



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS  
VEGETAIS

Caroline Maciel da Costa

**Análise centesimal e do perfil de aminoácidos de três dietas proteicas e o efeito no desenvolvimento colonial e na sanidade de *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae)**

Florianópolis  
2025

Caroline Maciel da Costa

**Análise centesimal e do perfil de aminoácidos de três dietas proteicas e o efeito no desenvolvimento colonial e na sanidade de *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina para obtenção do título mestre.

Orientador: Dr. Alex Sandro Poltronieri

Coorientadores: Dra. Márcia Regina Fanta; Dr. André Amarildo Sezerino

Florianópolis  
2025

Ficha catalográfica gerada por meio de sistema automatizado gerenciado pela BU/UFSC.  
Dados inseridos pelo próprio autor.

Costa, Caroline Maciel da

Análise centesimal e do perfil de aminoácidos de três dietas proteicas e o efeito no desenvolvimento colonial e na sanidade de *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae) / Caroline Maciel da Costa ; orientador, Alex Sandro Poltronieri, coorientadora, Márcia Regina Fanta, coorientador, André Amarildo Sezerino, 2025.

74 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, Florianópolis, 2025.

Inclui referências.

1. Recursos Genéticos Vegetais. 2. Nutrição de abelhas. 3. Desenvolvimento colonial. 4. Sanidade. 5. Polinizadores. I. Poltronieri, Alex Sandro . II. Fanta, Márcia Regina . III. Sezerino, André Amarildo IV. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós Graduação em Recursos Genéticos Vegetais. V. Título.

Caroline Maciel da Costa

**Título: Análise centesimal e do perfil de aminoácidos de três dietas proteicas e o efeito no desenvolvimento colonial e na sanidade de *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae)**

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Dr. Rubens Onofre Nodari  
Universidade Federal de Santa Catarina

Dr. Aroni Sattler  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Dr. Robson Marcelo di Piero  
Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de mestre em ciências.

---

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

---

Prof. Dr. Alex Sandro Poltronieri  
Orientador

Florianópolis, 2025.

**Dedico este trabalho à minha família,  
meu alicerce e porto seguro,  
cujos gestos de amor e presença, mesmo na ausência,  
deram sentido e força a cada passo desta caminhada.**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço imensamente:

Ao meu orientador e professor, Dr. Alex Sandro Poltonieri, pela oportunidade concedida, pelo incentivo constante, pelos ensinamentos compartilhados e por todo o apoio ao longo deste percurso.

À minha coorientadora e amiga, Dra. Márcia Regina Fanta, e ao meu coorientador, Dr. Andre Amarildo Sezerino, pela oportunidade, pela parceria, pelo incentivo e pela ajuda irrestrita durante todo o processo.

À minha mãe Rosa, à minha irmã Bruna, à minha querida avó Robertina (in memoriam), ao meu pai Daniel e ao meu namorado Renato, por todo o apoio, paciência, incentivo e pelo amor incondicional.

À Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), ao Centro de Ciências Agrárias (CCA), ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais (RGV) e a todos os envolvidos, pela oportunidade de aprendizado e crescimento profissional.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos e pelo apoio financeiro.

Aos terceirizados do Parque Ecológico Cidade das Abelhas, em especial à Márcia, cuja ajuda foi fundamental.

Aos meus amigos de longa data, Jonatas, Caroline e Bruce, pelo incentivo constante e pela presença amiga em todo este processo.

Por fim, sou grata aos meus colegas e amigos Larissa, Tatiana, Arthur, Caroline, Thaís e João, que tornaram este processo mais leve e divertido com sua amizade e apoio.

Muito obrigada!

