie de abelha, da fonte floral e das condições de produção (TEDESCO *et al.*, 2020). Além disso, o mel contém enzimas, que desempenham funções específicas na sua composição e propriedades, como a invertase, que contribuem para o sabor adocicado (doçura) e a textura desse produto (TAFERE, 2021). A glicose oxidase, que contribuem para a preservação e durabilidade do mel, pois possui propriedades antimicrobianas e, a enzima diastase, que auxilia na quebra de possíveis resíduos do amido em açúcares simples, contribuem para a doçura e digestibilidade do mel (RANNEH *et al.*, 2021).

Além do mel, existe um aumento gradativo da procura aos outros produtos apícolas e também seus subprodutos, como por exemplo vinagre de mel e vinho de mel, este último, sendo mais conhecido como hidromel (MĂRGĂOAN *et al.*, 2020).

O hidromel, cujo processo assemelha-se a produção de vinho, é uma bebida alcoólica contendo 4 a 14% (v/v) de etanol. Historicamente conhecida como

“bebida dos deuses” e popularmente como vinho de mel, o hidromel é uma das bebidas mais antiga do mundo e amplamente consumida em vários países, incluindo Inglaterra, Polônia, Alemanha, Eslovênia, Etiópia e África do Sul, entre outros (CAVALCANTE DA SILVA *et al.*, 2018).

O hidromel é uma bebida obtida a partir do processo de fermentação da mistura de mel e água com adição de leveduras e que na fase final de sua fermentação forma os sedimentos ou resíduos sólidos tais como: resíduo de levedura e bentonita (STAROWICZ; GRANVOGL, 2020; AVÍRVAREI *et al.*, 2023). No entanto, para diversificar e aprimorar suas propriedades bioativas e sensoriais, é importante empregar diferentes tipos de mel e cepas de leveduras. As leveduras são fundamentais no processo de fermentação do hidromel, especialmente aquelas pertencentes ao gênero *Saccharomyces* (ADAMENKO *et al.*, 2018).

De modo geral, o processo de produção do hidromel envolve várias etapas, que incluem a fase de pré-fermentação, que engloba a criação do mosto; a fase de fermentação alcoólica, onde ocorre a adição de leveduras para converter açúcares do mel em álcool e, a fase pós-fermentação, que abrange a clarificação e o envase (KAWA-RYGIELSKA *et al.*, 2019).

Após a fermentação, ocorre a trasfega do hidromel, que corresponde à transferência do mosto de um recipiente para outro, com o propósito de remover os resíduos que se acumularam no fundo do fermentador. A clarificação do hidromel pode ser alcançada de duas maneiras: através da centrifugação do mosto ou mediante a adição de agentes clarificantes, como clara de ovo, gelatina, caseína e bentonita. Quando se opta pelo uso desses agentes clarificantes, as partículas sólidas insolúveis na bebida são eliminadas por sedimentação (SILVA *et al.*, 2020; SIMÃO *et al.*, 2023).

A bentonita, um composto argilomineral, é uma alternativa mais econômica e eficaz, em comparação com as gelatinas (colágenos), na clarificação e estabilização de mostos, por isso é bastante utilizado na produção hidromel atuando como agente clarificante e estabilizante. Além disso, a utilização da bentonita como método tradicional de colagem é uma maneira eficaz de eliminar proteínas indesejadas no vinho e no hidromel, prevenindo assim a turvação (MACHADO *et al.*, 2018; MIERCZYNSKA-VASILEV *et al.*, 2019; DE OLIVEIRA *et al.*, 2020; SILVA *et al.*, 2020). O resíduo de leveduras, por sua vez, é sedimentado no processo de trasfega e sifonação do hidromel, sendo posteriormente

descartado. Esses resíduos contêm sais minerais, leveduras e proteínas coaguladas (COSTA *et al.*, 2018).

Levando-se em consideração o fato de que o setor agroindustrial enfrenta desafios significativos devido à geração de grandes quantidades residuais na produção e processamentos dos alimentos e bebidas (GÓMEZ-GARCÍA *et al.*, 2020; RIUDAVETS *et al.*, 2020), o uso desses resíduos como objetos de estudos com potencial à suplementos na alimentação das abelhas, uma vez que seu reaproveitamento é uma estratégia sustentável e economicamente viável ao setor apícola.

Diante do exposto, a presente pesquisa contempla dois capítulos: Capítulo 1 – **“Influência da suplementação alimentar na prevalência de parasitos e patógeno em colônias de *Apis mellifera* L. africanizada”**, que testou a suplementação mineral proteica na prevalência de *Leptus* sp., *Varroa destructor* e *Vairimorpha* sp. em colônias de *Apis mellifera* africanizadas; e Capítulo 2 – **“Suplementação artificial e seus efeitos no desenvolvimento de *Apis mellifera* L. africanizada”**, que investigou os efeitos da suplementação alimentar com resíduos da produção de hidromel no desenvolvimento de colônias *Apis mellifera* africanizadas.

3.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMENKO, K. *et al.* Characteristics of biologically active compounds in Cornelian cherry meads. **Molecules**, v. 23, n. 8, p. 2024, 2018.

AIZEN, M.A. *et al.* Global agricultural productivity is threatened by increasing pollinator dependence without a parallel increase in crop diversification. **Global Change Biology**, v. 25, n. 10, p. 3516-3527, 2019.

ANDREADIS, S. S. *et al.* Towards functional insect feeds: Agri-food by-products enriched with post-distillation residues of medicinal aromatic plants in *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) breeding. **Antioxidants**, v. 11, n. 1, p. 68, 2021.

AVÍRVAREI, AC. *et al.* Contribution of *Saccharomyces* and Non-*Saccharomyces* Yeasts on the Volatile and Phenolic Profiles of Rosehip Mead. **Antioxidants**, v. 12, n. 7, p. 1457, 2023.

AYLANC, V.; FALCÃO, S. I.; VILAS-BOAS, M. Bee pollen and bee bread nutritional potential: Chemical composition and macronutrient digestibility under in vitro gastrointestinal system. **Food Chemistry**, v. 413, p. 135597, 2023.

BALLI, D. *et al.* Food by-products valorisation: Grape pomace and olive pomace (pâté) as sources of phenolic compounds and fiber for enrichment of tagliatelle pasta. **Food Chemistry**, v. 355, p. 129642, 2021.

BARRAGÁN, S.; BASUALDO, M.; RODRÍGUEZ, E. M. Conversion of protein from supplements into protein of hemolymph and fat bodies in worker honey bees (*A. mellifera* L.). **Journal of Apicultural Research**, v. 54, n. 4, p. 399-404, 2022.

BASUALDO, M. *et al.* Conversion of high and low pollen protein diets into protein in worker honey bees (Hymenoptera: Apidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 106, n. 4, p. 1553-1558, 2013.

BEAUREPAIRE, A. *et al.* Diversity and global distribution of viruses of the western honey bee, *A. mellifera*. **Insects**, v. 11, n. 4, p. 239, 2020.

BEGUM, H. A. *et al.* Impact of different pollen protein diets on the physiology of *A. mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) workers from essential plant sources. **Journal of King Saud University-Science**, v. 35, n. 2, p. 102511, 2023.

BERNARD, R.; FELSKA, M.; MAKOL, J. Erythraeid larvae parasitizing dragonflies in Zambia—description of *Leptus* (*Leptus*) chingombensis sp. nov. with data on biology and ecology of host-parasite interactions. **Systematic and Applied Acarology**, v. 24, n. 5, p. 790-813, 2019.

BONOAN, R.E.; G ONZALEZ, J.; STARKS, P. T. The perils of forcing a generalist to be a specialist: lack of dietary essential amino acids impacts honey bee pollen foraging and colony growth. **Journal of Apicultural Research**, v. 59, n. 1, p. 95-103, 2020.

BORTOLOTTI, L.; POŠĆIĆ, F.; BOGO, G. Comparison of Different Pollen Substitutes for the Feeding of Laboratory Reared Bumble Bee (*Bombus terrestris*) Colonies. **Journal of Apicultural Science**, v. 64, n. 1, p. 91-104, 2020.

BOUKID, F. *et al.* Impact of diets including agro-industrial by-products on the fatty acid and sterol profiles of larvae biomass from *Ephestia kuehniella*, *Tenebrio molitor* and *Hermetia illucens*. **Insects**, v. 12, n. 8, p. 672, 2021.

BUGAROVA, V. *et al.* Effects of the carbohydrate sources nectar, sucrose and invert sugar on antibacterial activity of honey and bee-processed syrups. **Antibiotics**, v. 10, n. 8, p. 985, 2021.

CAN, I.; SABOORI, A. First record of *Leptus* species (Trombidiformes, Erythraeidae) parasitizing solitary wasps of Crabronidae (Hymenoptera, Apoidea) in Türkiye. **International Journal of Acarology**, v. 49, n. 1, p. 80-85, 2023.

CAVALCANTE DA SILVA, S. M. P. *et al.* Production and characterization of mead from the honey of *Melipona Scutellaris* Stingless Bees. **Journal of the Institute of Brewing**, v.124 n. 2 p. 194-200, 2018.

CASTELLI, L. *et al.* Impact of nutritional stress on honeybee gut microbiota, immunity, and *Nosema ceranae* infection. **Microbial Ecology**, v. 80, p. 908-919, 2020.

COSTA, G. P. *et al.* Volatile profile of sparkling wines produced with the addition of mannoproteins or lees before second fermentation performed with free and immobilized yeasts. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 29, n. 9, p. 1866- 1875, 2018.

CUNNINGHAM, S. A. *et al.* Density of invasive western honey bee (*A. mellifera*) colonies in fragmented woodlands indicates potential for large impacts on native species. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 3603, 2022.

DE JONG, E. *et al.* Effects of diets containing different concentrations of pollen and pollen substitutes on physiology, *Nosema* burden, and virus titers in the honey bee (*A. mellifera* L.). **Apidologie**, v. 50, p. 845-858, 2019.

DE OLIVEIRA, I. V. *et al.* Produção e caracterização do hidromel tipo doce/Production and characterization of sweet type hydromel. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 3, p. 11176-11191, 2020.

DECOURTYE A. *et al.* Toward the protection of bees and pollination under global change: present and future perspectives in a challenging applied science. **Current Opinion in Insect Science**, v. 35, p. 123-131, 2019.

DEQUENNE, I.; PHILIPPART F. J. M.; CANI, P. D. Developing Strategies to Help Bee Colony Resilience in Changing Environments. **Animals**, v. 12, n. 23, p. 3396, 2022.

DESCAMPS, C.; QUINET, M.; JACQUEMART, A. L. Climate change–induced stress reduce quantity and alter composition of nectar and pollen from a bee-pollinated species (*Borago officinalis*, Boraginaceae). **Frontiers in plant science**, v.12, p. 755843, 2021.

DRANCA, F.; URSACHI, F.; OROIAN, M. Bee bread: Physicochemical characterization and phenolic content extraction optimization. **Foods**, v. 9, n. 10, p. 1358, 2020.

ELFAR, S. A. *et al.* Intraspecific Variability in Proteomic Profiles and Biological Activities of the Honey Bee Hemolymph. **Insects**, v. 14, n. 4, p. 365, 2023.

FATHY, D. M. Compression Between Modified and Common Honey Bee Hive on Honey Bee Activity. **Journal of Plant Protection and Pathology**, v. 14, n. 6, p. 195-199, 2023.

FRANÇA, S. O. **Parasitos e patógenos de *A. mellifera* (apini) em Meliponini**. Dissertação (Mestrado Ciência Animal – Produção Animal) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Cruz das Almas - Bahia, Brasil. 2021. Acesso em: 10 set. 2023.

FRIZZERA, D. *et al.* Possible side effects of sugar supplementary nutrition on honey bee health. **Apidologie**, v. 51, p. 594-608, 2020.

PORTO, R. G. *et al.* Pollination ecosystem services: A comprehensive review of economic values, research funding and policy actions. **Food Security**, v. 12, n. 6, p. 1425-1442, 2020.

GARCÍA-VICENTE, E. J. *et al.* Effect of feed supplementation with probiotics and postbiotics on strength and health status of honey bee (*A. mellifera*) hives during late spring. **Research in Veterinary Science**, v. 159, p. 237-243, 2023.

GEERAERT, L. *et al.* Effects of landscape composition on bee communities and coffee pollination in Coffea arabica production forests in southwestern Ethiopia. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 288, p. 106706, 2020.

GEORGI, I., *et al.* The Impact of *Vairimorpha* (*Nosema*) *ceranae* Natural Infection on Honey Bee (*A. mellifera*) and Bee Bread Microbiota. **Applied Sciences**, v. 12, n. 22, p. 11476, 2022.

GHOSH, S.; JEON, H.; JUNG, C. Foraging behaviour and preference of pollen sources by honey bee (*A. mellifera*) relative to protein contents. **Journal of Ecology and Environment**, v. 44, p. 1-7, 2020.

GISDER, S. *et al.* Evolução in vivo da virulência viral: a troca do vírus de asa deformada entre hospedeiros resulta em mudanças de virulência e deslocamentos de sequência. **Environmental microbiology**, v. 20, n. 12, p. 4612-4628, 2018.

GÓMEZ-GARCÍA, R. *et al.* Valorization of melon fruit (*Cucumis melo* L.) by-products: Phytochemical and Biofunctional properties with Emphasis on Recent

Trends and Advances. **Trends in Food Science & Technology**, v. 99, p. 507-519, 2020.

GRAMACHO, K. P.; SPIVAK, M. Differences in olfactory sensitivity and behavioral responses among honey bees bred for hygienic behavior. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 54, p. 472-479, 2003.

HAN, W. *et al.* Chronic toxicity and biochemical response of *Apis cerana cerana* (Hymenoptera: Apidae) exposed to acetamiprid and propiconazole alone or combined. **Ecotoxicology**, v. 28, p. 399-411, 2019.

HAN, B. *et al.* Life-history stage determines the diet of ectoparasitic mites on their honey bee hosts. **Nature Communications**, v. 15, n. 1, p. 725, 2024.

HUNG, K. L. J. *et al.* The worldwide importance of honey bees as pollinators in natural habitats. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 285, n. 1870, p. 20172140, 2018.

JALEEL, W. *et al.* Effects of temperature on baseline susceptibility and stability of insecticide resistance against *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) in the absence of selection pressure. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 27, n. 1, p. 1-5, 2020.

KAWA-RYGIELSKA, J. *et al.* Fruit and herbal meads—Chemical composition and antioxidant properties. **Food Chemistry**, v. 283, p. 19-27, 2019.

KEVILL, J. L. *et al.* DWV-A lethal to honey bees (*A. mellifera*): A colony level survey of DWV variants (A, B, and C) in England, Wales, and 32 states across the US. **Viruses**, v. 11, n. 5, p. 426, 2019.

KHALIFA, S. A. M *et al.* Recent insights into chemical and pharmacological studies of bee bread. **Trends in Food Science & Technology**, v. 97, p. 300- 316, 2020.

KHAN, K. A. *et al.* Honey bee (*A. mellifera*) preference towards micronutrients and their impact on bee colonies. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 28, n. 6, p. 3362-3366, 2021.

KIELISZEK, M. *et al.* Pollen and bee bread as new health-oriented products: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 71, p. 170-180, 2018.

KIELISZEK, M. *et al.* Recent advances and opportunities related to the use of bee products in food processing. **Food Science & Nutrition**, v. 11, n. 8, p. 4372 – 4397, 2023.

KIM, H. J. *et al.* Comparison of physicochemical properties of pollen substitute diet for honey bee (*A. mellifera*). **Journal of Asia-Pacific entomology**, v. 25, n. 4, p. 101967, 2022.

KUMARI, I. *et al.* Evaluation of antioxidant and antibacterial potential of honey produced from stimulative diet fed bee colonies. **Discover Sustainability**, v. 4, n. 1, p. 21, 2023.

LANDAVERDE, R.; RODRIGUEZ, M. T.; PARRELLA, J. A. Honey Production and Climate Change: Beekeepers' Perceptions, Farm Adaptation Strategies, and Information Needs. **Insects**, v. 14, n. 6, p. 493, 2023.

LAZAROV, S. B.; VELEVA, P.; ZHELYAZKOVA, I. Statistical Models for Assessing the Influence of Hygienic Behaviour of Worker Bees on the Level of Lysozyme and Total Protein Content in Their Haemolymph. **Iranian Journal of Applied Animal Science**, v. 10, n. 2, p. 365-373, 2020.

LIN, Z. *et al.* Biotic and abiotic stresses on honeybee health. **Integrative Zoology**, v. 19, n. 3, p. 442-457, 2024.

LING, T. C. *et al.* *Tropilaelaps mercedesae* infestation is correlated with injury numbers on the brood and the population size of honey bee *A. mellifera*. **Animals**, v. 13, n. 8, p. 1318, 2023.

LITTLE, C. M.; SHUTLER, D.; WILLIAMS, G. R. Associations among *Nosema* spp. fungi, *Varroa destructor* mites, and chemical treatments in honey bees, *A. mellifera*. **Journal of Apicultural Research**, v. 54, n. 4, p. 378-385, 2022

MACHADO, M. *et al.* Estudo do comportamento e caracterização de argilas bentoníticas após processo de liofilização. **Cerâmica**, v. 64, n.370, p. 207-213, 2018.

MĂRGĂOAN, R. *et al.* Impact of fermentation processes on the bioactive profile and health-promoting properties of bee bread, mead and honey vinegar. **Processes**, v. 8, n. 9, p. 1081, 2020.

MARTÍNEZ, Pablo Antonio *et al.* First record of *Leptus* spp. (Acari: Erythraeidae) parasitizing stingless bees (Apidae: Meliponini). **Journal of Apicultural Research**, v. 63, n. 2, p. 367-372, 2024.

MAUCOURT, S. *et al.* Observation of genetic gain with instrumental insemination of honeybee queens. **Insects**, v. 14, n. 3, p. 301, 2023.

MEENA, N. K. *et al.* Pollinator's diversity and abundance on cumin (*Cuminum cyminum* L.) and their impact on yield enhancement at semi-arid regions. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 6, p. 1017-1021, 2018.

MEIKLE, W. G.; BARG, A.; WEISS, M. Honey bee colonies maintain CO₂ and temperature regimes in spite of change in hive ventilation characteristics. **Apidologie**, v. 53, n. 5, p. 51, 2022.

MIERCZYNSKA-VASILEV, A. *et al.* Regeneration of magnetic nanoparticles used in the removal of pathogenesis-related proteins from white wines. **Foods**, v. 9, n. 1, p. 1, 2019.

MOHAMED, N. A. *et al.* Ameliorative effects of bee pollen and date palm pollen on the glycemic state and male sexual dysfunctions in streptozotocin-Induced diabetic wistar rats. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 97, p. 9-18, 2018.

MOKARRAMAT-YAZDI *et al.* Investigating the anticancer effect of a new drug originating from plant and animal: in vitro and in vivo study. **Journal of Advanced Pharmacy Education & Research**, v. 10, n. S2, p. 73, 2020.

MÜNSTEDT, K.; MÄNNLE, H. Bee products and their role in cancer prevention and treatment. **Complementary Therapies in Medicine**, v. 51, p. 102390, 2020.

NAINU, F. *et al.* Pharmaceutical prospects of bee products: Special focus on anticancer, antibacterial, antiviral, and antiparasitic properties. **Antibiotics**, v. 10, n. 7, p. 822, 2021.

NASCIMENTO, R. Q. *et al.* Utilization of Agro-Industrial Residues in the Rearing and Nutritional Enrichment of *Zophobas atratus* Larvae: New Food Raw Materials. **Molecules**, v. 27, n. 20, p. 6963, 2022.

PAIVA, J. P. L. M. *et al.* Effects of ensiling on the quality of protein supplements for honey bees *A. mellifera*. **Apidologie**, v. 50, p. 414-424, 2019.

PAPEŽÍKOVÁ, I. *et al.* Effect of feeding honey bee (*A. mellifera* Hymenoptera: Apidae) colonies with honey, sugar solution, inverted sugar, and wheat starch syrup on nosematosis prevalence and intensity. **Journal of Economic Entomology**, v. 113, n. 1, p. 26-33, 2020.

PARAY, B. A. *et al.* Honeybee nutrition and pollen substitutes: A review. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 28, n. 1, p. 1167-1176, 2021.

PARREÑO, M. A. *et al.* Critical links between biodiversity and health in wild bee conservation. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 37, n. 4, p. 309-321, 2022.

PEIRSON, M. *et al.* The effects of protein supplementation, fumagillin treatment, and colony management on the productivity and long-term survival of honey bee (*A. mellifera*) colonies in Canada. **BioRxiv**, p. 2023.07. 10.548417, 2023.

PERERA, S.; KARUNARATNE, I. Floral visits of the wild bee, *Lithurgus atratus*, impact yield and seed germinability of okra, *Abelmoschus esculentus*, in Sri Lanka. **Journal of Pollination Ecology**, v. 25, p. 1-6, 2019.

PRENDERGAST, K. S.; DIXON, K. W.; BATEMAN, P. W. A global review of determinants of native bee assemblages in urbanised landscapes. **Insect Conservation and Diversity**, v. 15, n. 4, p. 385-405, 2022.

PROUTY, C. *et al.* Evaluating the Efficacy of Common Treatments Used for *Vairimorpha* (*Nosema*) spp. Control. **Applied Sciences**, v. 13, n. 3, p. 1303, 2023.

PTASZYŃSKA, A. A.; GANCARZ, M. Microsporidiosis Causing Necrotic Changes in the Honeybee Intestine. **Applied Sciences**, v. 13, n. 8, p. 4957, 2023.

RANNEH, Y. *et al.* Honey and its nutritional and anti-inflammatory value. **BMC Complementary Medicine and Therapies**, v. 21, n. 1, p. 1-17, 2021.

RIUDAVETS, J. *et al.* Development and biomass composition of *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae), *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae), and *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) reared on different byproducts of the agri-food industry. **Journal of Insect Science**, v. 20, n. 4, p. 17, 2020.

RYABOV, E. V. *et al.* Dynamic evolution in the key honey bee pathogen deformed wing virus: Novel insights into virulence and competition using reverse genetics. **PLoS Biology**, v. 17, n. 10, p. e3000502, 2019.

SACCÀ, M. L.; LODESANI, M. Isolation of bacterial microbiota associated to honey bees and evaluation of potential biocontrol agents of *Varroa destructor*. **Beneficial Microbes**, v. 11, n. 7, p. 641-654, 2020.

SALVATIERRA, L.; ALMEIDA, M. Q. First record of a *Leptus* Latreille mite (Trombidiformes, Erythraeidae) associated with a Neotropical trapdoor spider (Araneae: Mygalomorphae: Actinopodidae). **Cogent Biology**, v. 3, n.1, p. 1295823, 2017.

SAYED, S. *et al.* Impacts of natural and supplementary foods on some biochemical activities in the bodies of honeybee workers. **Arab Universities Journal of Agricultural Sciences**, v. 30, n. 1, p. 147-155, 2022.

SELTZER, R. *et al.* Breeding for hygienic behavior in honey bees (*A. mellifera*): a strong paternal effect. **Journal of Apicultural Research**, v. 62, n. 3, p. 419-428, 2023.

SHRESTHA, M. *et al.* Australian native flower colours: Does nectar reward drive bee pollinator flower preferences?. **PloS One**, v. 15, n. 6, p. e0226469, 2020.

SILVA, I. P. *et al.* Detection of biogenic amines in mead of social bee. **LWT**, v. 121, p. 108969, 2020.

SIMÃO, L. *et al.* How do different ingredients and additives affect the production steps and the bioactive potential of mead?. **Food Technology and Biotechnology**, v. 61, n. 2, p. 179-190, 2023.

SMART, M. D.; OTTO, C. RV; LUNDGREN, J. G. Nutritional status of honey bee (*A. mellifera* L.) workers across an agricultural land-use gradient. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 16252, 2019.

SOBRINHO, F. C. *et al.* Análise populacional do ácaro *Varroa destructor* (Anderson e Trueman, 2000) no nordeste do Brasil. **Europub Journal of Animal and Environmental Research**, v. 4, n. 1, p. 1-23, 2023.

SPIVAK, M., DANKA, R. G. Perspectives on hygienic behavior in *A. mellifera* and other social insects. **Apidologie**, v. 52, p. 1-16, 2021.

STAROWICZ, M.; GRANVOGL, M. Trends in food science & technology an overview of mead production and the physicochemical, toxicological, and sensory characteristics of mead with a special emphasis on flavor. **Trends in Food Science & Technology**, v. 106, p. 402-416, 2020.

STONER, K. A. *et al.* Where does honey bee (*A. mellifera* L.) pollen come from? A study of pollen collected from colonies at ornamental plant nurseries. **Insects**, v. 13, n. 8, p. 744, 2022.

TAFERE, D. A. Chemical composition and uses of Honey: A Review. **Journal of Food Science and Nutrition Research**, v. 4, n. 3, p. 194-201, 2021.

TEDESCO, R. *et al.* Carbohydrate determination in honey samples by ion chromatography–mass spectrometry (HPAEC-MS). **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 412, p. 5217-5227, 2020.

TELLERÍA *et al.* Protein content of pollen of asteraceae collected by honey bees. **Bee World**, v. 96, n. 4, p. 104-107, 2019.

THAKUR, M.; V, NANDA. Composition and functionality of bee pollen: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 98, p. 82-106, 2020.

THAMM, M. *et al.* Solitary bees host more bacteria and fungi on their cuticle than social bees. **Microorganisms**, v. 11, n. 11, p. 2780, 2023.

TOKAREV, Y. S. *et al.* A formal redefinition of the genera *Nosema* and *Vairimorpha* (Microsporidia: Nosematidae) and reassignment of species based on molecular phylogenetics. **Journal of invertebrate pathology**, v. 169, p. 107279, 2020.

TOPAL, E. *et al.* The effect of supplementary feeding with different pollens in autumn on colony development under natural environment and in vitro lifespan of honey bees. **Insects**, v. 13, n. 7, p. 588, 2022.

TORRICO-BAZOBERRY, D. *et al.* Response to selected ecological parameters by *Leptus hringuri* Haitlinger, 2000 larvae (Trombidiformes: Erythraeidae) parasitizing treehoppers (Hemiptera: Membracidae) from Bolivia on two host-plant species. **International Journal of Acarology**, v. 46, n. 3, p. 174-179, 2020.

TRAYNOR, K. S. *et al.* *Varroa destructor*: A complex parasite, crippling honey bees worldwide. **Trends in parasitology**, v. 36, n. 7, p. 592-606, 2020.

TRUONG, A.-Tai *et al.* Prevalence and pathogen detection of *Varroa* and *Tropilaelaps* mites in *A. mellifera* (Hymenoptera, Apidae) apiaries in South Korea. **Journal of Apicultural Research**, v. 62, n. 4, p. 804-812, 2023.

TSURUDA, J. M.; CHAKRABARTI, P.; SAGILI, R. R. Honey bee nutrition. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 37, n. 3, p. 505-519, 2021.

TUCUCH-HAAS, J. I. *et al.* Alimentación suplementaria alternativa de *A. mellifera* L. durante la época de escasez en Yucatán, México. **Ecosistemas y Recursos Agropecuarios**, v. 7, n. 3, 2020.

URUEÑA, Á.; BLASCO-LAVILLA, N.; DE LA RÚA, P. Sulfoxaflo effects depend on the interaction with other pesticides and *Nosema ceranae* infection in the honey bee (*A. mellifera*). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 264, p. 115427, 2023.

UTRERA, *et al.* Alimentación suplementaria alternativa de *A. mellifera* L. durante la época de escasez en Yucatán, México. **Ecosistemas y Recursos Agropecuarios**, v.7, n.3, 2020.

VAUDO, A. D. *et al.* Pollen protein: lipid macronutrient ratios may guide broad patterns of bee species floral preferences. **Insects**, v. 11, n. 2, p. 132, 2020.

WANG, H. *et al.* Genome-wide differential DNA methylation in reproductive, morphological, and visual system differences between queen bee and worker bee (*Apis mellifera*). **Frontiers in Genetics**, v. 11, p. 770, 2020.

WANG, S. *et al.* Reproduction of ectoparasitic mites in a coevolved system: *Varroa* spp.—Eastern honey bees, *Apis cerana*. **Ecology and evolution**, v. 10, n. 24, p. 14359-14371, 2020.

WU, T. *et al.* Interaction of chlorothalonil and *Varroa destructor* on immature honey bees rearing in vitro. **Science of The Total Environment**, v. 904, p. 166302, 2023.

YAZLOVYTSKA, L. S. *et al.* Increased survival of honey bees consuming pollen and beebread is associated with elevated biomarkers of oxidative stress. **Frontiers in Ecology and Evolution**, v. 11, p. 1098350, 2023.

ŻÓŁKIEWICZ, J. *et al.* Pós-bióticos – um passo além dos pré e probióticos. **Nutrientes**, v. 12, n. 8, p. 2189, 2020.

ZHANG, G. *et al.* Native vegetation embedded in landscapes dominated by corn and soybean improves honey bee health and productivity. **Journal of Applied Ecology**, v. 60, n. 6, p. 1032-1043, 2023.

CAPÍTULO 1

Influência da suplementação alimentar na prevalência de parasitos e patógeno em colônias de *Apis mellifera* L. africanizada¹**RESUMO**

Objetivou-se testar suplementação mineral proteica na prevalência de *Leptus* sp., *Varroa destructor* e *Vairimorpha* sp. em colônias de *Apis mellifera* africanizada. O experimento foi em Delineamento Inteiramente Casualizado, com seis tratamentos e cinco repetições. Os tratamentos (exceto T1 – sem suplementação) foram elaborados à base de sacarose e água (xarope): T2- xarope; T3- complexo de aminoácidos comercial; T4- resíduo de levedura; T5- bentonita; T6- mistura resíduo de levedura e bentonita. Analisou-se a composição dos resíduos de leveduras e bentonita, consumo de alimento, peso das colônias, taxa de *Leptus* sp., *V. destructor* e níveis de microsporídio *Vairimorpha* sp. Diferentes teores de matéria seca, material mineral e proteína bruta foram encontrados nos tratamentos T4 (20,31; 4,89; 43,55), T5 (7,55; 50,70; 4,86) e T6 (13,41; 42,86; 26,90). O consumo médio de suplemento foi 79,20% e apenas no T1 houve diferença significativa no peso das colônias (8,70 kg = inicial; 6,80 kg = final). Observou-se diferenças significativas na taxa de *V. destructor* em T2 e T3, assim como nos níveis de infecção por *Vairimorpha* sp. em ambos os tratamentos ($p \leq 0,05$). Conclui-se que T2 e T3 aumentaram a taxa de *V. destructor* e os níveis de infecção por *Vairimorpha* sp. Os tratamentos T4, T5 e T6 não alteraram as taxas de infestação por *Leptus* sp. e *V. destructor* ou infecção por *Vairimorpha* sp. T4 teve níveis proteicos e minerais ideais para dieta de *A. mellifera* africanizada.

Palavras-chave: Bentonita, Resíduo de leveduras, *Vairimorpha*.

¹ **Este** Capítulo foi ajustado em artigo, submetido e publicado no periódico científico Scientia Plena, v. 20, n. 5, 2024 - DOI: 10.14808/sci.plena.2024.058002

CHAPTER 1

Influence of dietary supplementation on the prevalence of parasites and pathogens in Africanized *Apis mellifera* L. colonies**ABSTRACT**

The objective was to test protein mineral supplementation on the prevalence of *Leptus* sp., *Varroa destructor* and *Vairimorpha* sp. in colonies of Africanized *Apis mellifera*. The experiment was in a Completely Randomized Design, with six treatments and five replications. The treatments (except T1 – without supplementation) were made with sucrose and water (syrup): T2 – syrup; T3- commercial amino acid complex; T4- yeast residue; T5- bentonite; T6- mixes yeast residue and bentonite. The composition of yeast and bentonite residues, food consumption, colony weight, rate of *Leptus* sp., *V. destructor* and levels of *Vairimorpha* sp. microsporidia were analyzed. Different levels of dry matter, mineral material and crude protein were found in treatments T4 (20.31; 4.89; 43.55), T5 (7.55; 50.70; 4.86) and T6 (13.41; 42.86; 26.90). The average supplement consumption was 79.20% and only in T1 was there a significant difference in the weight of the colonies (8.70 kg = initial; 6.80 kg = final). Significant differences were observed in the rate of *V. destructor* in T2 and T3, as well as in the levels of infection by *Vairimorpha* sp. in both treatments ($p \leq 0.05$). It is concluded that T2 and T3 increased the rate of *V. destructor* and the levels of infection by *Vairimorpha* sp. Treatments T4, T5 and T6 did not change infestation rates by *Leptus* sp. and *V. destructor* or infection by *Vairimorpha* sp. T4 had ideal protein and mineral levels for the diet of Africanized *A. mellifera*.

Key-words: Bentonite, Yeast residue, *Vairimorpha*.

1. INTRODUÇÃO

A adaptação de *Apis mellifera* africanizadas ao clima tropical impulsionou a apicultura no Brasil. Polinizadores generalistas, essas abelhas nutrem-se por meio de néctar, pólen e água coletados na natureza (CALFEE *et al.*, 2020; BAKOUR *et al.* 2019), porém em períodos sazonais, como a entressafra ocorre escassez de flora apícola afetando o forrageamento e armazenamento de alimentos nas colmeias, consequentemente causando a diminuição do enxame (PAIVA *et al.* 2019). Para mitigar esse problema, os apicultores recorrem à suplementação artificial, no intuito de sustentar as colônias até a próxima florada (DEQUENNE; PHILIPPART; CANI, 2022).

Os suplementos alimentares para abelhas podem ser energéticos e/ou proteicos (TOPAL *et al.*, 2022). Os alimentos energéticos de subsistência incluem açúcares refinados ou não refinados e têm a função de compensar a carência de néctar (BORTOLOTTI; POŠĆIĆ; BOGO, 2020). Quando necessário as abelhas convertem, os açúcares complexos em açúcares simples para se alimentarem (KUMARI *et al.*, 2023). Os alimentos proteicos, como exemplo, àqueles a base de soja e milho, são regularmente usados na suplementação das colônias durante a entressafra para compensar a restrição de pólen (TSURUDA; CHAKRABARTI; SAGILI, 2021).

Como a qualidade, a composição, as concentrações e o processamento dos suplementos usados na apicultura variam, isso gera preocupação quanto à sua eficácia (FRIZZERA *et al.*, 2020) levando pesquisadores a estudarem essas fontes de alimentos e buscarem alternativas que atendam às exigências nutricionais das abelhas em períodos de carência de recursos (DECOURTYE *et al.*, 2019).

Em estudos realizados com compostos bioativos da microbiota intestinal das abelhas, pesquisadores utilizaram bactérias com potencial probiótico no biocontrole de parasitos em colônias de abelhas (SACCÀ; LODESANI, 2020), além de testarem o efeito da suplementação com *Lactobacillus salivarius* na redução de patógenos e parasitos nas colônias de *A. mellifera* (TEJERINA; BENÍTEZ-AHRENDTS; AUDÍZIO, 2020). Porém, até o momento, são poucos os estudos focados nos bioativos pós-bióticos usados como suplementos alimentares na dieta de abelhas *A. mellifera* (GARCÍA-VICENTE *et al.*, 2023).

Apesar de poucos estudos, na literatura, sobre os pós-bióticos como fontes alimentares para abelhas, o uso de resíduos das agroindústrias na alimentação de insetos está ganhando notoriedade. Porém, utilizando outras ordens taxonômicas. Boa parte do interesse por esses resíduos deve-se à ajuda na redução no desperdício de alimentos e recursos, além de possuir importância social, por ser de baixo custo ao produtor (GÓMEZ-GARCÍA *et al.*, 2020).

Dietas compostas por resíduos e leveduras de cerveja, bioativos ricos em proteínas, foram utilizadas no desenvolvimento das larvas de insetos das ordens Lepidoptera, Coleoptera e Diptera (BOUKID *et al.*, 2021).

Resíduos do processamento do azeite e da destilação de óleos essenciais (bagaço de azeitonas) em diferentes proporções foram testados no intuito de otimizar o valor nutricional, melhorar o crescimento e a atividade antioxidante de uma espécie de Coleoptera, destacando o potencial sustentável dos subprodutos da agroindústria nas pesquisas experimentais (ANDREADIS *et al.*, 2021).

Resíduos, como os da produção do suco de uva, foram testados para melhoramento nutricional de larvas de Coleoptera (NASCIMENTO *et al.*, 2022) por conter compostos fenólicos, minerais e proteínas, resultantes de diferentes processos, entre eles a fermentação (BALLI *et al.*, 2021). Nessa mesma perspectiva, resíduos da produção do hidromel, cujo processo assemelha-se a produção de vinho e envolve várias etapas de fermentação (CAVALCANTE *et al.*, 2028) podem ser promissores em testes envolvendo suplementação para abelhas.

De modo geral, o hidromel é obtido a partir do processo de fermentação da mistura de mel e água com adição de leveduras, principalmente, *Saccharomyces cerevisiae*, considerada probiótico (SEN; MANSELL, 2020; STAROWICZ; GRANVOGL, 2020; MOHAMMADI; SARIS, 2022; AVÍRVAREI *et al.*, 2023). Na fase final da fermentação, ocorrem duas etapas: trasfega do hidromel, onde são formados sedimentos ou resíduos sólidos denominados “resíduo de leveduras”; e clarificação e estabilização do mosto do hidromel, onde são formados sedimentos de bentonita, uma combinação argilomineral bastante utilizada na produção de bebidas (KAWA-RYGIELSKA *et al.*, 2019). Ambos os resíduos apresentam, respectivamente, teores significativos de proteínas e sais minerais, nutrientes importantes na alimentação de insetos (MACHADO *et al.*, 2018; DE OLIVEIRA *et al.*, 2020; NASCIMENTO *et al.*, 2022).

Os alimentos chamados de artificiais podem representar uma ferramenta valiosa para suplementar a dieta das abelhas, quando as fontes naturais de néctar e pólen forem escassas (GHRAMH; KHAN, 2023). No entanto, esses alimentos artificiais devem ser utilizados com prudência, pois os benefícios desses suplementos, assim como os impactos e sua influência na prevalência de ácaros e fungos, ainda requerem esforços de pesquisa para conclusões definitivas (MORTENSEN *et al.*, 2019; SHADMEHR *et al.*, 2023).

Os ácaros ectoparasitas, como os do gênero *Leptus*, causam injúrias nas *A. mellifera* ao perfurar suas cutículas, para se alimentarem, resultando em abelhas menores (BERNARD; FELSKA; MAKOL, 2019). Outro ectoparasita que infestam as colônias é o *Varroa destructor*, que se alimenta da hemolinfa e tecido adiposo das larvas, prejudica a resposta imune e armazenamento de nutrientes (DE ASSIS *et al.*, 2022; LITTLE; SHUTLER; WILLIAMS, 2022; WU *et al.*, 2023). Além disso, *V. destructor* é vetor de vírus patogênicos, como o DWV (*Deformed Wing Virus*), que desencadeia uma má formação nas asas além de diminuir a longevidade das abelhas, podendo levar ao declínio das colônias (RYABOV *et al.*, 2019).

Dentre os fungos, o microsporídio do gênero *Vairimorpha* causa doenças em colônias de *A. mellifera*, resultando em problemas digestivos, desnutrição e redução na vida útil das abelhas infectadas (MARTÍN-HERNÁNDEZ *et al.*, 2018). Os efeitos desses parasitos e patógenos nas colônias variam de acordo com a localização geográfica, taxa de infestação e espécies de microsporídio envolvidos (PEÑA-CHORA *et al.*, 2023). Portanto, monitorar o estado nutricional das abelhas é de suma importância para maior resiliência e recuperação perante infestações e infecções.