## RESUMO

A abelha ocidental (*Apis mellifera* L., Hymenoptera: Apidae) desempenha serviços de polinização para culturas agrícolas e plantas silvestres, que contribuem para a produção de alimentos humanos, pecuários e para a manutenção de ecossistemas naturais. Embora o uso de abelhas como bioinsumos em agroecossistemas monoflorais seja incentivado para aumentar a produtividade agrícola, essa prática pode comprometer a nutrição e a saúde das colônias. Apesar da importância do tema, ainda são limitados os estudos sobre os efeitos da suplementação proteica no desenvolvimento colonial e na resposta imunológica das abelhas frente a parasitos. Neste contexto, este estudo teve como objetivo avaliar a composição de dietas proteicas e seus efeitos na sanidade e no desenvolvimento de colônias de *A. mellifera* em dois apiários localizados em Caçador (início em agosto de 2023) e Florianópolis (início em janeiro de 2024), Santa Catarina, durante 180 dias. Três dietas experimentais comumente utilizada por apicultores, compostas por: D1 - açúcar, proteína de soja, suco de limão, extrato de baunilha e de própolis; D2 - açúcar, proteína de soja, levedura de cerveja e extrato de própolis; D3 - açúcar, proteína de soja, levedura de cerveja, óleo de palma e de lecitina de soja e núcleo de vitaminas. As dietas foram analisadas quanto à composição centesimal (cinzas, proteínas, lipídios e carboidratos) e perfil de aminoácidos, por cromatografia líquida de alta eficiência (RP-HPLC/DAD). Em cada apiário, 16 colônias foram submetidas a três dietas proteicas (D1, D2, D3) e a um controle (xarope de açúcar), com avaliações aos 0, 45, 90, 135 e 180 dias. A sanidade foi monitorada pela infestação e prevalência de *Vairimorpha* spp. e *Varroa destructor* em pupas e adultas, e o desenvolvimento colonial, avaliando cria (aberta e fechada), mel e pólen. Os resultados foram submetidos a análise de variância para ranqueamento das médias. Com base nos resultados das análises de composição nutricional, D3 apresentou variações nas concentrações de lipídios (9,6%), cinzas (4,19%) e carboidratos (46,8%). Em relação ao perfil de aminoácidos essenciais, foi observado que a D1 possui um perfil nutricional superior em ácido aspártico, ácido glutâmico, alanina e arginina, com diferenças ( $P < 0,001$ ). O consumo das dietas foi maior nos tratamentos D1, D2 e Controle do que no D3. A suplementação influenciou no armazenamento de pólen no apiário FLN aos 135 dias e a infestação por *Vairimorpha* spp. aos 90 dias em ambos os apiários. No entanto, não houve diferenças entre os tratamentos quanto ao desenvolvimento das colônias e à infestação por *Varroa destructor*, conforme os métodos aplicados. Este estudo reforça a importância de compreender de forma aprofundada a composição nutricional das dietas suplementares fornecidas às abelhas, aliada ao manejo adequado e ao monitoramento contínuo das colônias. Essa abordagem integrada permite otimizar recursos, reduzir custos e promover, de maneira mais eficiente, a sanidade e o desempenho das colônias, contribuindo para a sustentabilidade da apicultura.

**Palavras-chave:** abelha, força da colônia, nosema, nutrição, suplementação, varroa.

## ABSTRACT

The western honey bee (*Apis mellifera* L., Hymenoptera: Apidae) provides pollination services for agricultural crops and wild plants, which contribute to the production of human and livestock food and to the maintenance of natural ecosystems. In recent decades, bee colony mortality has increased in many countries, with Colony Collapse Disorder (CCD) being one of the main associated factors. CCD has a multifactorial origin, involving climatic stressors, pesticide use and intensive management, which compromise immunity and increase susceptibility to pathogens. Although the use of bees as bioinputs in monofloral agroecosystems is encouraged to increase agricultural productivity, this practice can compromise the nutrition and health of colonies. Despite the importance of the topic, studies on the effects of protein supplementation on the nutrition, development and immune response of bees against parasites are still limited. In this context, this study aimed to evaluate the composition of protein diets and their effects on the health and development of *A. mellifera* colonies in two apiaries located in Caçador (starting in August 2023) and Florianópolis (starting in January 2024), Santa Catarina, for 180 days. Three experimental diets (D1, D2, and D3), formulated with soybean protein and brewer's yeast, sugar, and variations in the addition of lemon juice, vanilla extract, propolis, vitamins, and vegetable oils, were analyzed for centesimal composition (ash, proteins, lipids, and carbohydrates) and amino acid profile, by high-performance liquid chromatography (RP-HPLC/DAD). In each apiary, 16 colonies were subjected to three protein diets (D1, D2, D3) and a control (sugar syrup), with evaluations at 0, 45, 90, 135, and 180 days. Health was monitored by the infestation and prevalence of *Vairimorpha* spp. and *Varroa destructor* in pupae and adults, and colonial development was monitored by the proportion of frames with bees, brood (open and closed), honey and pollen. The results were submitted to analysis of variance to rank the means. Based on the results of the nutritional composition analyses, D3 showed differences in the concentrations of lipids (9.6%), ash (4.19%) and carbohydrates (46.8%). Regarding the essential amino acid profile, it was observed that D1 has a superior nutritional profile in aspartic acid, glutamic acid, alanine and arginine, with differences ( $P < 0.001$ ). Diet consumption was higher in treatments D1, D2 and Control than in D3. Supplementation influenced pollen storage in the FLN apiary at 135 days and infestation by *Vairimorpha* spp. at 90 days in both apiaries. However, there were no differences between treatments regarding colony development and *Varroa destructor* infestation, according to the methods applied. This integrated approach enables resource optimization, cost reduction, and more effective promotion of colony health and performance, contributing to the sustainability of beekeeping.

**Keywords:** bee, colony strength, nosema, nutrition, varroa, supplementation.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>13</b>
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>15</b>
2.1 IMPORTÂNCIA DAS ABELHAS .....	15
2.2 POLINIZAÇÃO EM MACIEIRAS.....	16
2.3 ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO DE ABELHAS.....	17
2.4 ANÁLISE CENTESIMAL E DE COMPOSIÇÃO DE AMINOÁCIDOS.....	19
2.5 VARROOSE E NOSEMOSE .....	19
2.6 DIETAS ARTIFICIAIS DE SUPLEMENTAÇÃO .....	20
<b>3. OBJETIVOS.....</b>	<b>23</b>
3.1 OBJETIVO GERAL .....	23
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	23
<b>CAPÍTULO 1: ANÁLISE CENTESIMAL E DE AMINOÁCIDOS DE DIETAS UTILIZADAS COMO SUPLEMENTAÇÃO PROTEICAS EM <i>Apis mellifera</i> L.....</b>	<b>24</b>
4.1 INTRODUÇÃO .....	23
4.2 MATERIAIS E MÉTODOS .....	27
4.2.1 PREPARO DAS DIETAS .....	24
4.2.2 AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DAS DIETAS.....	25
4.2.2.1 CINZAS.....	25
4.2.2.2 PROTEINA BRUTA.....	25
4.2.2.3 LIPÍDEOS.....	26
4.2.2.4 UMIDADE E CARBOIDRATO.....	27
4.2.3 AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO DE AMINOÁCIDOS NA DIETA.....	27
4.2.3.1 REAGENTES.....	27
4.2.3.2 PREPARO DA AMOSTRA.....	27
4.2.3.3 DERIVAÇÃO PRÉ-COLUNA.....	28
4.2.3.4 ANÁLISE DE AMINOÁCIDOS POR LC-DAD.....	28
4.3 RESULTADOS .....	32
4.4 DISCUSSÃO .....	34
4.5 CONCLUSÃO .....	37
<b>CAPÍTULO 2: Avaliação do desenvolvimento colonial e de sanidade de <i>Apis mellifera</i> L., SUPLEMENTADAS com dietas proteicas .....</b>	<b>38</b>
5.1 INTRODUÇÃO .....	40

5.2	MATERIAIS E MÉTODOS .....	41
5.2.1	CARACTERIZAÇÃO DOS APIÁRIOS.....	41
5.2.2	OBTENÇÃO DAS COLÔNIAS DE <i>A. mellifera</i> .....	42
5.2.3	PREPARO DAS DIETAS PARA BIOENSAIO.....	42
5.2.4	AVALIAÇÃO DE CONSUMO DA DIETA.....	44
5.2.5	AVALIAÇÃO DE SANIDADE APÍCOLA E DESENVOLVIMENTO COLONIAL.....	45
5.2.5.1	<i>Varroa destructor</i> .....	45
5.2.5.2	<i>Vairimorpha</i> spp.....	46
5.2.5.3	Desenvolvimento colonial.....	47
5.2.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	48
5.3	RESULTADOS .....	48
5.3.1	<i>Varroa destructor</i> .....	49
5.2.5.2	<i>Vairimorpha</i> spp.....	51
5.2.5.3	Desenvolvimento colonial.....	54
5.4	DISCUSSÃO .....	56
5.5	CONCLUSÃO .....	60
<b>6.</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>601</b>
<b>7.</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>62</b>