Considerando que a produção de hidromel faz parte da cadeia do negócio apícola e que gera resíduos com potencial proteico e mineral, que são normalmente descartados pela agroindústria, foi realizada a avaliação desses resíduos como potenciais pós-bióticos na dieta suplementar de *A. mellifera* africanizada. Nesse contexto, esta pesquisa foi conduzida com o propósito de testar a suplementação mineral proteica, a partir de resíduos do hidromel, na infestação por *Leptus* sp. e *Varroa destructor*, e na infecção por microsporídio *Vairimorpha* sp. nas colônias de *A. mellifera* africanizada.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local de estudo e desenho experimental

A pesquisa foi conduzida no apiário localizado na Fazenda Experimental de Produção Vegetal do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas (CCAAB) (12°39'19.2"S; 39°04'58.3"W; 220 metros de altitude) e no Núcleo de Estudo dos Insetos (Insecta) (12°39'36.0"S; 39°05'08.0"W; 220 metros de altitude), da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Brasil.

Foram utilizadas 30 colônias de *A. mellifera* africanizada, capturadas em ambiente urbano e suburbano. Não houve controle da idade e da genética das rainhas selvagens utilizadas neste experimento. As colônias de *A. mellifera* africanizada foram instaladas em colmeias (núcleos) padrão Langstroth, com cinco quadros identificados com etiquetas contendo números (quadro) e letras (lado do quadro) para melhor controle do manejo. Foi adotado o Delineamento Experimental Inteiramente Casualizado (DIC) com seis tratamentos e cinco repetições.

Levando em consideração o ciclo de desenvolvimento das abelhas operárias (ovo-adulto $\approx$ 16 – 24 dias), assim como a idade em que executam a primeira viagem de coleta ($\approx$ 18 – 26 dias) (MATTILA; HARRIS; OTIS, 2001; WINSTON, 2003; KNOLL *et al.*, 2020), a avaliação foi realizada durante oito semanas (tempo de alimentação das colônias com os tratamentos). Esse intervalo permitiu observar diferentes fases do ciclo de vida das abelhas, observar as taxas de infestação dos ácaros e avaliar o impacto na saúde das colônias.

Optou-se por realizar o estudo em ambiente natural devido à sua proximidade com a realidade ecológica desses insetos. Ambientes controlados têm vantagens como o estudo isolado de variáveis específicas, porém podem não capturar totalmente a complexidade do ambiente natural. Testes em ambientes naturais são importantes para compreender as interações com o meio incluindo competição por recursos e adaptações comportamentais frente a agentes estressores como predadores e doenças.

2.2 Procedimentos para o preparo dos tratamentos suplementares

2.2.1 Análises bromatológicas do resíduo de leveduras e da bentonita

As análises bromatológicas das amostras do resíduo de leveduras e da bentonita, providas de doação da “San’Mielle Hidromelaria”, foram realizadas no

Laboratório de Análises de Alimentos e Bromatologia do CCAAB/UFRB. As amostras foram pré-secas em estufa de ventilação forçada por 72 horas a 55°C. Posteriormente foram submetidas às análises para determinação da matéria seca (MS; método 967.03), material mineral (MM; método 942.05), e proteína bruta (PB; método 981.10), conforme AOAC (1977). As amostras foram moídas em moinho de facas tipo *Wiley* com peneira de 1mm, pesadas em balança de precisão, armazenadas em microtubos tipo *ependorf*[®] e identificadas de acordo com cada tratamento.

2.2.2 Formulação dos tratamentos

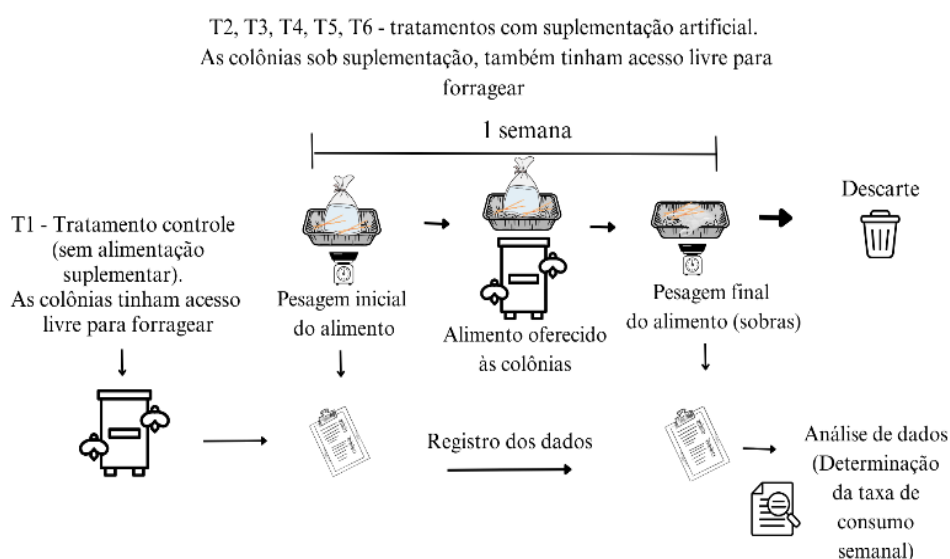
Os ingredientes para o preparo do xarope utilizado como base para compor os tratamentos suplementados foram: açúcar comum e água potável, na proporção 1:1. Os seis tratamentos consistiram em: T1 – tratamento controle (alimentação natural forrageada pelas abelhas); T2 – xarope (1L), suplemento energético amplamente utilizado na apicultura; T3 – xarope com adição do complexo de aminoácidos comercial (1mL.L⁻¹), conhecido como promotor de crescimento para enxames (CAC - suplemento vitamínico com nove aminoácidos, da marca HIPRA – Equilibrium[®]); T4 – xarope com adição do resíduo de leveduras (1g.L⁻¹), proveniente do processo de fabricação do hidromel; T5 – xarope com adição do resíduo de bentonita (1g.L⁻¹), proveniente do processo de fabricação do hidromel; T6 – xarope com adição da mistura resíduos de leveduras e de bentonita (1g.L⁻¹), proveniente do processo de fabricação do hidromel. É importante ressaltar que durante todo o período em que as colônias estavam sob suplementação, as mesmas tinham acesso livre ao ambiente aberto para forragear.

2.2.3 Fornecimento e avaliação do consumo nos tratamentos

Após preparo, o xarope com e sem suplemento referente a cada tratamento, foi armazenado em embalagem plástica (saco bobina plástica picotada para alimentos, capacidade: 2L). As embalagens contendo os tratamentos foram transportadas ao apiário, em seguida colocados em alimentadores internos (utilizou-se bandejas plásticas, retangulares, transparentes com uma fina camada de cera apícola na parte interna). Cada conjunto formado pelo alimentador (peso médio = 21,19g) e alimento foi pesado individualmente em balança digital (marca

SF-400, precisão eletrônica de 1g a 10 kg) para se obter o peso inicial do alimento (por colônia). Em seguida, o alimentador foi acomodado sobre os quadros dentro das colmeias e as embalagens plásticas contendo os alimentos foram perfuradas para liberação do conteúdo. Para evitar eventuais afogamentos das abelhas no xarope, além da camada de cera nas bandejas, foram colocados flutuadores (cinco palitos de madeira, do tipo picolé) em todos os alimentadores. Na primeira semana da aplicação dos suplementos artificiais, as colônias (exceto do T1 - controle) receberam seus respectivos tratamentos. Esse procedimento foi repetido semanalmente, onde essas colônias foram alimentadas, simultaneamente, em período diurno. O conjunto formado pelo alimentador e alimento restante foi pesado para se determinar a taxa de consumo semanal (peso inicial – peso final) de cada colônia. A quantidade de alimento consumida em cada semana foi somada para se obter o consumo total de alimento por colônia durante o período experimental. As sobras de alimento (quando houve) foram armazenadas em baldes com tampas e encaminhadas para descarte em Laboratório, de forma a evitar possíveis saques pelas abelhas das outras colônias (Figura 1).

Figura 1. Esquema do procedimento para fornecimento e avaliação (pesagem) do consumo suplementar (tratamentos) das colônias *Apis mellifera* para se determinar a taxa de consumo semanal dos tratamentos (peso inicial – peso final) de cada colônia.



Fonte: os autores, 2024.

2.3 Pesagem das colônias

Para se obter os valores das variáveis de peso das colônias, foi realizada a pesagem de todas as colônias antes (peso inicial) e depois (peso final) dos tratamentos. Utilizou-se balança digital (marca U4home, modelo 2005D, capacidade máxima de 150kg de alta precisão). A mensuração do peso das colônias foi obtida pela diferença entre o peso inicial e o peso final, das colônias, baseando-se nos métodos utilizados por Lefebvre e Pierre (2006) e Human *et al.* (2013). Considerando as particularidades do cenário, foram realizadas modificações ou ajustes (tipo de balança utilizada, etc.), para tornar a metodologia mais adequada à pesquisa em questão. Os dados foram tabulados e submetidos às análises estatísticas.

2.4 Coleta de amostras nas colônias

Amostras contendo aproximadamente 300 operárias foram coletadas de cada colônia, antes e após da suplementação alimentar e foram mantidas em álcool 70% em freezer à 80°C para as análises das taxas de infestação por *Leptus* sp. e por *V. destructor*, e dos níveis de infecção por *Varimorphora* sp. As análises foram realizadas no Laboratório de Morfometria e da Saúde das Abelhas do Núcleo de Estudo dos Insetos - Insecta/CCAAB/UFRB.

As abelhas foram coletadas com autorização concedida pelo SISBIO, de acordo com o art. 28 da IN 03/2014: número: 87442-1. Expedido com base na Instrução Normativa nº Portaria ICMBio nº 748/2022.

2.5 Determinação da infestação por ácaros *Leptus* sp. e *Varroa destructor*

As análises para avaliar os índices de infestação dos ácaros *Leptus* sp. e *V. destructor* foram realizadas nos Laboratórios de Morfometria e da Saúde das Abelhas, do Insecta/CCAAB/UFRB, seguindo a metodologia de Dietemann *et al.* (2013). As abelhas de cada amostra foram colocadas em peneira para remoção do álcool 70%. Uma bandeja plástica foi utilizada para a contagem e separação dos ácaros. Com ajuda de pinças cirúrgicas, os ácaros foram retirados dos corpos das abelhas, contados e registrados. Após todo procedimento, as amostras de ácaros e abelhas foram depositadas, separadamente, em microtubos tipo *eppendorf*® e tubos tipo Falcon, e armazenados em freezer -80°C.

Para mensurar a taxa de infestação de ácaros (*Leptus* sp. e *V. destructor*) em abelhas (adultas) nas colônias estudadas foi utilizado a equação 1.

$$TIA_v = \frac{N_A}{N_B} \cdot 100 \quad (1)$$

Onde,

TIA = taxa de infestação do ácaro;

v = *Varroa*;

l = *Leptus*;

NA = número de ácaros encontrados;

NB = número de abelhas.

2.6 Determinação dos níveis de infecção por *Vairimorpha* sp.

Para a determinação de infecção por microsporídio *Vairimorpha* sp., nas colônias, seguiu-se a metodologia proposta por Human *et al.* (2013). Abdômenes de 30 abelhas (de cada amostra) foram retirados e macerados em almofariz (cadinho e pistilo) até formar uma pasta, posteriormente foi adicionado 30 mL de água destilada (1mL/por abelha). A mistura foi homogeneizada e filtrada em manta de *voil*. Uma alíquota de 10µL do homogeneizado foi colocada em cada lado da câmara de Neubauer e, após 2 minutos, foi realizada a contagem do número de esporos em microscópio óptico (marca Olympus®) com ampliação de 400x.

Após a contagem dos esporos de *Vairimorpha* sp., aplicou-se a equação 2 para calcular o número de esporos por abelha e assim determinar o nível de infecção.

$$Z = \left(\frac{\alpha}{\beta} \right) \cdot \delta \cdot 250.000 = n \quad (2)$$

Onde,

Z = Número de esporos por abelhas;

A = Números de esporos contados;

β = Números de quadrados contados;

δ = Fator de diluição (se houver)

n = nº de esporos por mL

O nível de infecção por microsporídio *Vairimorpha* sp., foi determinado conforme a tabela proposta por Jaycox e Parise (1980), adaptada por Calderón-Fallas e Moreno-Morales (2022) que classifica os níveis e intensidade de infecção (número de esporos/abelhas) da doença nose-mose em abelhas (Tabela 1).

Tabela 1. Classificação dos níveis de infecção, intensidade e quantidade de esporos/abelhas (mL) de microsporídio *Vairimorpha* sp.

Nível de infecção	Intensidade	Quantidade de esporos(mL)
Nulo	0	Menos de 10.000
Muito leve	1	10.000 - 1.000.000
Leve	2	1.000.001 - 5.000.000
Moderado	3	5.000.001 a 10.000.000
Semiforte	4	10.000.001 a 20.000.000
Forte	5	Acima de 20.000.000

Fonte: Calderón-Fallas e Moreno-Morales (2022).

Para se obter a percentagem de colônias, dentro de cada tratamento (antes e depois) em relação ao nível de infecção por microsporídio *Vairimorpha* sp. foi aplicada a equação 3.

$$N_{ir} = \frac{N_i}{N_t} \cdot 100 \quad (3)$$

Onde,

N_{ir} = Níveis de infecção relativa

N_i = Níveis de infecção individual

N_t = Níveis de infecção total

2.7 Análises estatísticas

Os dados foram submetidos às análises estatísticas utilizando o software R® v.4.2.3 (R CORE TEAM, 2023), adotando um nível de significância de $\alpha = 0,05$ para todas as análises realizadas. Inicialmente foram testados os pressupostos para realização da Análise de Variância (ANOVA), aplicando o teste de Shapiro-

Wilk para avaliar a normalidade dos resíduos e, o teste de Levene para verificar a homogeneidade das variâncias, utilizando o pacote “car” (FOX; WEISBERG, 2019).

Os dados que não atenderam aos pressupostos foram submetidos às transformações. Deste modo, os valores referentes ao nível de infecção por microsporídio *Vairimorpha* sp., foram transformados pelo método de Box-Cox (1964) com adição da constante 0,5 em todos os valores (YAMAMURA, 1999). Os dados de taxa de infestação *V. destructor*, foram submetidos a transformação logarítmica ($\text{Log}(x+10)$) (PIMENTEL-GOMES, 2009). Os dados de consumo de alimento foram submetidos a uma análise exploratória para identificação de outliers utilizando a função “*identify_outliers*” do pacote “rstatix” (KASSAMBARA, 2023). Os outliers identificados foram removidos das análises, a fim de garantir que os dados atendessem aos pressupostos de normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias.

A variável consumo total de alimento foi analisada por meio da ANOVA para testar a hipótese nula de que o consumo total foi igual em todos os tratamentos, seguida do teste *post-hoc* de Tukey. Para as variáveis peso da colônia, infestação por *V. destructor* e infecção por *Vairimorpha* sp., foi aplicada ANOVA, para testar a hipótese nula de que os tratamentos apresentaram médias iguais para cada variável analisada antes e após a aplicação, quando rejeitada a hipótese nula aplicou-se o teste *post-hoc* de Tukey. ANOVA e o teste de Tukey foram aplicados utilizando o pacote “ExpDes.pt” (FERREIRA; CAVALCANTI; NOGUEIRA, 2021). Os dados de peso da colônia, infestação por *V. destructor* e infecção por *Vairimorpha* sp., foram submetidos também ao teste T pareado em cada tratamento individualmente, para testar a hipótese nula de que não houve alterações nas médias das variáveis estudadas após a suplementação alimentar.

Os valores da variável infestação por *Leptus* sp., não se adequaram aos pressupostos da ANOVA mesmo após tentativas de transformações. Deste modo, foi aplicado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, para testar a hipótese nula de que a mediana da taxa de infestação antes e após a aplicação é igual entre os tratamentos. Posteriormente, foi aplicado aos mesmos dados o teste de Wilcoxon para dados pareados, a fim de testar a hipótese nula de que não houve alteração na taxa de infestação após a aplicação em cada tratamento, ambos os testes foram realizados utilizando o pacote “rstatix” (KASSAMBARA, 2023).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Análises bromatológicas do resíduo de leveduras e da bentonita

As análises bromatológicas das amostras do resíduo de leveduras, do resíduo de bentonita e da mistura dos resíduos de leveduras e de bentonita apresentaram os teores de matéria seca (MS), de material mineral (MM) de proteína bruta (PB), em percentagem, conforme observados na tabela 2.

Tabela 2. Composição bromatológica do resíduo de leveduras, da bentonita e da mistura resíduo de levedura e bentonita, em percentagem. Onde: MS = matéria seca; MM = material mineral; PB = proteína bruta.

Item	Resultados da Análise bromatológica (%)		
	Resíduo de leveduras	Bentonita	Resíduo de leveduras + Bentonita
MS	20,31	7,55	13,41
MM	4,89	50,70	42,86
PB	43,55	4,86	26,90

O teor de proteína bruta (PB) nas amostras de resíduo de leveduras (43,55%) superou o percentual presente no pólen ($\approx 23-30\%$), considerado ótimo para o desenvolvimento bem-sucedido das crias (TELLERÍA *et al.*, 2019). Segundo Herbert, Shimanuki e Caron (1977) O percentual de proteína dentro da faixa de 23 a 50% administrado na dieta das abelhas, principalmente das nutrízes, assegura o crescimento e secreção das suas glândulas hipofaríngeas, cuja função é a síntese de geleia real, alimento essencial às larvas das futuras rainhas. No âmbito científico, o teor ideal de material mineral indicado à dieta das abelhas ainda não foi consolidado, porém, os resultados da análise bromatológica para o teor de MM no resíduo de leveduras (4,89%), utilizado nessa pesquisa, foram condizentes com pesquisas anteriores que atestaram que teores de minerais entre 1 a 5% incluídos na dieta das abelhas influenciam as atividades de enzimas antioxidantes, que protegem as células contra danos causados pelos radicais livres (HERBERT; SHIMANUKI, 2015; ZHANG *et al.*, 2015). Teores adequados de minerais como

Zinco (Zn) e Cobre (Cu) influenciam positivamente a qualidade nutricional da geleia real (ZHANG *et al.*, 2015; NATION; ROBINSON, 2015). Outros minerais como Sódio (Na), Potássio (K) e Cálcio (Ca) também influenciam no desempenho das operárias nas atividades de puxadas de células de crias até a sua operculação (cria selada) (HERBERT JR., SHIMANUKI, 2015). Deste modo, dieta natural (pólen e néctar) com teores de minerais abaixo de 0,5% é considerada insuficiente para suprir as necessidades nutricionais, sendo sugerido suplemento mineral adicional na dieta artificial das abelhas (HERBERT; SHIMANUKI, 2015; ZHANG G *et al.*, 2015).

O resultado bromatológico para o teor de PB da amostra de bentonita (4,86%) apresentou valor abaixo do recomendado ($\approx 20-30\%$) para a nutrição das abelhas, enquanto o resultado para MM foi de 50,70%. De Sousa *et al.* (2022) consideraram que os minerais são importantes para o metabolismo das abelhas, cujas principais fontes de nutrientes são o pólen floral e o néctar. Porém, esses autores salientaram que níveis elevados de minerais podem ser prejudiciais para esses insetos, tanto imaturos quanto adultos.

Embora, a análise bromatológica para a amostra resíduo de leveduras + bentonita tenha indicado o teor para PB (26,90), adequado para uso na alimentação suplementar (HERBERT; SHIMANUKI; CARON, 1977; TELLERÍA *et al.*, 2019), a análise para MM (42,86) dessa combinação apresentou teor elevado (HERBERT JR.; SHIMANUKI, 2015), que pode causar rejeição ao alimento devido ao sabor não palatável às abelhas (HERBERT; SHIMANUKI; CARON, 1977; HOOVER; OVINGE; KEARNS, 2022).