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Localização geográfica dos municípios de Florianópolis e Caçador (Santa Catarina/Brasil) onde foram realizados os experimentos. Criado pelo site mapchart. Fonte: o autor.....41
- Figura 2:** Disposição de 100g de dieta a colônias núcleo de *A. mellifera*, no biensaio de Caçador, Santa Catarina. Foto: Márcia Regina Fanta.....44
- Figura 3:** Peso médio de dietas e erro padrão da média dos tratamentos D1, D2, D3 e Controle a cada 24h (0h, 24h, 48h, 72h, 96h, 120h), no município de Florianópolis, Santa Catarina.....49
- Figura 4:** Percentual ( $\pm$  Erro Padrão da Média) de adultos de *A. mellifera*, coletados em apiários localizados em Florianópolis e Caçador/SC, contendo ou não esporos *Vairimorpha* spp. após a exposição a quatro diferentes dietas alimentares.....53

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Formulação de três dietas artificiais (D1, D2 e D3) utilizadas por apicultores como suplementação proteica para <i>Apis mellifera</i> .....	27
<b>Tabela 2:</b> Porcentagem de cinzas, proteínas, lipídeos, umidade e carboidratos de dietas proteicas utilizadas como suplementação para <i>Apis mellifera</i> .....	32
<b>Tabela 3:</b> Qualificação e quantificação de 17 aminoácidos em dietas utilizadas como suplementação proteica em colmeias de <i>Apis mellifera</i> .....	33
<b>Tabela 4:</b> Formulação de dietas artificiais fornecidas para abelhas <i>Apis mellifera</i> nos municípios de Caçador (CDR) e Florianópolis (FLN), Santa Catarina, Brasil.....	43
<b>Tabela 5:</b> Porcentagem de infestação por <i>Varroa destructor</i> em pupas de abelhas <i>Apis mellifera</i> , frente a dietas suplementares proteicas (D1, D2, D3 e Controle), nos municípios de Florianópolis e Caçador, Santa Catarina.....	50
<b>Tabela 6:</b> Porcentagem de infestação por <i>Varroa destructor</i> em abelhas adultas <i>Apis mellifera</i> , que receberam dietas suplementares proteicas (D1, D2, D3 e Controle), nos municípios de Florianópolis e Caçador, Santa Catarina.....	50
<b>Tabela 7:</b> Número médio ( $\pm$ erro padrão da média) de esporos de <i>Vairimorpha</i> spp. em colônias submetidas a dietas proteicas em diferentes tempos (0h, 24h, 48h, 72h, 96h, 120h), em Caçador e Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.....	52
<b>Tabela 8:</b> Número de opérculos abertos, fechados, número de quadros com abelhas, mel operculado e pólen ( $\pm$ Erro Padrão da Média) de colmeias de <i>Apis mellifera</i> expostas por 180 dias a diferentes dietas proteicas em Florianópolis..	54
<b>Tabela 9:</b> Número de opérculos abertos, fechados, número de quadros com abelhas, mel operculado e pólen ( $\pm$ Erro Padrão da Média) de colmeias de <i>Apis mellifera</i> expostas por 180 dias a diferentes dietas proteicas em Caçador.....	55

## 1. INTRODUÇÃO

As abelhas desempenham um papel essencial na manutenção da biodiversidade vegetal e serviço de polinização (OLLERTON et al., 2011; KLEIN et al., 2022). A polinização realizada por abelhas contribui para o aumento da produtividade agrícola, qualidade dos alimentos e preservação dos ecossistemas (POTTS et al., 2016; IPBES, 2017). As abelhas participam da polinização de aproximadamente 80% das plantas utilizadas como alimento no Brasil (BERTOLINI et al., 2023). Plantas polinizadas apresentam melhorias significativas, como maior qualidade de sementes por fruto, aumento no valor nutritivo, sabor aprimorado e maior durabilidade dos alimentos (CALDERONE, 2012; GIANNINI et al., 2015; IPBES, 2017; POTTS et al., 2010; ZHANG et al., 2022).