Em estudo, conduzido por Lau e Nieh (2016) sobre a ingestão de minerais, em solução de sacarose, comuns no pólen, mostraram que as abelhas possuem capacidade de regular a ingestão desses minerais, evitando concentrações elevadas e tóxicas. Dow (2017) destacou que a regulação dos íons metálicos é fundamental para que o organismo mantenha a estabilidade do ambiente interno em relação as variações externas influenciando na fisiologia das abelhas. Além disso, néctar enriquecido com sódio exerce influência nas taxas de visitas das abelhas às flores, o que indica que a ingestão mineral também interfere no comportamento forrageador desses insetos (FINKELSTEIN *et al.*, 2022).

Herbert Jr. e Shimanuki (2015) compararam diferentes tratamentos nos quais as abelhas alimentadas com dieta contendo 8% de cinzas (presentes no

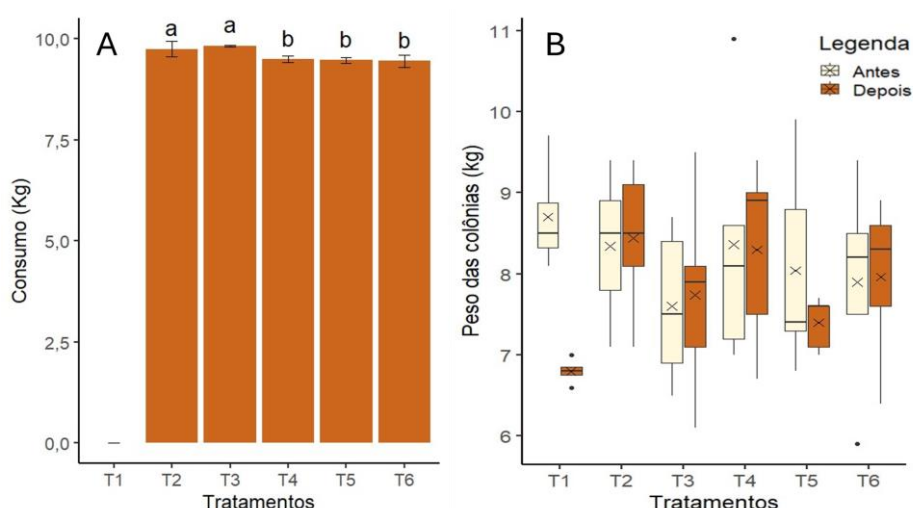
pólen) produziram menos crias até o estágio de pupa do que aquelas alimentadas com teor abaixo de 6% de cinzas. Esses autores sugeriram que alimentos com baixos teores desse micronutriente são mais atrativos às abelhas e que embora os minerais não sejam essenciais para o desenvolvimento das glândulas hipofaringeanas, importante para o crescimento da colônia, a área de crias aumentou com esses teores ótimos de cinzas na dieta.

Em suma, os minerais encontrados no néctar provavelmente têm funções relacionadas ao paladar, atraindo certos polinizadores em baixas concentrações e repelindo em concentrações mais altas (AFIK *et al.*, 2014). Essa relação com a palatabilidade pode influenciar também nos tipos de dietas utilizadas como suplementação para abelhas.

3.2 Avaliação do consumo dos suplementos e peso das colônias

As colônias estudadas consumiram em média 79,20% do alimento fornecido durante todo o experimento. De acordo com as observações durante o manejo semanal no apiário, a suplementação fornecida foi consumida em aproximadamente três dias e nenhuma perda de colônia ocorreu durante o experimento. Houve diferença significativa no consumo de alimento entre os tratamentos ($F_{(4,18)} = 9,556$; $p < 0,01$). A média de consumo total das colônias pertencentes aos tratamentos T2 (9,75kg) e T3 (9,83kg), foi significativamente superior às médias dos tratamentos T4 (9,49kg), T5 (9,47kg) e T6 (9,45kg) de acordo com o teste de Tukey ao nível de 5% de significância (Figura 2A). Não houve diferença significativa no peso das colônias entre os tratamentos, antes da aplicação ($F_{(5,23)} = 0,510$; $p = 0,765$) ou depois da aplicação ($F_{(5,23)} = 1,959$; $p = 0,123$), de acordo com o teste F da ANOVA. No entanto, quando aplicado o teste T pareado aos valores de peso da colônia antes e depois da aplicação, em cada tratamento individualmente, apenas o T1 apresentou redução de peso significativa ($t = 5,447$; $gl = 3$; $p = 0,012$) apresentando peso médio inicial = 8,70kg e peso final = 6,80 kg (Figura 2B).

Figura 2. A) Média de consumo total (kg) do alimento em cada tratamento; B) peso das colônias de *Apis mellifera*, antes e depois dos tratamentos. T1 – controle; T2 – xarope; T3 – xarope com adição do complexo de aminoácidos comercial; T4 – xarope com adição do resíduo de leveduras; T5 – xarope com adição da bentonita; T6 – xarope com adição da mistura resíduo de leveduras e bentonita. O “X” no interior do box-plot representa a média de cada tratamento. Barras seguidas por letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.



Habitualmente, os apicultores oferecem, como alimento suplementar, xarope à base de açúcar e água, para suas colônias. Nesse sentido, o resultado obtido para a dieta T2 era esperado, uma vez que esse suplemento energético (xarope), rico em sacarose é rapidamente convertido em frutose e glicose, possui boa palatabilidade e é bem aceito pelas abelhas (KUMAR *et al.*, 2021).

De forma semelhante, o consumo do T3 pelas colônias (xarope + CAC) foi maior. Esse resultado pode estar relacionado à maior solubilidade do CAC, uma vez que os resíduos provenientes da produção do hidromel, presentes nos T4, T5 e T6 são menos solúveis (AL-KHALAF *et al.*, 2023; SIMÃO *et al.*, 2023). Após serem diluídos ao xarope, parte dos resíduos de leveduras e bentonita (T4, T5, T6) pode ter decantado antes do consumo pelas abelhas. Alguns autores sugeriram que os suplementos moídos (em pó) devem possuir características semelhantes à farinha de trigo, para evitar problemas de dissolução no preparo das dietas e facilitar a absorção do alimento pelas abelhas (AHMED *et al.*, 2019; MOURJANE *et al.*, 2023). Contudo, é importante esclarecer que a decantação mencionada, dos resíduos utilizados (leveduras e bentonita), na presente pesquisa, não ocorreu no momento do preparo dos suplementos, havendo homogeneização de todos os ingredientes utilizados como tratamento até o momento da oferta às colônias.

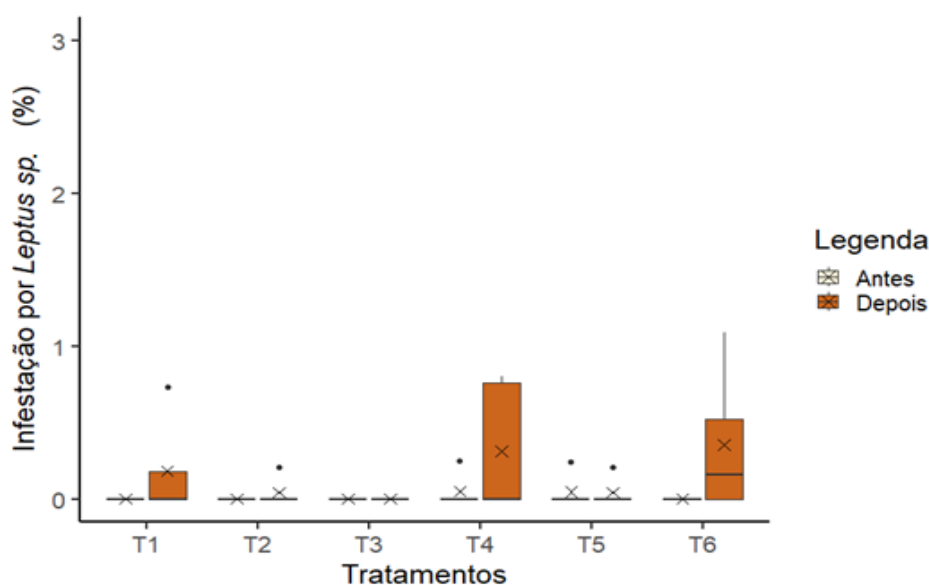
Como os tratamentos utilizados nesta pesquisa tinham o xarope como base para a elaboração dos suplementos (com exceção do T1, sem suplemento) e nenhum dos tratamentos com suplementação foi rejeitado, sugere-se que a suposta preferência das colônias pelo tratamento T3 se deve somente à combinação e boa diluição do CAC com glicose e frutose contidas no xarope. Esse fato também foi sugerido por Castagnino *et al.* (2006) e Castagnino *et al.* (2022), que não observaram impacto superior no crescimento das colônias com o uso do CAC, em comparação com aquelas que receberam apenas xarope, atribuindo os benefícios observados principalmente ao xarope e não ao CAC.

Quanto à redução de peso das colônias do T1 (controle) pode estar relacionada com a redução da disponibilidade de néctar e pólen no período da realização da pesquisa. De acordo com Puškadija *et al.* (2017), a falta de suplementação e a oferta de flora apícola reduzida causam uma diminuição significativa na ingestão de pólen pelas abelhas, sendo necessário o consumo do pólen armazenado (pão de abelha), o que ocasiona redução no peso, no tempo de vida das operárias, produção insuficiente de geleia real necessária para o desenvolvimento sadio das larvas, diminuição na postura, portanto menos crias, resultando em colônias menos populosas e, conseqüentemente, com menor peso.

3.3 Taxas de infestação por ácaros *Leptus* sp. e *Varroa destructor*

Os resultados para as taxas de infestação por ácaro *Leptus* sp. não foram significativos, entre todos os tratamentos antes da aplicação (KW = 3,943; gl= 5; $p= 0,558$) ou depois da aplicação (KW= 5,388; gl= 5; $p= 0,370$) no período experimental, de acordo com o teste de Kruskal-Wallis. Além disso, ao aplicar o teste de Wilcoxon, para comparar a diferença da taxa de infestação de cada tratamento individualmente antes e após a aplicação, também não foram observadas diferenças significativas em nenhum dos tratamentos. Isso sugere que a taxa de infestação por *Leptus* sp., permaneceu constante em todos os tratamentos (Figura 3).

Figura 3. Taxa de infestação por *Leptus* sp., antes e depois dos tratamentos nas colônias de *Apis mellifera*, usadas no experimento. T1 – controle; T2 – xarope; T3 – xarope com adição do complexo de aminoácidos comercial; T4 – xarope com adição do resíduo de leveduras; T5 – xarope com adição da bentonita; T6 – xarope com adição da mistura resíduo de leveduras e bentonita. O “X” no interior do box-plot representa a média de cada tratamento. Barras seguidas por letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

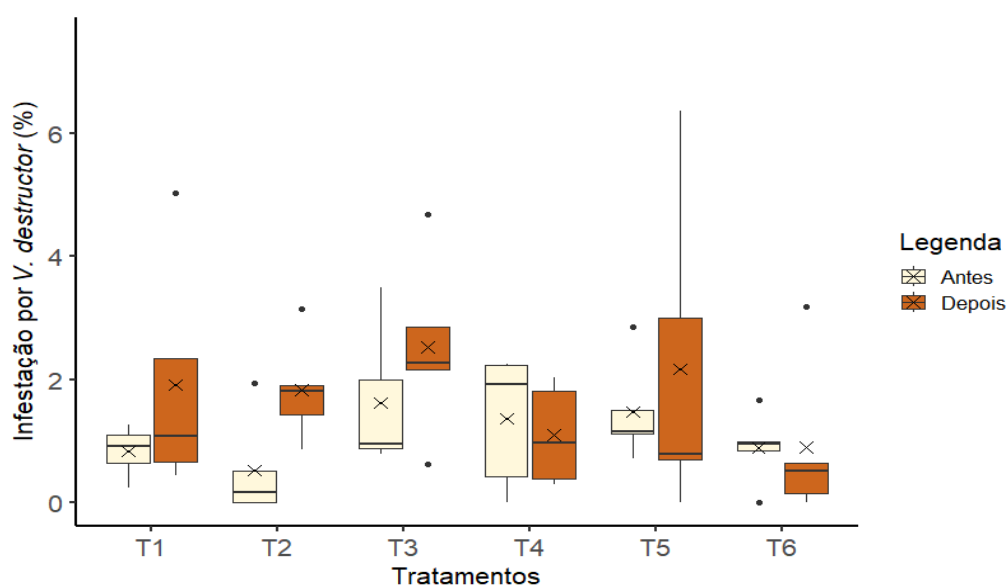


O resultado não significativo para o nível de infestação por ácaros *Leptus* sp., nas colônias examinadas pode ser atribuído a dois fatores: primeiro, o comportamento peculiar desses ectoparasitas, que ovipositam no solo ou nas folhas das plantas (MARTIN; CORREIA-OLIVEIRA, 2016). Após a eclosão, as larvas aguardam a chegada do hospedeiro, neste caso as abelhas, enquanto elas coletam alimentos. Em segundo lugar, o período do ano e a menor intensidade de forrageamento reduz a interação entre abelhas, ácaros e patógenos (RIESSBERGER; CRAILSHEIM, 1997).

A taxa de infestação por *V. destructor* considerando todos os tratamentos antes da aplicação dos suplementos variou entre 0% e 3,49%. As médias em cada tratamento não diferiram estatisticamente entre si ($F_{(5,23)} = 1,233$; $p = 0,326$) pelo teste F da ANOVA. No final do período experimental o nível de infestação em todos os tratamentos variou entre 0% e 6,37% e também as médias não diferiram estatisticamente entre si ($F_{(5,23)} = 0,777$; $p = 0,576$) pelo teste F da ANOVA. As variações do nível de infestação por *V. destructor* em cada tratamento individualmente, antes e depois da aplicação dos suplementos, foram significativas

pelo teste T pareado apenas nos tratamentos T2 ($t = -4,543$; $gl = 4$; $p = 0,01$) e T3 ($t = -3,048$; $gl = 4$; $p = 0,038$) (Figura 4).

Figura 4. Taxa de infestação por *Varroa destructor* antes e depois dos tratamentos nas colônias de *Apis mellifera*, usadas no experimento. T1 – controle; T2 – xarope; T3 – xarope com adição do complexo de aminoácidos comercial; T4 – xarope com adição do resíduo de leveduras; T5 – xarope com adição da bentonita; T6 – xarope com adição da mistura resíduo de leveduras e bentonita. O “X” no interior do box-plot representa a média de cada tratamento. Barras seguidas por letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.



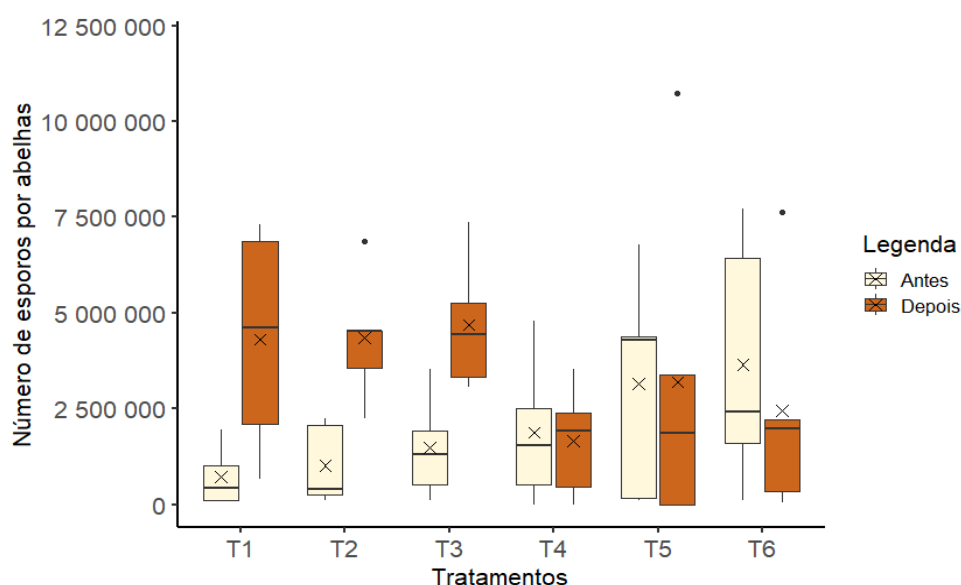
Embora o limite aceitável para populações de *V. destructor* nas colônias de *A. mellifera* varie de 5% a 12% em outros países (GREGORC; SAMPSON, 2019), o Brasil ainda não tem um consenso quanto a essa percentagem. Logo, baseado em nesses limites internacionais, as taxas de infestação por *V. destructor* encontrados nas colônias dos tratamentos T1 (5,026%) e T5 (6,373%) indicam necessidade de monitoramento para evitar proliferação dos ácaros (CASTILHOS *et al.*, 2020). No entanto, ao final do experimento, a taxa média de infestação por *V. destructor* nas colônias estudadas foi de 1,71%, ficando abaixo do limite recomendado na literatura.

3.4 Níveis de infecção por microsporídio *Vairimorpha* sp.

O número médio de esporos por abelha do microsporídio *Vairimorpha* sp. em todas as colônias antes da aplicação dos tratamentos esteve entre 0 (nível de

infecção: nulo) e 7.716.667,00 (nível de infecção: moderado). Após a aplicação dos tratamentos o número médio de esporos por abelhas, em todas as colônias ficou entre 0 (nível de infecção: nulo) e 10.733.333,33 (nível de infecção: semiforte). A infecção por *Vairimorpha* sp. entre os tratamentos antes da aplicação, não diferiram estatisticamente entre si ($F_{(5,23)} = 0,724$; $p = 0,613$). Após o período experimental, os níveis de infecção também não foram significantes entre os tratamentos ($F_{(5,23)} = 1,459$; $p = 0,242$). Porém, de acordo com o teste T pareado os resultados indicaram alterações significativas nos níveis de infecção dos tratamentos T2 ($t = -3,970$, $gl = 4$; $p = 0,017$) e T3 ($t = -3,755$, $gl = 4$; $p = 0,020$) ao final do experimento, sugerindo aumento no número médio de esporos por abelhas nas amostras das colônias submetidas aos respectivos tratamentos (Figura 5).