A espécie *Apis mellifera* (Hymenoptera, Apidae) é mais utilizada na polinização dirigida de cultivos agrícolas, devido à sua plasticidade alimentar (POTRICH et al., 2018; GOULSON et al., 2015). Em culturas como a macieira (*Malus domestica*), que dependem de polinização cruzada em razão da autoincompatibilidade gametofítica (CHAVES, 2022), a ausência de polinizadores resulta em perdas de produtividade de até 100% (DELAPLANE, 2000). Esse cenário ressalta a importância do manejo ativo para assegurar a presença adequada de polinizadores durante o período de florescimento da cultura (FREITAS; NUNES-SILVA, 2012). No entanto, o transporte e o manejo intensivo das colmeias durante a fase de polinização podem gerar estresse nas abelhas, aumentar sua exposição a agrotóxicos, limitar a diversidade alimentar e, conseqüentemente, provocar desnutrição (SCALOPPI, 2019; FAITA et al., 2021).

As abelhas necessitam de uma dieta balanceada composta por macro e micronutrientes para o desenvolvimento saudável da colmeia. Esses nutrientes incluem carboidratos, provenientes de néctar ou mel, que fornecem energia; proteínas e aminoácidos essenciais, oriundos do pólen, fundamentais para a síntese proteica; além de lipídeos, vitaminas, minerais e água (HUANG, 2010). Em situações de baixa diversidade floral, os apicultores recorrem à suplementação alimentar, utilizando substitutos proteicos como farinha de soja

e derivados do leite, devido ao seu elevado valor nutricional (FREITAS; ECHAZARRETA, 2001; CASACA, 2010).

Embora nenhuma dieta artificial substitua totalmente os recursos naturais como néctar e pólen, essas suplementações desempenham um papel estratégico na manutenção da saúde das colônias em períodos de escassez ou estresse ambiental. No entanto, existem lacunas no conhecimento sobre como os ingredientes das dietas influenciam o desenvolvimento da colônia enquanto superorganismo. Nesse contexto, a análise centesimal e a caracterização do perfil de aminoácidos tornam-se essenciais, pois permitem avaliar a composição nutricional das dietas e identificar possíveis deficiências (PAOLI et al., 2014; HAGENGIMANA et al., 2021), viabilizando ajustes para atender às exigências fisiológicas das abelhas. Diante desse contexto, este estudo teve como objetivo avaliar a composição centesimal e o perfil de aminoácidos de três dietas utilizadas como suplementação proteica por apicultores, bem como analisar seus efeitos sobre as colônias.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 IMPORTÂNCIA DAS ABELHAS

As abelhas desempenham um papel essencial como polinizadores, sendo fundamentais para a manutenção dos ecossistemas terrestres, o equilíbrio da flora e a preservação da biodiversidade (ISAACS et al., 2017). A relevância ecológica das abelhas está fortemente vinculada à sua longa história de evolução aliada às angiospermas (OLLERTON, 2011). Esse processo coevolutivo resultou no surgimento de atributos florais especializados e na produção de recursos específicos, como óleos e perfumes, além de pistas sensoriais que direcionam os polinizadores até as flores (VARASSIN; AMARAL-NETO, 2014). Grande parte dessas características florais está relacionada à polinização realizada por abelhas, evidenciando a importância desses insetos na manutenção da diversidade e funcionalidade dos sistemas vegetais (VARASSIN; AMARAL-NETO, 2014)

A espécie *A. mellifera* é amplamente empregada na polinização agrícola. Isso ocorre pela facilidade de manejo, elevado número de indivíduos por colônia e comportamento generalista na coleta de recursos florais (POTTS et al., 2010), com uma contribuição estimada entre US\$ 235 e 577 bilhões anuais para a agricultura global (POTTS et al., 2016). No Brasil, esse valor é estimado em aproximadamente US\$ 43 bilhões por ano (BPBES, 2019).