Figura 5. O número médio de esporos por abelha, do microsporídio *Vairimorpha* sp. antes e depois da aplicação dos tratamentos nas colônias de *Apis mellifera* usadas no experimento. T1 – controle; T2 – xarope; T3 – xarope com adição do complexo de aminoácidos comercial; T4 – xarope com adição do resíduo de leveduras; T5 – xarope com adição da bentonita; T6 – xarope com adição da mistura resíduo de leveduras e bentonita. O “X” no interior do box-plot representa a média de cada tratamento. Barras seguidas por letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

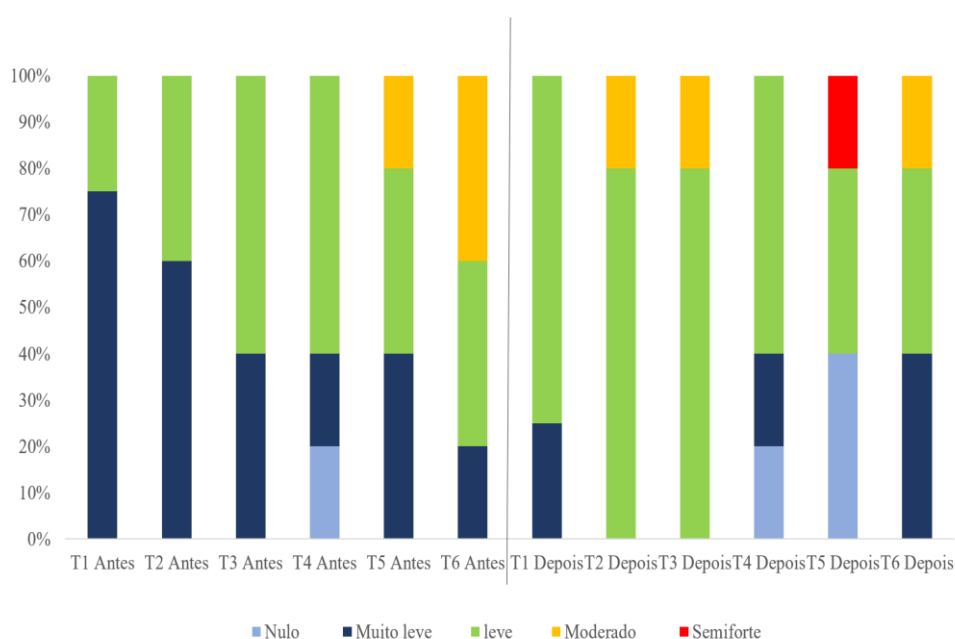


Independentemente dos tratamentos utilizados, houve oscilação quanto à classificação do nível de infecção por microsporídio *Vairimorpha* sp., de acordo com a tabela de Calderón-Fallas e Moreno-Morales (2022), em quase todas as colônias desta pesquisa. No tratamento controle (T1), 75% das colônias passaram do nível

"muito leve" para o nível "leve" ao final do experimento. Das colônias suplementadas com o "T2", antes da aplicação, 60% estavam com nível "muito leve" e 40% nível "leve", de infecção; porém, essas percentagens mudaram para 80% no nível "leve" e 20% no nível "moderado" após a aplicação dos tratamentos. No "T3", colônias que estavam nos níveis "muito leve" (40%) e "leve" (60%) passaram a apresentar nível "leve" (80%) e nível "moderado" (20%) de infecção. Após a aplicação dos tratamentos, "T5" apresentou 40% das colônias no nível "nulo", 40% no nível e "leve" 20% no nível "semiforte", enquanto que "T6", apresentou 40% das colônias no nível "muito leve", 40% "leve" e 20% nível "moderado" de infecção por microsporídio *Vairimorpha* sp.

Dos seis tratamentos utilizados, somente em "T4", a classificação do nível de infecção permaneceu inalterada, apresentando 20% das colônias no nível "nulo", 20% no nível "muito leve" e 60% no nível "leve", antes e depois da aplicação dos tratamentos. As oscilações nas percentagens de colônias quanto ao nível de infecção, antes e depois da aplicação dos tratamentos podem ser visualizadas na Figura 6.

Figura 6. Percentagem de colônias *Apis mellifera* e seus respectivos níveis de infecção por microsporídio *Vairimorpha* sp. antes e depois da aplicação dos tratamentos.



O nível “moderado” de infecção apresentado no gráfico, correspondente às colônias tratadas com xarope (T2) e xarope com adição do CAC (T3), não sugere a presença da nosemose, doença que causa perdas significativas de colônias, porém o número médio de esporos/abelhas aumentou consideravelmente em relação as colônias submetidas aos demais suplementos. Essa alteração, no nível de infecção por microsporídio *Vairimorpha* sp. pode estar relacionada ao fato dos esporos sobreviverem por mais tempo em xarope (sacarose), como observado por Gage *et al.* (2018) e Macinnis *et al.* (2022) que confirmaram a presença de esporos ativos nos xaropes utilizados como alimentação energética, aumentando o risco das abelhas se afogarem ou, acidentalmente, serem esmagadas durante o manejo, caindo nessa solução, liberando esporos e potencialmente infectando múltiplas colônias. Abelhas forrageadoras de colônias alimentadas somente com xarope e que já estejam infectadas por *Vairimorpha* sp. sentem mais fome, gastam mais energia, na busca por recursos e retornam às colônias com deficiência energética (MARTÍN-HERNÁNDEZ *et al.*, 2018).

Em experimento testando o estresse energético em colônias de *A. mellifera* tratadas com xarope puro e com adição do promotor de crescimento, demonstrou uma relação de competição patógeno-hospedeiro por nutrientes, resultando em aumento na contagem de esporos por abelhas, em comparação com outros tratamentos e apresentando nível “forte” de infecção (MARTÍN-HERNÁNDEZ *et al.*, 2011). Estudo semelhante, conduzido por Higes *et al.* (2011) constatou que colônias submetidas ao tratamento de xarope com adição do complexo de aminoácidos (CAC) apresentaram maior número de esporos/abelhas em relação aos outros tratamentos utilizados, correspondendo ao nível “forte” de infecção por microsporídio *Vairimorpha* sp.

Por outro lado, todas as colônias tratadas com (T4), nas mesmas condições de campo, que as demais colônias, se mantiveram nos níveis de baixa intensidade (0 – 2) representando menor número de esporos/abelhas. Esse resultado pode ser atribuído às propriedades nutricionais (minerais e proteínas) encontradas no resíduo de leveduras utilizado para compor esse tratamento, que também se apresentou como potencial pós-biótico na alimentação para abelhas. Estudo realizado por García-Vicente *et al.* (2023) em colônias suplementadas com pós-bióticos adicionados ao xarope melhorou notavelmente a saúde nutricional das colônias, refletindo na menor infecção por microsporídio *Vairimorpha* sp. e aumento

da população de operárias, mesmo em colônias inicialmente menores. Além disso, relataram que, os resultados com pós-bióticos foram superiores aos outros tratamentos utilizando probióticos na alimentação suplementar de *A. mellifera*. Logo, enquanto os xaropes oferecem energia rápida, a suplementação proteico energética oferece maior concentração de nutrientes, equilibrando as demandas energéticas das colônias e fornecendo nutrientes necessários para sua defesa contra a infecção (BORTOLOTTI; POŠĆIĆ; BOGO, 2020; TSURUDA; CHAKRABARTI; SAGILI, 2021).

Embora os níveis de infecção por microsporídio *Vairimorpha* sp. encontrados nas colônias utilizadas nesta pesquisa não tenham sido críticos (forte) na quantidade de esporos/abelha, a importância de medidas preventivas para proteger as colônias, principalmente, nos períodos que necessitam de suplementação, é crucial. Nesse sentido, o monitoramento constante dos níveis de infecção desse microsporídio e do estado nutricional das colônias podem ser importantes ferramentas para a promoção sustentável da criação racional de abelhas.

4. CONCLUSÕES

O tratamento com resíduo de leveduras (T4) destacou-se pelos baixos níveis de infestação e de infecção, bem como pela composição de proteínas e minerais.

Efeitos consistentes não foram detectados para a prevalências de *V. destructor*, *Leptus* sp. ou *Vairimorpha* sp. nos tratamentos à base de xarope com adição de bentonita (T5) e com a mistura de resíduos de leveduras e bentonita (T6).

Os tratamentos com xarope (T2) e com o complexo de aminoácidos comercial (T3) não são recomendados para suplementar a dieta de abelhas *A. mellifera* africanizada.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFIK, O. *et al.*, Nectar minerals as regulators of flower visitation in stingless bees and nectar hoarding wasps. **Journal of chemical ecology**, v. 40, p. 476-483, 2014.

AHMED, J.; THOMAS, L.; ARFAT, Y. A. Functional, rheological, microstructural and antioxidant properties of quinoa flour in dispersions as influenced by particle size. **Food Research International**, v. 116, p. 302-311, 2019.

AL-KHALAF, S. K. H. *et al.* The Effect of Bentonite Utilization as a Chemical Coagulant on the Performance of a Water Treatment Plant. **Ecological Engineering & Environmental Technology**, v. 24, n. 3, p. 249-257, 2023.

ANDREADIS, S. S. *et al.* Towards functional insect feeds: Agri-food by-products enriched with post-distillation residues of medicinal aromatic plants in *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) breeding. **Antioxidants**, v. 11, n. 1, p. 68, 2021.

AVÍRVAREI, A.C *et al.* Contribution of *Saccharomyces* and Non-*Saccharomyces* Yeasts on the Volatile and Phenolic Profiles of Rosehip Mead. **Antioxidants**, v. 12, n. 7, p. 1457, 2023.

BAKOUR, M. *et al.* Bee bread as a functional product: Chemical composition and bioactive properties. **Lwt**, v. 109, p. 276-282, 2019.

BALLI, D. *et al.* Food by-products valorisation: Grape pomace and olive pomace (pâté) as sources of phenolic compounds and fiber for enrichment of tagliatelle pasta. **Food Chemistry**, v. 355, p. 129642, 2021.

BAUR, F. J.; ENSMINGER, L. G. The association of official analytical chemists (AOAC). **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 54, n. 4, p. 171-172, 1977.

BERNARD, R.; FELSKA, M.; MAŁKOL, J. Erythraeid larvae parasitizing dragonflies in Zambia—description of *Leptus* (*Leptus*) chingombensis sp. nov. with data on biology and ecology of host-parasite interactions. **Systematic and Applied Acarology**, v. 24, n. 5, p. 790-813, 2019.

BORTOLOTTI, L.; POŠĆIĆ, F.; BOGO, G. Comparison of Different Pollen Substitutes for the Feeding of Laboratory Reared Bumble Bee (*Bombus terrestris*) Colonies. **Journal of Apicultural Science**, v. 64, n. 1, p. 91-104, 2020.

BOUKID, F. *et al.* Impact of diets including agro-industrial by-products on the fatty acid and sterol profiles of larvae biomass from *Ephesia kuehniella*, *Tenebrio molitor* and *Hermetia illucens*. **Insects**, v. 12, n. 8, p. 672, 2021.

BOX, G. EP; COX, D. R. An analysis of transformations. **Journal of the Royal Statistical Society Series B: Statistical Methodology**, v. 26, n. 2, p. 211-243, 1964.

CALDERÓN-FALLAS, R. A.; MORENO-MORALES, E. Infection level of microsporidium *Nosema* spp. In africanized honey bee colonies and the irrelationship with precipitation and relative humidity. **Agronomía Costarricense**, v. 46, n. 1, p. 65-75, 2022.

CALFEE, E. *et al.* Selection and hybridization shaped the rapid spread of African honey bee ancestry in the Americas. **PLoS Genetics**, v. 16, n. 10, p. e1009038, 2020.

CASTAGNINO, G. L. B. *et al.* Development of colonies of urucu stingless bees fed a vitamin-amino acid supplement. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 23, p. 01-12, 2022.

CASTAGNINO, G. L. *et al.* Desenvolvimento de núcleos de *Apis mellifera* alimentados com suplemento aminoácido vitamínico, Promotor L[®]. **Ciência Rural**, v. 36, p. 685-688, 2006.

CASTILHOS, D. *et al.* *Varroa destructor* infestation levels in Africanized honey bee colonies in Brazil from 1977 when first detected to 2020. **Apidologie**, v. 54, n. 1, p. 5, 2023.

CAVALCANTE DA SILVA, S. M. P. *et al.* Production and characterization of mead from the honey of *Melipona scutellaris* stingless bees. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 124, n. 2, p. 194-200, 2018.

DE ASSIS, J. C. *et al.* Sublethal doses of imidacloprid and pyraclostrobin impair fat body of solitary bee *Tetrapedia diversipes* (Klug, 1810). **Environmental Pollution**, v. 304, p. 119140, 2022.

DE OLIVEIRA, I. V. *et al.* Produção e caracterização do hidromel tipo doce. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 3, p. 11176-11191, 2020.

DE SOUSA, R. T.; DARNELL, R.; WRIGHT, G. A. Behavioural regulation of mineral salt intake in honeybees: a self-selection approach. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v. 377, n. 1853, p. 20210169, 2022.

DECOURTYE, A. *et al.* Toward the protection of bees and pollination under global change: present and future perspectives in a challenging applied science. **Current opinion in insect science**, v. 35, p. 123-131, 2019.

DEQUENNE, I.; PHILIPPART DE FOY, J. M; CANI, P. D. Developing Strategies to Help Bee Colony Resilience in Changing Environments. **Animals**, v. 12, n. 23, p. 3396, 2022.

DIETEMANN, V. *et al.* Standard methods for varroa research. **Journal of apicultural research**, v. 52, n. 1, p. 1-54, 2013.

DOW, J. A. T. The essential roles of metal ions in insect homeostasis and physiology. **Current Opinion in Insect Science**, v. 23, p. 43-50, 2017.

FERREIRA, E. B; CAVALCANTI, P. P; NOGUEIRA D. A. **_ExpDes.pt: Pacote Experimental Designs (Portugues)_**. R package version 1.2.2; 2021. Disponível em: <https://cran.r-project.org/web/packages/ExpDes.pt/index.html>. Acesso em 12 out. 2023.

FINKELSTEIN, C. J. *et al.* Sodium-enriched floral nectar increases pollinator visitation rate and diversity. **Biology letters**, v. 18, n. 3, p. 20220016, 2022.

FOX, J.; WEISBERG, S. **_An R Companion to Applied Regression_, Third edition.** Sage, Thousand Oaks CA, 2019. Disponível em: <https://socialsciences.mcmaster.ca/jfox/Books/Companion/>. Acesso em: 12 de out. 2023.

FRIZZERA, D. *et al.* Possible side effects of sugar supplementary nutrition on honey bee health. **Apidologie**, v. 51, p. 594-608, 2020.

GAGE, S. L. *et al.* *Nosema ceranae* parasitism impacts olfactory learning and memory and neurochemistry in honey bees (*Apis mellifera*). **Journal of Experimental Biology**, v. 221, n. 4, p. jeb161489, 2018.

GARCÍA-VICENTE, E. J. *et al.* Effect of feed supplementation with probiotics and postbiotics on strength and health status of honey bee (*Apis mellifera*) hives during late spring. **Research in Veterinary Science**, v. 159, p. 237-243, 2023.

GHRAMH, H. A.; KHAN, K. A. Honey bees prefer pollen substitutes rich in protein content located at short distance from the apiary. **Animals**, v. 13, n. 5, p. 885, 2023.

GÓMEZ-GARCÍA, R. *et al.* Valorization of melon fruit (*Cucumis melo* L.) byproducts: Phytochemical and Biofunctional properties with Emphasis on Recent Trends and Advances. **Trends in Food Science & Technology**, v. 99, p. 507- 519, 2020.

GREGORC, A.; SAMPSON, B. Diagnosis of varroa mite (*Varroa destructor*) and sustainable control in honey bee (*Apis mellifera*) colonies—a review. **Diversity**, v. 11, n. 12, p. 243, 2019.

HERBERT JR, E. W.; SHIMANUKI, H. Mineral requirements for brood-rearing by honeybees fed a synthetic diet. **Journal of Apicultural Research**, v. 17, n. 3, p. 118-122, 2015.

HERBERT JR, E. W.; SHIMANUKI, H.; CARON, D. Optimum protein levels required by honey bees (Hymenoptera, Apidae) to initiate and maintain brood rearing. **Apidologie**, v. 8, n. 2, p. 141-146, 1977.

HIGES, M. *et al.* The stability and effectiveness of fumagillin in controlling *Nosema ceranae* (Microsporidia) infection in honey bees (*Apis mellifera*) under laboratory and field conditions. **Apidologie**, v. 42, p. 364-377, 2011.

HOOVER, S. E.; OVINCE, L. P.; KEARNS, J. D. Consumption of supplemental spring protein feeds by western honey bee (Hymenoptera: Apidae) colonies: effects on colony growth and pollination potential. **Journal of Economic Entomology**, v. 115, n. 2, p. 417-429, 2022.

HUMAN, H. *et al.* Miscellaneous standard methods for *Apis mellifera* research. **Journal of Apicultural Research**, v. 52, n. 4, p. 1-53, 2013.

JAYCOX, E. R.; PARISE, S. G. Homesite selection by Italian honey bee swarms, *Apis mellifera* ligustica (Hymenoptera: Apidae). **Journal of the Kansas Entomological Society**, p. 171-178, 1980.

KASSAMBARA A. **rstatix**: Pipe-friendly framework for basic statistical tests. R package version 0.7.2; 2023. Disponível em: <https://cran.r-project.org/web/packages/rstatix/index.html>. Acesso em 12 out. 2023.

KAWA-RYGIELSKA, J. *et al.* Fruit and herbal meads—Chemical composition and antioxidant properties. **Food Chemistry**, v. 283, p. 19-27, 2019.

KNOLL, S. *et al.* The honey bee (*Apis mellifera* L., 1758) and the seasonal adaptation of productions. Highlights on summer to winter transition and back to summer metabolic activity. A review. **Livestock Science**, v. 235, p. 104011, 2020.

KUMAR, M. *et al.* Impact of artificial diets on performance of *Apis mellifera* colonies during dearth periods. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 9, n. 3, p. 404-409, 2021.

KUMARI, I. *et al.* Evaluation of antioxidant and antibacterial potential of honey produced from stimulative diet fed bee colonies. **Discover Sustainability**, v. 4, n. 1, p. 21, 2023.

LAU, P. W.; NIEH, J. C. Salt preferences of honey bee water foragers. **Journal of Experimental Biology**, v. 219, n. 6, p. 790-796, 2016.

LEFEBVRE, D.; PIERRE, J. Hive weight as an indicator of bumblebee colony growth. **Journal of apicultural research**, v. 45, n. 4, p. 217-218, 2006.

LITTLE, C. M.; SHUTLER, D.; WILLIAMS, G. R. Associations among *Nosema* spp. fungi, *Varroa destructor* mites, and chemical treatments in honey bees, *Apis mellifera*. **Journal of Apicultural Research**, v. 54, n. 4, p. 378-385, 2022.

MACHADO, M. C. P. *et al.* Estudo do comportamento e caracterização de argilas bentoníticas após processo de liofilização. **Cerâmica**, v. 64, p. 207-213, 2018.

MACINNIS, C. I.; KEDDIE, B. A.; PERNAL, S. F. Honey bees with a drinking problem: Potential routes of *Nosema ceranae* spore transmission. **Parasitology**, v. 149, n. 5, p. 573-580, 2022.

MARTIN, S. J.; CORREIA-OLIVEIRA, M. E. The occurrence of ecto-parasitic *Leptus* sp. mites on Africanized honey bees. **Journal of Apicultural Research**, v. 55, n. 3, p. 243-246, 2016.

MARTÍN-HERNÁNDEZ, R. *et al.* *Nosema ceranae* in *Apis mellifera*: a 12 years postdetection perspective. **Environmental microbiology**, v. 20, n. 4, p. 1302-1329, 2018.

MATTILA, H. R.; HARRIS, J. L.; OTIS, G. W. Timing of production of winter bees in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. **Insectes Sociaux**, v. 48, p. 88-93, 2001.

MOHAMMADI, K.; SARIS, P. E. J. Biofilm formation of probiotic *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* on glass surface during beer bottle ageing. **Beverages**, v. 8, n. 4, p. 77, 2022.

MORTENSEN, A. N. *et al.* Effects of supplemental pollen feeding on honey bee (Hymenoptera: Apidae) colony strength and *Nosema* spp. infection. **Journal of Economic Entomology**, v. 112, n. 1, p. 60-66, 2019.

MOURJANE, A. *et al.* Determination of the Relationship between the Granulometry and Release of Polyphenols Using LC-UV, and Their Antioxidant Activity of the Pulp Powder of the Moroccan Argan Tree, "Argania spinosa L.". **Separations**, v. 10, n. 10, p. 542, 2023.

NASCIMENTO, R. Q. *et al.* Utilization of Agro-Industrial Residues in the Rearing and Nutritional Enrichment of *Zophobas atratus* Larvae: New Food Raw Materials. **Molecules**, v. 27, n. 20, p. 6963, 2022.

NATION, J. L.; ROBINSON, F. A. Concentration of some major and trace elements in honeybees, royal jelly and pollens, determined by atomic absorption spectrophotometry. **Journal of Apicultural Research**, v. 10, n. 1, p. 35-43, 1971.

PAIVA, J. P. L. M. *et al.* Effects of ensiling on the quality of protein supplements for honey bees *Apis mellifera*. **Apidologie**, v. 50, p. 414-424, 2019.

PEÑA-CHORA, G. *et al.* Presence and distribution of pests and diseases of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) in Mexico: A review. **The European Zoological Journal**, v. 90, n. 1, p. 224-236, 2023.

PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de Estatística Experimental**. Piracicaba: Editora FEALQ, 2009. 451p.

PUŠKADIJA, Z. *et al.* Late winter feeding stimulates rapid spring development of carniolan honey bee colonies (*Apis mellifera carnica*). **Poljoprivreda**, v. 23, n. 2, p. 73-76, 2017.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. version 4.2-3. Vienna: R Foundation for Statistical Computing; 2023. Disponível em: <https://www.R-project.org>. Acesso em 12 out. 2023.

RIESSBERGER, U.; CRAILSHEIM, K. Short-term effect of different weather conditions upon the behaviour of forager and nurse honey bees (*Apis mellifera carnica* Pollmann). **Apidologie**, v. 28, n. 6, p. 411-426, 1997.

RYABOV, E. V. *et al.* Dynamic evolution in the key honey bee pathogen deformed wing virus: Novel insights into virulence and competition using reverse genetics. **PLoS Biology**, v. 17, n. 10, p. e3000502, 2019.

SACCÀ, M. L.; LODESANI, M. Isolation of bacterial microbiota associated to honey bees and evaluation of potential biocontrol agents of *Varroa destructor*. **Beneficial Microbes**, v. 11, n. 7, p. 641-654, 2020.

SEN, S.; MANSELL, T. J. Yeasts as probiotics: Mechanisms, outcomes, and future potential. **Fungal Genetics and Biology**, v. 137, p. 103333, 2020.

SHADMEHR, S. *et al.* Effect of dietary supplement on the reproductive traits, products and behavioral characteristics of the European honey bee (*Apis mellifera*). **Journal of Apicultural Research**, v. 25, p. 1-9, 2023.

SIMÃO, L. *et al.* How Do Different Ingredients and Additives Affect the Production Steps and the Bioactive Potential of Mead?. **Food Technology and Biotechnology**, v. 61, n. 2, p. 179-190, 2023.

STAROWICZ, M.; GRANVOGL, M. Trends in food science & technology an overview of mead production and the physicochemical, toxicological, and sensory characteristics of mead with a special emphasis on flavor. **Trends in Food Science & Technology**, v. 106, p. 402-416, 2020.

TEJERINA, M. R.; BENÍTEZ-AHRENDTS, M. R.; AUDISIO, M. *Lactobacillus salivarius* A3iob reduces the incidence of *Varroa destructor* and *Nosema* spp. in commercial apiaries located in the northwest of Argentina. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, v. 12, p. 1360-1369, 2020.

TELLERÍA, M. C. *et al.* Protein content of pollen of Asteraceae collected by honey bees. **Bee World**, v. 96, n. 4, p. 104-107, 2019.

TOPAL, E. *et al.* The effect of supplementary feeding with different pollens in autumn on colony development under natural environment and in vitro lifespan of honey bees. **Insects**, v. 13, n. 7, p. 588, 2022.

TSURUDA, J. M.; CHAKRABARTI, P.; SAGILI, R. R. Honey bee nutrition. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 37, n. 3, p. 505-519, 2021.

WINSTON, M. L. The Biology of the Honey Bee—A Biologia da Abelha/tradução de Carlos A. Osowski—Ed. **Magister, Porto Alegre—RS**, v. 24, n. 38, p. 5, 2003.

WU, T. *et al.* Interaction of chlorothalonil and *Varroa destructor* on immature honey bees rearing in vitro. **Science of The Total Environment**, v. 904, p. 166302, 2023.

YAMAMURA, K. Transformation using $(x+0.5)$ to stabilize the variance of populations. **Population Ecology**, v. 41, n. 3, p. 229-234, 1999.

ZHANG, G. *et al.* Zinc nutrition increases the antioxidant defenses of honey bees. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 156, n. 3, p. 201-210, 2015.

CAPÍTULO 2

Suplementação artificial e seus efeitos no desenvolvimento de *Apis mellifera* L. africanizada**RESUMO**

Dietas suplementares vêm sendo desenvolvidas para manter as colônias populosas em períodos sazonais com escassez de pólen e néctar. O presente estudo objetivou investigar os efeitos da suplementação alimentar com resíduos da produção de hidromel no desenvolvimento de *Apis mellifera* africanizadas. A pesquisa foi conduzida em Cruz das Almas, Bahia. O experimento foi em delineamento inteiramente casualizado, com seis tratamentos e cinco repetições. Os tratamentos consistiram em: tratamento controle (T1); xarope (água e açúcar) (T2); xarope com adição de complexo de aminoácidos comercial (T3); xarope com adição de resíduo de leveduras (T4); xarope com adição de bentonita (T5) e xarope + composto dos resíduos de leveduras e de bentonita (T6). Os resíduos utilizados foram provenientes da produção do hidromel. Avaliou-se: comportamento higiênico, mapeamento dos quadros e proteína total nas abelhas das colônias de *A. mellifera* africanizadas. Observou-se que, ao final do experimento, colônias dos tratamentos T4, T5 e T6 foram higiênicas. O grupo T1 diferiu significativamente com a diminuição da área de crias ($F_{(5,24)} = 4,4753$; $p = 0,0051$); ($t = 3,7105$; $gl = 4$; $p = 0,0207$) e aumento da área vazia ($F_{(5,24)} = 2,7359$; $p = 0,043$); ($t = -3,5631$; $gl = 4$; $p = 0,0235$) ao final do experimento. Para proteína total, em T4 ($p = 0,01031$), T5 ($p = 0,03495$) e T6 ($p = 0,0006928$), as reduções foram significativas. Conclui-se que os resíduos do hidromel têm potencial para manter a população das colônias estáveis em períodos de restrição de forragem.

Palavras-chave: Nutrição das abelhas, Patologias apícolas, Subprodutos da colmeia.

CHAPTER 2

Artificial supplementation and its effects on the development of *Apis mellifera* L. africanizada**ABSTRACT**

Supplementary diets have been developed to keep colonies populous during seasonal periods with pollen and nectar shortages. The present study aimed to investigate the effects of dietary supplementation with residues from mead production on the development of Africanized *Apis mellifera*. The research was conducted in Cruz das Almas, Bahia. The experiment was in a completely randomized design, with six treatments and five replications. The treatments consisted of: control treatment (T1); syrup (water and sugar) (T2); syrup with added commercial amino acid complex (T3); syrup with added yeast residue (T4); syrup with addition of bentonite (T5) and syrup + compound of yeast residues and bentonite (T6). The waste used came from the production of mead. The following were evaluated: hygienic behavior, chart mapping and total protein in bees from Africanized *A. mellifera* colonies. It was observed that, at the end of the experiment, colonies in groups T4, T5 and T6 were hygienic. The T1 group differed significantly with the decrease in the brood area ($F_{(5,24)} = 4.4753$; $p = 0.0051$); ($t = 3.7105$; $df = 4$; $p = 0.0207$) and increase in the empty area ($F_{(5,24)} = 2.7359$; $p = 0.043$); ($t = -3.5631$; $df = 4$; $p = 0.0235$) at the end of the experiment. For total protein, at T4 ($p = 0.01031$), T5 ($p = 0.03495$) and T6 ($p = 0.0006928$), the reductions were significant. It is concluded that mead residues have the potential to maintain stable colony populations during periods of forage restriction.

Keywords: Bee nutrition, Beekeeping pathologies, Hive by-products.

1. INTRODUÇÃO

A apicultura desempenha um importante papel socioeconômico e ecológico. A atividade gera emprego e renda às comunidades, enquanto as abelhas desempenham um papel vital na polinização de plantas, garantindo a produção de alimentos e a biodiversidade (LAYEK *et al.*, 2023). No entanto, a produtividade e saúde das colônias podem ser prejudicadas pela indisponibilidade de nutrientes, especialmente proteínas e carboidratos (MARCACCI *et al.*, 2023).

A base da alimentação natural das abelhas se concentra no pólen, que fornece nutrientes essenciais, como os aminoácidos e, no néctar, que é a principal fonte de energia (SOUTHWICK; HELDMAIER, 1987; TAWFIK *et al.*, 2020). O néctar é essencial para manter a temperatura adequada e a sobrevivência da colônia, especialmente no inverno e em períodos chuvosos (REQUIER *et al.*, 2020). O pólen atua no desenvolvimento larval; fortalecimento morfológico das forrageadoras e estimulante às nutrízes na síntese de geleia real, essencial para as abelhas rainhas (VAUDO *et al.*, 2020).

Variações na composição da flora apícola ao longo do ano influenciam a qualidade e quantidade dos recursos alimentares disponíveis, impactando diretamente a fisiologia das abelhas e determinando a longevidade das operárias (FILIPIAK *et al.*, 2017; BEGUM *et al.*, 2023). Em períodos de restrição de forrageamento, a entrada de alimento nas colmeias é comprometida, impactando a alimentação das crias (DEGRANDI-HOFFMAN *et al.*, 2016). Durante a escassez de alimento natural, em colônias geridas, a suplementação alimentar é necessária, no intuito de manter a população produtiva até a estação das flores. A utilização de xaropes à base de água e açúcar, juntamente com pastas contendo farinhas de leguminosas ou outras fontes proteico-energéticas, compensam a redução de néctar e pólen (NOORDYKE; ELLIS, 2021).

As abelhas metabolizam as dietas de maneiras distintas, onde as proteínas de suplementos alimentares são convertidas em proteínas na hemolinfa e nos corpos gordurosos de abelhas operárias. Os teores de proteínas na hemolinfa e nos corpos gordurosos servem como indicadores do estado nutricional das abelhas, sendo o corpo gorduroso um fator importante para síntese de proteínas e peptídeos com ação antimicrobiana (BARRAGÁN; BASUALDO; RODRÍGUEZ, 2022). Os

teores de proteínas presentes nos corpos das *A. mellifera* têm sido associados à sua saúde e bem-estar, porém outros fatores como genética das colônias, comportamento de limpeza ou comportamento higiênico, que ocorre dentro da colmeia, e a fisiologia também impactam o desenvolvimento populacional das colônias (SELTZER *et al.*, 2023; SPRAU; TRAYNOR; ROSENKRAZ, 2023). Diante do exposto, o presente estudo objetivou investigar os efeitos da suplementação alimentar, com resíduos da produção de hidromel, no desenvolvimento de *Apis mellifera* africanizadas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local de estudo

A pesquisa foi realizada em Cruz das Almas, Bahia, Brasil, conduzida no apiário localizado na Fazenda Experimental de Produção Vegetal do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas (CCAAB) (12°39'19.2"S, 39°04'58.3"W; 220 metros de altitude) e no laboratório do Núcleo de Estudo dos Insetos (Insecta) (12°39'36.0"S, 39°05'08.0"W; 220 metros de altitude), da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Brasil.

2.2 Colônias e design experimental

Neste estudo foram usadas 30 colônias de *A. mellifera* africanizada, do apiário localizado na Fazenda experimental do CCAAB da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Estas colônias estavam alojadas em colmeias (núcleos) padrão Langstroth, com cinco quadros que foram devidamente etiquetados com números e letras, para facilitar a identificação durante o manejo. As rainhas de origem selvagem, sem idades ou genéticas conhecidas foram marcadas com a cor correspondente ao ano vigente. Todas as colônias tiveram acesso livre ao forrageamento (Figura 1).

Figura 1. A) Procedimentos de padronização: apiário da Fazenda Experimental da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia; B) Marcação das rainhas identificação de quadros das colmeias de *A. mellifera* africanizada.



Fonte: acervo Insecta, 2024.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com seis tratamentos e cinco repetições. Os tratamentos foram: T1 – tratamento controle (sem suplementação); T2 – xarope (1L); T3 – xarope com adição do complexo de aminoácidos comercial (1mL.L^{-1}); T4 – xarope com adição do resíduo de leveduras (1g.L^{-1}); T5 – xarope com adição do resíduo de bentonita (1g.L^{-1}); T6 – xarope com adição do composto resíduos de leveduras e bentonita (1g.L^{-1}). As amostras do resíduo de leveduras e a bentonita (pós-fermentados da produção do hidromel) utilizadas no experimento, foram provenientes de doação da “San’mielle Hidromelaria”. O CAC (suplemento vitamínico com nove aminoácidos, indicado para abelhas, da marca HIPRA – Equilibrium®) foi adquirido em loja especializada em produtos apícolas.

2.3 Comportamento Higiênico

As metodologias descritas por Gramacho *et al.* (1999) e Gramacho e Gonçalves (2009) foram utilizadas para determinar o comportamento higiênico (CH) das colônias de *A. mellifera* africanizadas utilizadas no experimento.

Demarcou-se duas áreas (A e B) no favo com crias operculadas, no formato de losango (paralelogramo), totalizando 100 células (10 x 10 fileiras). Considerou-se como “células operculadas” a soma de: células operculadas, células pontuadas, células com crias parcialmente removidas e células desoperculadas, mas com crias não removidas. Considerou-se como “células vazias” o número de células

totalmente removidas, limpas, eventualmente contendo alimento (pólen ou mel). Para a perfuração das crias, utilizou-se um alfinete entomológico nº1, penetrando no centro da célula a uma profundidade que permitiu atingir toda a cria, mas com cuidado para não transpassar para o outro lado. Em cada colônia, o teste foi repetido duas vezes: antes e após a suplementação (Figura 2).

Figura 2. A) Demarcação da área para perfuração das células com cria operculada (área A) e demarcação da área controle (área B) no formato de losango (paralelogramo), totalizando 100 células (10 x 10 fileiras) para avaliação do comportamento higiênico; B1) Área “A” com 100 células perfuradas com alfinete entomológico e área “B” com células não perfuradas (controle); B2) Avaliação das áreas demarcadas pelo teste de CH apresentando a área “A” limpa pelas abelhas em 24h após a perfuração e área “B” (controle) ainda operculada.



Fonte: acervo Insecta, 2024.

Após o teste de CH os dados foram tabulados e submetidos às equações (1,2) para mensurar quais colônias foram consideradas higiênicas ou não higiênicas. Para o CH igual ou superior a 80% em pelo menos 2 testes a colônia foi considerada “higiênica”. Para o CH igual ou inferior a 79% em pelo menos 2 testes a colônia foi considerada “não higiênica”.

Equação para Taxa de Comportamento Higiênico

$$CH = \frac{CV_b - CV_a}{CO_a} \cdot 100 - Z \quad (1)$$

Onde:

CH = taxa do comportamento higiênico (percentual de remoção de crias mortas);

CVa = número de células vazias antes da perfuração (Área A = perfurada);

CVb = número de células vazias 24 horas após a perfuração (Área A = perfurada);

COa = número de células operculadas antes da perfuração (Área A = perfurada).

Z = fator de correção (percentual de células vazias ou limpas no controle).

$$Z = \frac{ZCV_b - ZCV_a}{CO_a} \cdot 100 \quad (2)$$

Equação para Fator de Correção Z

Onde:

Z = fator de correção (percentual de células vazias ou limpas no controle);

ZCVa = número de células vazias (limpas) na área de controle (Área B) antes do início do teste (antes da perfuração na Área A);

ZCVb = número de células vazias (limpas) na área controle (Área B) 24 horas após o início do teste (após a perfuração na Área A);

ZCOa = número de células com crias operculadas antes do início do teste (antes da perfuração na Área A).

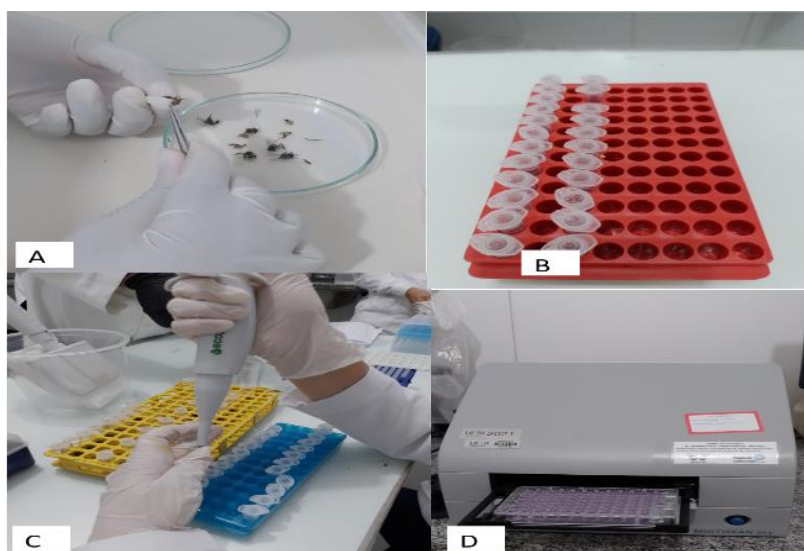
2.4 Análise de proteína total nas abelhas

Foram coletadas 30 abelhas (de cada colônia) e conservadas em gelo, para diminuir a atividade metabólica durante o transporte, em seguida transferidas para refrigerador a -10°C, e utilizadas na análise de proteína total, de acordo com a metodologia BCA- Ácido Bicinchonínico da Thermo Fisher (Smith *et al.*, 1985). As abelhas foram coletadas com autorização concedida pelo SISBIO, de acordo com o art. 28 da IN 03/2014, pela Instrução Normativa nº Portaria ICMBio nº 748/2022.

Para determinação do teor de proteína em abelhas, foi utilizado um pool de 30 indivíduos. Utilizou-se o Kit de Ensaio de Proteína Pierce BCA, pelo método BCA- Ácido Bicinchonínico da Thermo Fisher (Smith *et al.*, 1985), por leitura em espectrofotômetro de microplacas. Para essa análise, utilizou-se 30 abdomens sem a bolsa de veneno. Os abdomens foram macerados e, posteriormente, retirado 0,05g de cada amostra, em seguida, adicionado 300 µL do tampão RIPA, para

extração da proteína, e mantido em repouso a 37 °C por três horas. Posteriormente foi adicionado 200µL do reagente de reação WR (50 partes de Ácido Bicinchonínico (BCA) Reagent A e 1 parte de BCA Reagent B), foram mantidas em repouso por 30 minutos a 37 °C, em seguida foi realizado a leitura em 562 nm no leitor de microplacas, utilizando como Padrão a Albumina Bovina Sérica (BSA) para curva padrão, os resultados foram expressos em µg.mL⁻¹. Os procedimentos podem ser visualizados na figura 3.

Figura 3. Procedimentos para análise de proteína total nas abelhas utilizadas nessa pesquisa: A) dissecação das abelhas para retirada da bolsa de veneno e maceração; B) 0,05g da amostra dos abdomens macerados, armazenados em *eppendorf*®; C) transferência das amostras, com adição de 98µL H₂O deionizada para *eppendorf*®; D) 25µL das amostras, distribuídas em poços da microplaca mais reagente para posterior leitura da absorbância.



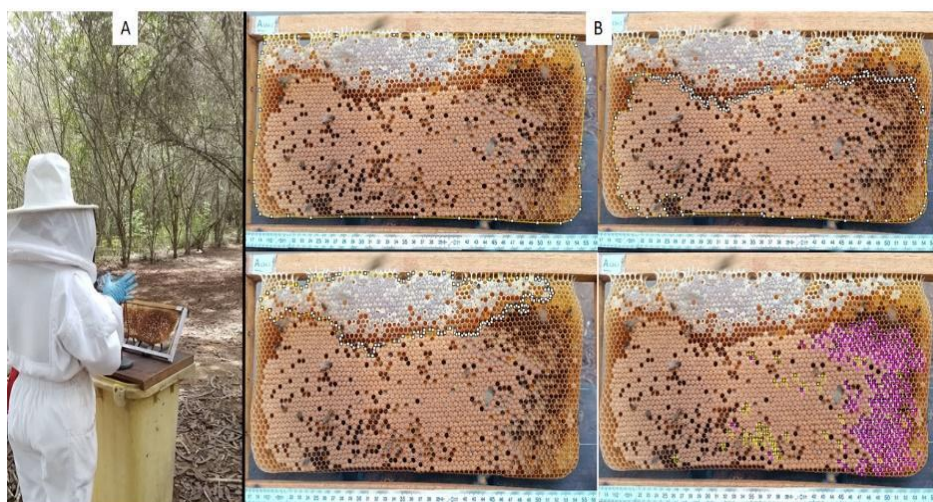
Fonte: acervo Insecta, 2024.