A apicultura tem se destacado no cenário agrícola devido à sua capacidade de diversificar os produtos apícolas, como geleia real, cera, própolis, pólen, apitoxina e mel (POTRICH et al., 2018). Além disso, a apicultura também gera renda à agricultores por meio da polinização de cultivos. Aproximadamente 61% das espécies de plantas cultivadas para alimentação humana, produção animal, biodiesel e fibras dependem, em algum grau, da polinização (GIANNINI et al., 2015). Dentre as culturas dependentes da polinização por abelhas, destaca-se a macieira (*Malus domestica*), cuja produção requer a visitação frequente por polinizadores para assegurar a fecundação cruzada e a formação adequada dos frutos (SASSA, 2016).

## 2.2 POLINIZAÇÃO EM MACIEIRAS

A maçã é uma das quatro frutas mais consumidas no mundo (MUSACCHI; SERRA, 2018). No Brasil, a produção anual de maçã atinge cerca de 1,1 milhão de toneladas (IBGE, 2023). com o estado de Santa Catarina liderando o ranking nacional.

Santa Catarina apresenta uma produção média anual de 572.372 toneladas de maçã, correspondendo a 47% da produção nacional, distribuída em 15.779 hectares de cultivo (EPAGRI, 2024). Considerando a recomendação técnica de aproximadamente quatro colmeias por hectare, estima-se a necessidade de mais de 63 mil colmeias para atender à demanda de polinização nessa área. A Serra Catarinense, principal região produtora, ampliou em 16,3% sua área cultivada entre 2020 e 2023, passando de 12.060 para 14.026 hectares, reforçando a crescente demanda por serviços de polinização.

As macieiras possuem elevado grau de incompatibilidade reprodutiva, o qual exige o plantio simultâneo de duas ou mais variedades para que a polinização cruzada ocorra de forma eficaz (SOSTER; LATORRE, 2007). Aliado a isso, a falta de polinizadores, resulta em deficiências no rendimento da cultura (GARIBALDI et al., 2014; REILLY et al., 2020). Nesse sentido, as abelhas desempenham um papel essencial, promovendo a polinização necessária para a produção comercial de frutos de alta qualidade (GARIBALDI et al., 2014; PARDO; BORGES, 2020; PRENDERGAST et al., 2021; WEEKERS et al., 2022).

Entretanto, os polinizadores enfrentam ameaças, como a presença de patógenos e a exposição a agroquímicos (GOULSON et al., 2015; BROWN et al., 2016; MCMENAMIN et al., 2016). Adicionalmente, a alimentação pouco diversificada em pólen e néctar (CHAVES, 2022) é um fator crítico, gerando estresse e comprometendo a saúde das abelhas. A nutrição equilibrada é fundamental para ajudar as colônias de abelhas a resistirem a estressores como patógenos, agroquímicos e a falta de recursos florais (DEGRANDI-HOFFMAN; CHEN, 2015). Oferecer uma alimentação diversificada em pólen e néctar, fortalece o sistema imunológico das abelhas, aumenta a longevidade e melhora a capacidade de polinizar. Diante desse cenário, estratégias como a diversificação de cultivos, a manutenção de áreas com vegetação nativa e o uso de suplementos nutricionais contribuem para intensificar a produção agrícola de

forma ecológica, garantindo o equilíbrio dos ecossistemas e a saúde das colônias (VIANA, 2015).

### 2.3 ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO DE ABELHAS

A nutrição equilibrada é essencial para o funcionamento eficaz do sistema imune das abelhas, tanto a nível individual quanto coletivo (HRISTOV et al., 2020). As necessidades nutricionais dependem de diversos fatores, tais como: a fase de desenvolvimento em que a abelha se encontra, do tipo de atividade social que exerce na colônia, tamanho do enxame, temperatura e influência do ambiente (WITHERS, 1981). Durante o forrageamento, as abelhas coletam néctar e pólen como fonte de carboidratos e proteínas para a alimentação da colônia (FAITA, 2020). No entanto, a disponibilidade desses recursos varia ao longo do ano, o que pode resultar em deficiências nutricionais em determinados períodos.