2.5 Mapeamento dos quadros das colônias experimentais

O mapeamento dos favos nos quadros das colônias utilizadas nesse experimento foi realizado por meio de fotografias seguindo a metodologia descrita por Trajano *et al.* (2020), porém com algumas adaptações quanto aos equipamentos que foram utilizados. Foi montado no apiário uma estrutura móvel com suporte para fixação dos quadros a serem fotografados. Foram retiradas fotos dos lados A e B dos quadros das 30 colmeias, antes e após a introdução dos tratamentos. Posteriormente, as imagens foram selecionadas de acordo com os tratamentos e a mensuração e quantificação das áreas de crias operculadas e

abertas (ovos, larvas) e alimento (mel e pólen) nas células foram determinadas utilizando o programa de computador ImageJ® (2010). Os dados foram tabulados para submissão às análises estatísticas adequadas (Figura 4).

Figura 4. Mapeamento dos quadros das áreas de alimento e crias: A) captura de imagem dos quadros, por fotografias; B) Mensuração das áreas (total, vazia, alimento, crias) através do software ImageJ®.



Fonte: acervo Insecta, 2024.

2.6 Análises Estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software R® v.4.4.0 (R CORE TEAM, 2023), adotando um nível de significância de $\alpha = 0,05$ para todas as análises realizadas.

2.6.1 Proteína total nas colônias de *Apis mellifera*

Os dados de concentração de proteína total nas abelhas, das colônias de cada tratamento, foram analisados por meio da ANOVA, para testar a hipótese nula de que as abelhas de todos os tratamentos apresentaram médias de concentração de proteína total iguais antes e após a aplicação, quando rejeitada a hipótese nula aplicou-se o teste *post-hoc* de Tukey para comparar as médias dos tratamentos entre si. ANOVA e o teste de Tukey foram aplicados utilizando o pacote “ExpDes.pt” (FERREIRA; CAVALCANTI; NOGUEIRA, 2021). Posteriormente, os dados de concentração de proteína total foram submetidos ao teste T pareado, aplicado em cada tratamento individualmente, para testar a hipótese nula de que não houve

alteração na concentração de proteína total nas abelhas após a aplicação da suplementação alimentar.

2.6.2 Mapeamento dos quadros nas colônias de *Apis mellifera*

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) univariada, aplicando-a individualmente aos valores mensurados antes e após a suplementação alimentar. Além disso, o teste T pareado foi aplicado a cada variável e tratamento individualmente, para verificar se houve diferença significativa nos valores mensurados antes e após a alimentação suplementar.

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software R® v.4.4.0 (R Core Team, 2023), adotando um nível de significância de $\alpha = 0,05$ para todas as análises realizadas. Para assegurar a adequação dos dados aos pressupostos necessários para a análise de variância (ANOVA), o teste de Shapiro-Wilk foi aplicado para avaliar a normalidade dos resíduos e o teste de Levene foi aplicado para verificar a homogeneidade das variâncias. Os testes foram aplicados utilizando o pacote base do R e o pacote “car”, respectivamente (FOX; WEISBERG, 2019; R CORE TEAM, 2023). A variável “área total de favos”, não atendeu aos pressupostos da ANOVA, portanto foi realizada a transformação dos valores da variável utilizando o método de Box-Cox (BOX; COX, 1964), com auxílio do pacote “car” (FOX; WEISBERG, 2019). As demais variáveis (área de alimento, área de cria, área vazia) atenderam aos pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias sendo submetidas diretamente à ANOVA. A hipótese nula testada para cada variável é que a média da área (cm²) de cada variável medida é igual entre os tratamentos. Quando a hipótese nula foi rejeitada, o teste de agrupamento de médias de Scott-Knott foi aplicado para comparar as médias dos tratamentos. A análise de variância e o teste de Scott-Knott foram aplicados utilizando o pacote “ExpDes.pt” (FERREIRA; CAVALCANTI; NOGUEIRA, 2021).

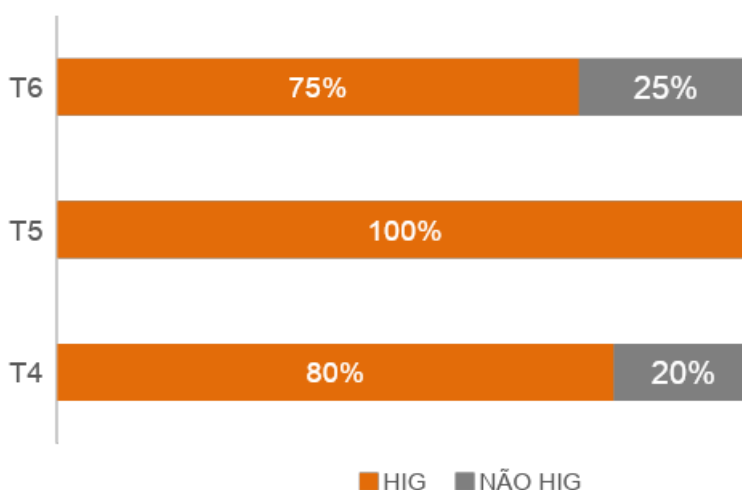
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Taxas de Comportamento Higiênico (CH) nas colônias de *Apis mellifera*

A taxa de CH nas colônias do tratamento T4 variou de 79,76 à 100%, apresentando, ao final do experimento, 80% das colônias consideradas higiênicas.

No tratamento T5, a taxa de CH variou de 87,5 a 96,45%, onde 100% das colônias foram consideradas “higiênicas” e, no tratamento T6 a taxa de CH foi de 73,85 a 92,39%, com 75% das colônias consideradas higiênicas. Durante o período experimental as colônias pertencentes aos tratamentos T1, T2 e T3 não apresentaram quadros com crias operculadas (fechadas) suficientes para a realização dos procedimentos de perfuração das células, impossibilitado o teste de CH nessas colônias (Figura 5).

Figura 5. Mensuração das taxas, em percentagem, de comportamento higiênico antes e depois do experimento, nas colônias pertencentes aos tratamentos T4: resíduo de leveduras; T5: resíduo de bentonita e T6: composto de resíduos leveduras e bentonita.



A alta taxa de CH observada na figura 5 são consistentes aos achados na literatura, onde destacam a capacidade das abelhas *Apis mellifera* em expressar comportamento de remoção de sujidades no interior de suas colmeias, especialmente em remover larvas doentes e/ou mortas dos alvéolos de crias. Levando-se em consideração os estudos de Farias *et al.* (2024) e Al Toufailia *et al.* (2018) pode-se afirmar que a oscilação nas taxas de comportamento higiênico das colônias dos tratamentos T4, T5, T6 do presente experimento, está relacionada tanto com a diversidade genética, quanto com a influência das condições locais de estudo e do manejo aplicado às colônias.

Farias *et al.* (2024) observou que 100% das colônias avaliadas foram consideradas higiênicas, possivelmente devido à troca frequente de rainhas em

apiários comerciais. Esta prática pode contribuir para características genéticas desejáveis como os genes de limpeza, que contribuem para um CH eficiente.

Al Toufailia *et al.* (2018) observaram, em seus estudos que, tanto as colônias consideradas higiênicas quanto as não higiênicas foram capazes de remover abelhas mortas indicando uma variabilidade na eficiência do CH entre diferentes raças e condições ambientais.

Essa variabilidade é influenciada por adaptações às condições ambientais específicas, como presença de inimigos naturais, disponibilidade de recursos, entre outros e principalmente por predisposições genéticas à comportamentos distintos, inclusive o de limpeza (NGANSO *et al.*, 2017; PEREIRA *et al.*, 2013).

Nganso *et al.* (2017) destacam a importância do comportamento higiênico e de grooming como estratégias de defesa contra parasitas, explicitando adaptações das abelhas africanizadas a esses desafios. Pereira *et al.* (2013), por sua vez, exploraram alternâncias no comportamento higiênico das abelhas africanizadas em diferentes períodos do dia, sugerindo uma plasticidade comportamental adaptativa importante para a sobrevivência das colônias em ambientes distintos. Essa abordagem, além de promover a saúde e desenvolvimento das colônias aumenta sua resistência a doenças e parasitos, além de sugerir práticas de manejo apícola eficazes.

A ausência de crias operculadas nos tratamentos T1, T2, T3 pode estar relacionada a alguns fatores como: o envelhecimento das rainhas, desgaste fisiológico e até mesmo recursos e condições ambientais nessas colônias que podem ter diminuído a oviposição pelas rainhas (Mcafee; Tarpy; Foster, 202). Infestações, doenças e a densidade populacional da colônia podem reduzir o número de células operculadas (FÈVRE; DEARDEN, 2024). Esses fatores somados ao período chuvoso em que o experimento foi realizado e ao estresse do manejo dessas colônias podem ter influenciado na diminuição de células operculadas.

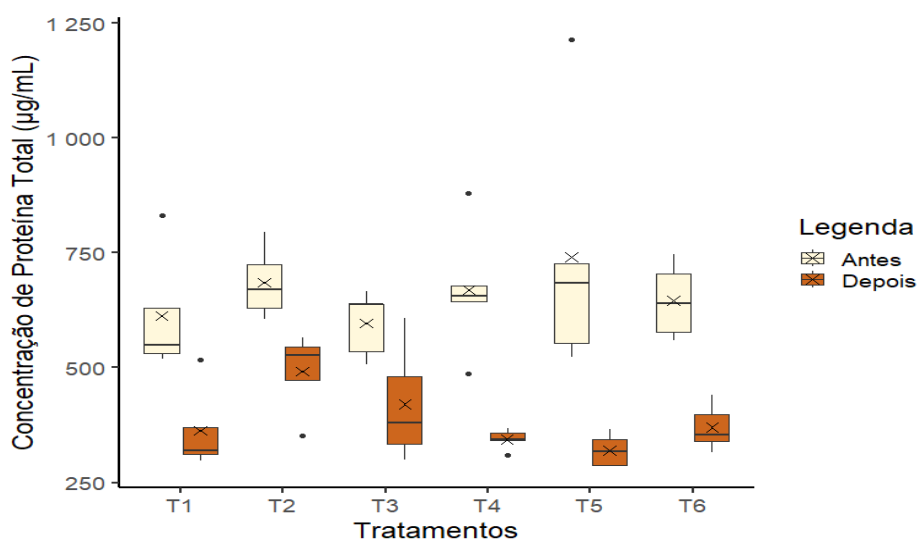
3.2 Análise de proteína total nas abelhas *Apis mellifera*

Antes da aplicação dos tratamentos, as colônias utilizadas no experimento não apresentaram diferenças significativas ($F_{(5, 22)} = 0,54968$; $p = 0,73689$) na concentração de proteína total (PB), de acordo com o teste F da ANOVA, com

médias variando de 596,94 $\mu\text{g/mL}^{-1}$ (T3) a 740,28 $\mu\text{g/mL}^{-1}$ (T5). Após a aplicação dos tratamentos, houve diferença significativa na média da concentração de proteína entre os tratamentos ($F_{(5, 22)} = 2,6705$; $p = 0,04941$). De acordo com o teste post-hoc de Tukey, a média do tratamento T2 (492,12 $\mu\text{g/mL}^{-1}$) foi significativamente maior em comparação com a do T5 (320,106 $\mu\text{g/mL}^{-1}$).

O teste T pareado foi aplicado individualmente em cada tratamento, para avaliar a diferença na concentração de proteína total antes e depois da aplicação dos tratamentos. De acordo com o mesmo, não houve diferenças significativas no grupo controle T1 ($t = 2,5647$, $gl = 3$, $p = 0,08288$) e nem nos tratamentos T2 ($t = 3,1441$, $gl = 3$, $p = 0,0515$) e T3 ($t = 2,1825$, $gl = 4$, $p = 0,09448$). No entanto, nas colônias pertencentes aos tratamentos T4 ($t = 4,5631$, $gl = 4$, $p = 0,01031$), T5 ($t = 3,1369$, $gl = 4$, $p = 0,03495$) e T6 ($t = 9,4731$, $gl = 4$, $p = 0,0006928$), a concentração de proteína total apresentou uma redução significativa após a aplicação dos tratamentos (Figura 6).

Figura 6. Concentração de proteína total nas amostras (abdômens) das abelhas *Apis mellifera* africanizadas de cada colônia, antes e depois da aplicação dos tratamentos. T1 - Tratamento controle; T2 - xarope (água e açúcar); T3 - xarope com adição de complexo de aminoácidos comercial; T4 - xarope com adição de resíduo de leveduras; T5 - xarope com adição de bentonita; T6 - xarope + composto dos resíduos de leveduras e de bentonita. O “X” no interior do box-plot representa a média de cada tratamento.



As diferenças observadas nas concentrações de proteína total nas amostras de abelhas, representando cada grupo de tratamento, podem ser explicadas por fatores: fisiológicos, imunológicos e comportamentais das colônias

estudadas, bem como a qualidade e distribuição da dieta proteica para funções vitais desses insetos. Em termos de quantidade, respectivamente, os resíduos de leveduras e o composto de leveduras + bentonita possuem teores de 43,55% e 26,90% de proteína bruta (DA COSTA *et al.* 2024) considerados adequados à suplementação na dieta das abelhas, de acordo com Herbert Jr., Shimanuki, Caron (1977). No entanto, mesmo que os níveis de proteínas sejam adequados, a qualidade dos tratamentos fornecidos não garante níveis suficientes de aminoácidos essenciais. A proteína presente na suplementação pode ser de baixa qualidade, resultando em deficiência desses aminoácidos que não são eficientemente digeridos ou utilizados pelas abelhas (RAUBENHEIMER; SIMPSON, 1997; ZHENG *et al.* 2014). Ou seja, mesmo que a quantidade de proteínas nos tratamentos suplementares seja adequada, estas podem não ter proporcionado os benefícios nutricionais necessários por não serem aproveitadas pelo organismo das abelhas, resultando em redução de proteína total nos corpos gordurosos desses insetos.

Alterações na exigência fisiológica, como o aumento do metabolismo ou respostas imunológicas a infecções ou parasitismo, necessitam da produção de mais proteínas relacionadas com o sistema imunológico para defesa. Essa resposta desencadeada pelas intervenções com suplementação às colônias, também podem aumentar a exigência por proteínas (PERNAL; CURRIE, 2000; NAZZI; PENNACCHIO, 2018). Se a aplicação dos tratamentos utilizados nesta pesquisa causou um aumento no metabolismo das abelhas, a demanda por proteínas para processos fisiológicos, como reparação celular e/ou produção de enzimas, pode ter aumentado. Com isso a quantidade de proteína contida na dieta suplementar foi consumida rapidamente, não havendo proteína excedente para armazenamento nos corpos gordurosos das abelhas.

Scofield e Amdam (2024) destacaram que a habilidade das abelhas em produzir e armazenar gordura (capacidade lipogênica) pode ser prejudicada a depender da qualidade da proteína, que deve ser altamente digestível e utilizável pelo organismo das abelhas. Micheu, Crailsheim e Leonhard (2000) enfatizaram a importância de aminoácidos como a prolina durante o voo das abelhas, indicando que a necessidade de certos aminoácidos pode aumentar significativamente durante atividades energéticas intensas, como o voo, levando a uma redução no corpo gorduroso das abelhas.

Mudanças comportamentais e sociais, como a redistribuição de proteínas para a alimentação das crias ou alterações nas funções sociais das abelhas, também podem ter ocorrido nas colônias utilizadas nesse experimento. Herbert Jr; Shimanuki e Caron (1977) determinaram que níveis ótimos de proteína são necessários para o desenvolvimento e manutenção de crias, e que colônias suplementadas com quantidade e qualidade de proteínas insuficientes levou a redistribuição, desse nutriente, das abelhas adultas para as larvas.

Para determinar se a proteína oferecida às abelhas é adequada deve-se considerar, além das quantidades totais de proteínas, a composição dos aminoácidos, a digestibilidade e a utilização da proteína. O equilíbrio nutricional geral da dieta e o impacto observado na saúde e desempenho das abelhas também são considerados. Proteínas adequadas devem conter todos os aminoácidos essenciais (Arginina, Fenilalanina, Histidina, Isoleucina, Leucina, Lisina, Metionina, Treonina, Triptofano, Valina) que as abelhas não podem sintetizar e, estarem presentes em quantidades suficientes para sustentar o crescimento e a fisiologia das abelhas (MOJA; RODRÍGUEZ; BEDASCARRASBURE, 2022).

Zheng *et al.* (2014) e Herbert Jr., Shimanuki e Caron (1977) sugeriram que dietas que não atingem teores em torno de 25% de proteína e que não tenham qualidade nutricional, ou seja, que não possuem os aminoácidos essenciais quando consumidas pelas colônias, não serão satisfatórias para o aumento de armazenagem proteica corporal e, conseqüentemente, haverá redução dos teores de proteína nos corpos gordurosos desses insetos.

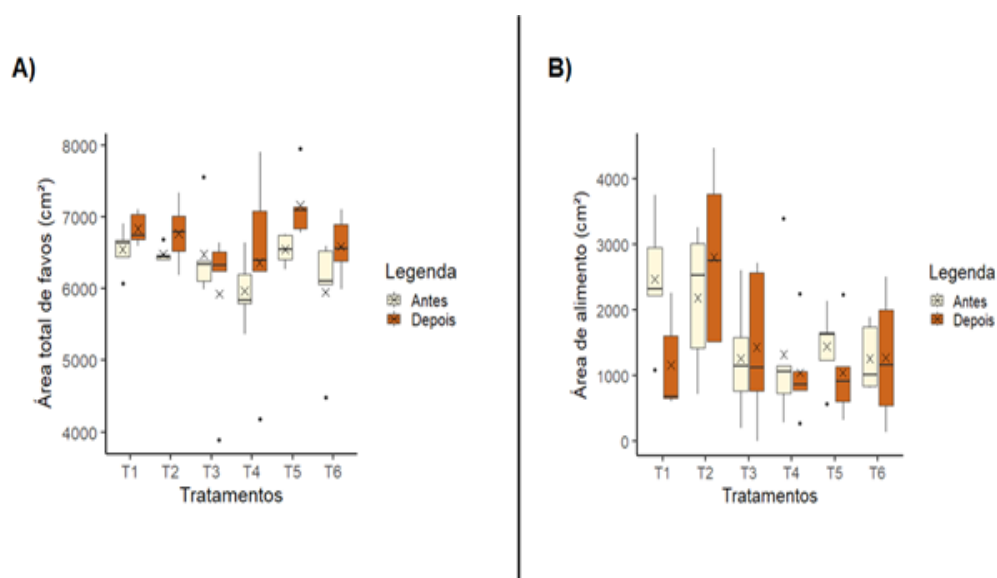
Raubenheimer e Simpson (1997) reforçam que a dieta deve equilibrar carboidratos, lipídios e outros nutrientes essenciais, enquanto Scofield e Amdam (2024) destacam que as proteínas devem ser altamente digestíveis e utilizáveis, para que sua redistribuição às crias não comprometam os teores de proteínas nas operárias adultas.