O mel é a principal fonte de energia para *A. mellifera*, fornecendo carboidratos para as atividades como voo, forrageamento e manutenção da colônia (MOTA et al., 2023). O néctar é composto por sacarose, glicose, frutose e alguns açúcares mais raros, como arabinose, galactose, manose, gentiobiose, lactose, maltose, melibiose, trealose, melezitose, rafinose e estaquiose (RICIGLIANO et al., 2017; ROY et al., 2017). Assim que o néctar é coletado das flores, as abelhas adicionam enzimas (invertases, diastases e glucose oxidase) durante o voo de retorno, na fase de regurgitação e quando armazenam para reserva de alimentação nos favos (TSURUDA et al., 2021). Geralmente o mel tem um conteúdo de 80 - 85% de carboidratos, 15 - 17% de água, 0,3% de proteínas, 0,2% de cinzas e pequenas quantidades de aminoácidos, fenóis, pigmentos e vitaminas (KHAN et al., 2018; LIRA, 2014).

As abelhas utilizam o pólen para produzir geleia real e desempenhar funções metabólicas. O pólen possui quantidades significativas de açúcares (20 a 40%), proteínas (10 a 36%), ácidos graxos (1 a 5%), bem como minerais, como o zinco, cobre e ferro, e uma alta relação potássio/sódio (1 a 7%). Os aminoácidos essenciais presentes nas proteínas das abelhas incluem: 3% de arginina, 2,5% de fenilalanina, 1,5% de histidina, 4% de isoleucina, 4,5% de leucina, 3% de lisina, 1,5% de metionina, 3% de treonina, 1% de triptofano e 4%

de valina (NOGUEIRA-COUTO, 1998; PAOLI et al., 2014). Além disso, o pólen é uma fonte rica em vitaminas, como a provitamina A, vitamina E (tocoferol), niacina, tiamina, ácido fólico e biotina (THAKUR; NANDA, 2020), além da água, que representa aproximadamente 30% de sua composição.

A diversidade polínica coletada pelas abelhas depende de vários fatores, como o tipo, a diversidade e a fenologia de plantas, a estação do ano, a temperatura e a fertilidade do solo (LI et al., 2012; MORAIS et al., 2013). A entrada do pólen na colônia é regulada de acordo com suas necessidades, e é importante que provenha de múltiplas espécies vegetais para garantir uma dieta equilibrada (CARROLL et al., 2017) e o fornecimento adequado de micronutrientes essenciais (STEINHAEUER et al., 2018). Essa diversidade nutricional contribui para a manutenção da sanidade e resistência das abelhas aos patógenos aos quais estão naturalmente expostas (DOLEZAL, TOTH, 2018).

As abelhas utilizam néctar e pólen durante toda sua vida, com exigências nutricionais e mecanismos de alimentação específicos, de acordo com cada fase de desenvolvimento (DEGRANDI-HOFFMAN et al., 2018). Durante a fase larval, todas as castas se alimentam de geleia real até o terceiro dia de vida. Após esse período, operárias e zangões passam a se alimentar também de mel e pão de abelha, enquanto as larvas que se diferenciam em rainha continuam a se alimentar exclusivamente de geleia real (SOUZA, 2007).

O consumo de água é essencial para a colônia tanto nos processos fisiológicos de digestão e metabolismo quanto no controle da temperatura e umidade dentro da colmeia (DOMINGOS et al., 2018). As abelhas forrageiras coletam água e, por meio da trofolaxia, transferem-na para as abelhas nutrizes, que são responsáveis pela alimentação das crias e da rainha (OSTWALD et al., 2016).

A nutrição adequada das abelhas é essencial para a saúde e produtividade das colônias. Quando as abelhas enfrentam estresse alimentar, sua resposta imunológica pode ser comprometida, tornando-as mais suscetíveis a parasitos e doenças (SIVITER et al., 2021). Assim, entender a composição de macro e micronutrientes na alimentação da colônia é fundamental para adequação nutricional da dieta de maneira eficiente, podendo ser obtidos por meio da análise centesimal e do perfil de aminoácidos.

A análise centesimal permite a quantificação dos principais macronutrientes presentes nas dietas de abelhas, incluindo proteínas, lipídios, carboidratos, fibras, umidade e cinzas. Enquanto a análise de aminoácidos identifica e quantifica os aminoácidos essenciais, como lisina, metionina e treonina (HAGENGIMANA et al., 2021; PAOLI et al., 2014). Esses dados permitem identificar deficiências nutricionais e ajustar a formulação das dietas para atender a essas necessidades.