3.3 Mapeamento dos quadros nas colônias de *Apis mellifera* africanizada

Não houve diferenças significativas antes ($F_{(5,24)} = 1,6154$; $p = 0,19411$) e nem após ($F_{(5,24)} = 1,4623$; $p = 0,23884$) a suplementação alimentar entre as médias das áreas totais dos favos, para os diferentes tratamentos, de acordo com ANOVA. Além disso, pelo teste T pareado, em todos os tratamentos, também não houve diferenças significativas nas áreas medidas antes ou após a suplementação

alimentar (Figura 7A). Da mesma forma, para a área de alimento (mel e pólen), os resultados não foram significativos, antes ($F_{(5,24)} = 1,6891$; $p = 0,17558$) ou após ($F_{(5,24)} = 2,3734$; $p = 0,06947$) a suplementação alimentar. Pelo teste T pareado aplicado a cada variável e tratamento individualmente, não houve diferença significativa nos valores mensurados antes e após a alimentação suplementar (Figura 7 B).

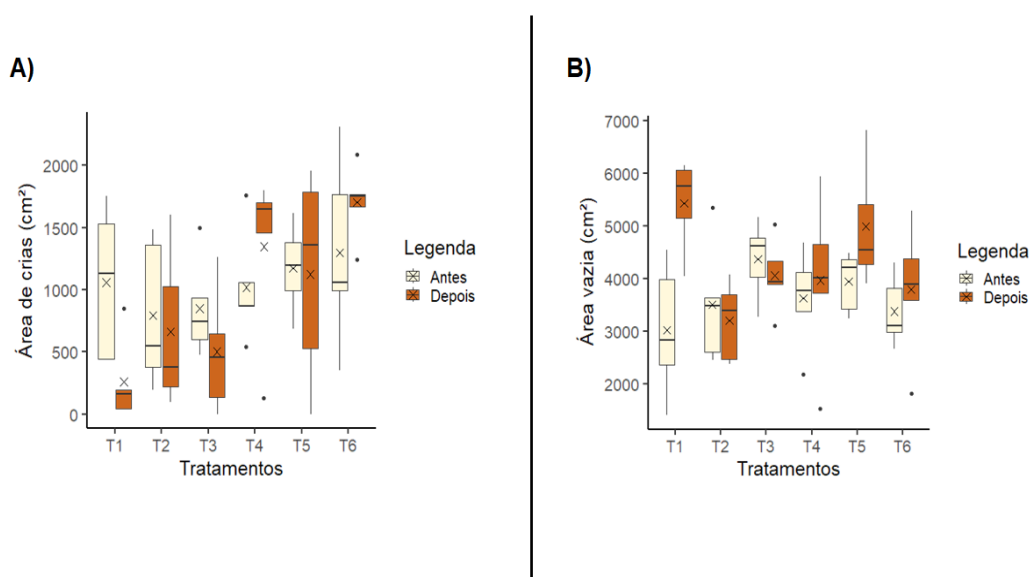
Figura 7. Mensuração das variáveis área total de favos e área de alimento nos favos de colônias *Apis mellifera* africanizadas, antes e após a aplicação dos tratamentos. T1 - Tratamento controle; T2 - xarope (água e açúcar); T3 - xarope com adição de complexo de aminoácidos comercial; T4 - xarope com adição de resíduo de leveduras; T5 - xarope com adição de bentonita; T6 - xarope + composto dos resíduos de leveduras e de bentonita. O “X” no interior do box-plot representa a média de cada tratamento.



De acordo com o teste F da ANOVA, a área de crias nos quadros de todas as colônias não apresentou diferença significativa nas médias, antes da aplicação dos tratamentos ($F_{(5,24)} = 0,61054$; $p = 0,69269$). Porém, após a aplicação dos tratamentos, os resultados apresentaram diferenças significativas ($F_{(5,24)} = 4,4753$; $p = 0,005096$). Conforme o teste post-hoc de agrupamento de médias de Scott-Knott, após a aplicação dos tratamentos as colônias de T4, T5 e T6 apresentaram área de cria estatisticamente maior que as colônias de T1, T2 e T3 (Figura 8A). De acordo com o teste T pareado, apenas o T1 apresentou diferença significativa na área de crias, representando uma redução significativa após a aplicação dos tratamentos ($t = 3,7105$; $gl = 4$; $p = 0,02065$) (Figura 8A).

Quanto às áreas vazias, antes da aplicação dos tratamentos, os resultados foram estatisticamente iguais ($F_{(5,24)} = 1,2837$; $p = 0,30349$). Após a aplicação dos tratamentos, foi evidenciado diferença significativa nas áreas vazias, entre os tratamentos ($F_{(5,24)} = 2,7359$; $p = 0,04296$). De acordo com o teste de Sckott-Knott, as colônias de T1 e T5 apresentaram áreas vazias superior às dos demais tratamentos (Figura 8B).

Figura 8. Mensuração das variáveis “área de crias e área vazia” nos favos das colônias de *Apis mellifera* africanizadas, antes e após a aplicação dos tratamentos. T1 - Tratamento controle; T2 - xarope (água e açúcar); T3 - xarope com adição de complexo de aminoácidos comercial; T4 - xarope com adição de resíduo de leveduras; T5 - xarope com adição de bentonita; T6 - xarope + composto dos resíduos de leveduras e de bentonita. O “X” no interior do box-plot representa a média de cada tratamento.



Os resultados expostos sobre o “Mapeamento dos quadros nas colônias de *A. mellifera*”, foram atribuídos ao comportamento de forrageamento das abelhas durante o período chuvoso em que o experimento foi conduzido, assim como à sua fisiologia e genética. Em geral, fatores bióticos e abióticos podem ter influenciado em todos os parâmetros avaliados.

Sugere-se que, a ausência de diferenças significativas nas áreas de alimento pode ser devido à capacidade das abelhas de ajustar a alimentação larval, mesmo sob diferentes regimes de suplementação. A ausência de mudanças significativas nas áreas de alimento no presente experimento foi semelhante aos achados de Shadmehr *et al.* (2023), que investigaram os efeitos de suplementos dietéticos nas características reprodutivas e comportamentais das abelhas,

sugerido que os suplementos combinados com xarope não tiveram impacto substancial nas colônias quando usados em baixa concentração. Isso pode estar relacionado, também, à composição dos suplementos ou à qualidade da alimentação natural disponível durante o período chuvoso, citado no presente experimento.

Para as “áreas vazias”, observou-se um aumento significativo, no grupo controle (T1), bem como uma redução significativa nas “áreas de crias”, após os tratamentos. Atribuiu-se, esses resultados negativos, à falta de suplementação alimentar durante o período experimental, possivelmente levando a um comportamento de conservação de recursos, enquanto que, nas colônias dos demais tratamentos (T2, T3, T4, T5 e T6), que receberam suplementação, as variáveis permaneceram estáveis. Schulz *et al.* (1998) e Omar e Amro (2023) relataram que a restrição de alimentos na colônia pode afetar o desenvolvimento comportamental das abelhas e destacam a importância de substitutos de pólen para manter o desenvolvimento das abelhas durante períodos de escassez.

A literatura destaca que a genética das rainhas e os efeitos ambientais influenciam a sobrevivência e comportamento das colônias *A. mellifera* (BÜCHLER *et al.*, 2014). Este fato, pode ter influenciado os resultados nas colônias suplementadas, dificultando a observação de efeitos consistentes da suplementação alimentar utilizada nesta pesquisa. Além disso, Kratz *et al.* (2024) demonstraram que as abelhas nutrizas conseguem regular a nutrição das larvas dependendo dos tipos de pólen consumidos, pois essas abelhas conseguem modificar a composição do pão de abelha (mistura do néctar, pólen e secreções salivares das abelhas) de acordo com as necessidades da colônia e as condições ambientais. Isso influencia diretamente o desenvolvimento das larvas e impacta o crescimento populacional da colônia e até mesmo no direcionamento de funções das abelhas dentro da colmeia.

Os resultados para o mapeamento dos quadros nas colônias de *A. mellifera* africanizadas, em relação aos parâmetros avaliados, mostraram que nenhum dos tratamentos utilizados teve impacto significativo nas áreas de alimento, porém mantiveram as áreas de crias, ao final do experimento, conforme demonstrado pelos resultados negativos das colônias submetidas ao tratamento controle (T1-sem suplementação).

A literatura apoia a implicação de fatores genéticos, ambientais e a composição de suplementos dietéticos na saúde e no comportamento das colônias de *A. mellifera*. O modo com que as abelhas regulam seu estado nutricional e a distribuição do alimento entre a colônia, bem como a adaptação comportamental às condições ambientais destacam a complexidade de sua fisiologia e a necessidade de intervenções nutricionais adequadas para garantir a sobrevivência e produtividade das colônias.

4. CONCLUSÕES

A suplementação alimentar manteve a população de abelhas estável, porém com redução de proteína total nas abelhas forrageadoras.

Os efeitos dos tratamentos T4, T5 e T6 nas áreas de crias das colônias estudadas foram positivos em comparação aos tratamentos T1, T2 e T3.

A redução nas áreas de crias e o aumento nas áreas vazias das colônias do tratamento controle (T1), com livre acesso ao forrageamento, reforçam a importância de estudos sobre a dieta suplementar na criação de abelhas em períodos extremos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL TOUFAILIA, H. *et al.* Both hygienic and non-hygienic honeybee, *Apis mellifera*, colonies remove dead and diseased larvae from open brood cells. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 373, n. 1751, p. 20170201, 2018.

BARRAGÁN, S.; BASUALDO, M; RODRÍGUEZ, E. M. Conversion of protein from supplements into protein of hemolymph and fat bodies in worker honey bees (*A. mellifera* L). **Journal of Apicultural Research**, v. 54, n. 4, p. 399-404, 2022.

BEGUM, H. A. *et al.* Impact of different pollen protein diets on the physiology of *A. mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) workers from essential plant sources. **Journal of King Saud University-Science**, v. 35, n. 2, p. 102511, 2023.

BOURNE, R. **ImageJ. Fundamentals of digital imaging in medicine**, p. 185-188, 2010. Available in: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-1-84882-087-6>. Acesso em 25 fev. 2024.

BÜCHLER, R. *et al.* The influence of genetic origin and its interaction with environmental effects on the survival of *Apis mellifera* L. colonies in Europe. **Journal of Apicultural Research**, v. 53, n. 2, p. 205-214, 2014.

DA COSTA, M. M. *et al.* Influência da suplementação alimentar na prevalência de parasitos e patógeno em colônias de *Apis mellifera* africanizada: Influence of dietary supplementation on the prevalence of parasites and pathogens in Africanized *Apis mellifera* colonies. **Scientia Plena**, v. 20, n. 5, 2024.

DEGRANDI-HOFFMAN, G. *et al.* Honey bee colonies provided with natural forage have lower pathogen loads and higher overwinter survival than those fed protein supplements. **Apidologie**, v. 47, p. 186-196, 2016.

FARIAS, L. *et al.* Seleção de Colônias de *Apis mellifera* por meio da avaliação do comportamento higiênico. **Diversitas Journal**, v. 9, n. 1, 2024.

FERREIRA, E. B.; CAVALCANTI, P. P.; NOGUEIRA, D. A. ExpDes. pt: pacote experimental designs (português). **R package version**, v. 1, n. 2, 2021. Disponível em: <https://CRAN.R-project.org/package=ExpDes.pt>. Acesso em 12 out. 2023.

FÈVRE, D. P.; DEARDEN, P. K. Influência da nutrição na postura de ovos da rainha abelha. **Apidologie**, v. 55, n. 4, p. 53, 2024.

FILIPIAK, M. *et al.* Ecological stoichiometry of the honeybee: Pollen diversity and adequate species composition are needed to mitigate limitations imposed on the growth and development of bees by pollen quality. **PLoS One**, v. 12, n. 8, p. e0183236, 2017.

FOX, J.; WEISBERG, S. **_An R Companion to Applied Regression_, Third edition.** Sage, Thousand Oaks CA, 2019. Disponível em: <https://socialsciences.mcmaster.ca/jfox/Books/Companion/>. Acesso em: 12 de out. 2023.

GRAMACHO, K. P. *et al.* Influence of body fluid from pin-killed honey bee pupae on hygienic behavior. **Apidologie**, v. 30, n. 5, p. 367-374, 1999.

GRAMACHO, K. P.; GONÇALVES, L. S. Sequential hygienic behavior in Carniolan honey bees (*Apis mellifera carnica*). **Genetics and Molecular Research**, v. 8, n. 2, p. 655-663, 2009.

HERBERT JR, E. W.; SHIMANUKI, H.; CARON, D. Optimum protein levels required by honey bees (Hymenoptera, Apidae) to initiate and maintain brood rearing. **Apidologie**, v. 8, n. 2, p. 141-146, 1977.

KRATZ, M. *et al.* Nurse bees regulate the larval nutrition of developing workers (*Apis mellifera*) when feeding on various pollen types. **Journal of Economic Entomology**, v. 117, n. 3, p. 683-695, 2024.

LAYEK, U. *et al.* Supplementary Pollinator Services in Yield Optimization of Crop Plants through Management of Bees. **Advances In Insect Pollination Technology In Sustainable Agriculture**. New Dalhi: I.K International Pvt. Ltd., 2023, 326p.

MARCACCI *et al.* Direct and indirect effects of urbanization, pesticides and wild insect pollinators on mango yield. **Journal of Applied Ecology**, v. 60, n. 10, p. 2132-2143, 2023.

MCAFEE, A.; TARPY, D. R.; FOSTER, L. J. Queen honey bees exhibit variable resilience to temperature stress. **PloS one**, v. 16, n. 8, p. e0255381, 2021.

MICHEU, S.; CRAILSHEIM, K.; LEONHARD, B. Importance of proline and other amino acids during honeybee flight: (*Apis mellifera carnica* POLLMANN). **Amino acids**, v. 18, p. 157-175, 2000.

MOJA, J.; RODRÍGUEZ, G.; BEDASCARRASBURE, M. B. Nutrición y Alimentación de Abejas. In: **MANUAL DE BUENAS PRÁCTICAS EN ALIMENTACIÓN DE ABEJAS**. 1ª ed. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, 2022. p. 36-77.

NAZZI, F.; PENNACCHIO, F. Honey bee antiviral immune barriers as affected by multiple stress factors: A novel paradigm to interpret colony health decline and collapse. **Viruses**, v. 10, n. 4, p. 159, 2018.

NGANSO, B. T. *et al.* Hygienic and grooming behaviors in African and European honeybees—New damage categories in *Varroa destructor*. **PLoS One**, v. 12, n. 6, p. e0179329, 2017.

NOORDYKE, E. R.; ELLIS, J. D. Reviewing the efficacy of pollen substitutes as a management tool for improving the health and productivity of western honey bee (*Apis mellifera*) colonies. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 5, p. 772897, 2021.

OMAR, E. M.; AMRO, A. M. Improving pollen substitutes to maintain development and hemolymph parameters of honey bees (*Apis mellifera* L.) during pollen dearth periods. **Journal of Apicultural Research**, v. 62, n. 4, p. 777-786, 2023.

PEREIRA, R. A. *et al.* Hygienic behavior of Africanized honey bees *Apis mellifera* directed towards brood in old and new combs during diurnal and nocturnal periods. **Insects**, v. 4, n. 4, p. 521-532, 2013.

PERNAL, S. F.; CURRIE, R. W. Pollen quality of fresh and 1-year-old single pollen diets for worker honey bees (*Apis mellifera* L.). **Apidologie**, v. 31, n. 3, p. 387-409, 2000.

RAUBENHEIMER, D.; SIMPSON, S. J. Integrative models of nutrient balancing: application to insects and vertebrates. **Nutrition research reviews**, v. 10, n. 1, p. 151-179, 1997.

R CORE TEAM. **R**: A language and environment for statistical computing. version 4.2-3. Vienna: R Foundation for Statistical Computing; 2023. Disponível em: <https://www.R-project.org>. Acesso em 12 out. 2023.

REQUIER, F. *et al.* Limitation of complementary resources affects colony growth, foraging behavior, and reproduction in bumble bees. **Ecology**, v. 101, n. 3, p. e02946, 2020.

SCHULZ, D. J.; HUANG, ZY; ROBINSON, G. E. Effects of colony food shortage on behavioral development in honey bees. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 42, p. 295-303, 1998.

SCOFIELD, S.; AMDAM, G. V. Fat body lipogenic capacity in honey bee workers is affected by age, social role, and dietary protein. **BioRxiv**, p. 2024.03. 24.586478, 2024.

SELTZER, R. *et al.* Breeding for hygienic behavior in honey bees (*A. mellifera*): a strong paternal effect. **Journal of Apicultural Research**, v. 62, n. 3, p. 419-428, 2023.

SHADMEHR, S. *et al.* Effect of dietary supplement on the reproductive traits, products and behavioral characteristics of the European honey bee (*Apis mellifera*). **Journal of Apicultural Research**, p. 1-9, 2023.

SMITH, PK *et al.* Measurement of protein using bicinchoninic acid. **Analytical Biochemistry**, v. 150, n. 1, p. 76-85, 1985.

SOUTHWICK, E. E., HELDMAIER G. Temperature control in honey bee colonies. **Bioscience**, v.37, n. 6, p. 395-399, 1987.

SPRAU, L.; TRAYNOR, K.; ROSENKRAZ, P. Honey bees (*Apis mellifera*) preselected for Varroa sensitive hygiene discriminate between live and dead *Varroa destructor* and inanimate objects. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 10340, 2023.

TAWFIK, A. I. *et al.* Influence of winter feeding on colony development and the antioxidant system of the honey bee, *A. mellifera*. **Journal of Apicultural Research**, v. 59, n. 5, p. 752-763, 2020.

TRAJANO, A. L. M. **Avaliação do desenvolvimento de colônias de abelhas africanizadas (*A. mellifera*) e do ganho de peso como critério de seleção para produção de mel no semiárido**. 61 f. Dissertação (mestrado em Produção Animal) - Universidade Federal Rural do Semiárido, Mossoró, RN, 2020. Acesso em 22 nov. 2023.

VAUDO, A. D. *et al.* Pollen protein: lipid macronutrient ratios may guide broad patterns of bee species floral preferences. **Insects**, v. 11, n. 2, p. 132, 2020.

ZHENG, B.; WU, Z.; XU, B. The effects of dietary protein levels on the population growth, performance, and physiology of honey bee workers during early spring. **Journal of Insect Science**, v. 14, n. 1, p. 191, 2014.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando que, nesta pesquisa, as colônias compartilharam o mesmo pasto apícola e estavam sob as mesmas condições ambientais e que os valores da análise bromatológica revelaram a riqueza e potencial nutricional do resíduo da produção do hidromel, em termos de proteínas e minerais, os resultados obtidos apontam para a possibilidade do uso desses resíduos como suplemento alimentar das colônias de *A. mellifera* africanizada. Não obstante os dados para alguns parâmetros terem sido inconclusivos, há indícios do uso potencial desses resíduos no manejo alimentar das colmeias. Certamente o uso desses resíduos agregará valor à cadeia apícola, particularmente na produção do hidromel, que poderá se beneficiar do conceito de economia circular, aproveitando todo o material na cadeia de produção.

Contudo novas pesquisas devem aprofundar os estudos sobre a granulometria desses resíduos; sobre os valores das concentrações a partir deste estudo; e até mesmo qual o melhor estado físico do alimento a ser fornecido para as abelhas, ou seja, alimento sólido (pastoso) ou alimento líquido (xarope acrescido dos resíduos). Além disso, o controle sobre a genética e a idade das rainhas também poderão ser adicionados aos parâmetros de avaliação.

Com base nos resultados da presente pesquisa, fazer a correlação de fatores ambientais como precipitação, temperatura e umidade com a introdução de dietas suplementares alternativas, no desempenho das colônias e na dinâmica comportamental desses insetos, dentro e fora das colmeias é relevante para expandir os estudos da biologia e fisiologia das abelhas *A. mellifera*.

As dificuldades encontradas durante o experimento ajudarão a eliminar hipóteses inválidas, direcionando esforços para caminhos mais promissores e fornecendo informações para ajustar teorias e modelos pré-existentes. Esses experimentos contribuem para o fortalecimento de conhecimento científico, orientando estudos vindouros.