#### 2.4 ANÁLISE CENTESIMAL E DE COMPOSIÇÃO DE AMINOÁCIDOS

A composição centesimal de um alimento consiste na análise dos principais grupos de substâncias presentes, quantificados em 100 gramas do produto. Esses grupos incluem umidade, cinzas, lipídios, proteínas brutas, açúcares e fibras. A análise centesimal permite ajustes precisos nas dietas artificiais das abelhas, especialmente em períodos de escassez de fontes naturais de alimento, contribuindo assim para um manejo mais eficaz e sustentável das colônias (DEGRANDI-HOFFMAN et al., 2015; NICOLSON, 2011)

As dietas artificiais fornecem componentes nutricionais essenciais, como proteínas, vitaminas e fitoquímicos. Os aminoácidos essenciais presentes na proteína são arginina, fenilalanina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, treonina, triptofano e valina. A deficiência em aminoácidos essenciais compromete o desenvolvimento das colônias e reduz a longevidade das abelhas operárias (PAOLI et al., 2014; HAGENGIMANA et al., 2021), afeta o equilíbrio fisiológico e a resistência ao estresse das abelhas (ARCHER et al., 2014). O maior desafio para as abelhas deriva da imunossupressão produzida pelos efeitos combinados de desnutrição, ácaro *Varroa destructor* (Varroidae:Mesostigmata), nosemose e pesticidas (RETSCHNIG et al., 2017).

#### 2.5 VARROOSE E NOSEMOSE

A ação de pragas e patógenos é um dos principais fatores responsáveis pelas perdas significativas nas populações de abelhas (GOULSON et al., 2015; STEINHAUER et al., 2018). O ácaro *Varroa destructor* (Varroidae:Mesostigmata)

é o mais importante artrópode que ataca abelhas. *V. destructor* alimenta-se do corpo gorduroso de crias e abelhas adultas (RAMSEY et al., 2019), causando má-formação de órgãos, transmissão de patógenos, redução do peso em adultos e diminuição da longevidade da colônia (DUAY; DE JONG; ENGELS, 2003; CASTAGNINO; ORSI, 2012). O ciclo de vida de *V. destructor* envolve duas fases: a fase forética, quando a fêmea se adere ao corpo da abelha adulta e a fase reprodutiva, quando a fêmea se desprende para depositar seus ovos nas células de cria, antes de serem operculada (NAZZI; LE CONTE, 2016).

Além de *V. destructor*, existem quatro espécies de microsporídios que afetam as abelhas. Três dessas espécies (*Vairimorpha apis*, *Vairimorpha ceranae* e a *Nosema neumanni*) são consideradas emergentes em todo o mundo e acometem principalmente *A. mellifera*, enquanto a quarta espécie (*Nosema bombi*) acomete abelhas nativas da Uganda (CORDES et al., 2012; GRAYSTOCK et al., 2013; KISSINGER et al., 2011; TRIPODI et al., 2014, CHEMUROT et al., 2017, ZHANG et al., 2022). Esses microsporídios são parasitos intracelulares que se multiplicam nas células epiteliais e criptas de regeneração no intestino médio (HIGES, et al., 2007), causando extensa degeneração e lise celular (VIDAU, et al., 2014).

A varroose e a nosemose são doenças de grande impacto na apicultura, tanto sob a perspectiva sanitária quanto econômica (ARECHAVALETA et al., 2001), devido reduzir a longevidade das abelhas e comprometer a eficiência no forrageamento. Como resultado, a produção de mel pode ser reduzida e, em casos mais severos, levar à perda parcial ou total das colmeias (MARTÍNEZ; MEDINA et al., 2011).

A nutrição é um fator essencial para o fortalecimento do sistema imunológico, a resistência a doenças e o desenvolvimento das abelhas (FAITA et al., 2021). Para manter as colônias saudáveis, os apicultores utilizam dietas artificiais como forma de suplementação alimentar (NETO et al., 2015).

## 2.6 DIETAS ARTIFICIAIS DE SUPLEMENTAÇÃO

A nutrição balanceada é reconhecida como a primeira linha de defesa das colônias de abelhas, fortalecendo sua capacidade de enfrentar estresses bióticos e abióticos (VAUDO, 2020). O conceito de dieta refere-se ao

fornecimento completo dos nutrientes essenciais para o desenvolvimento e a manutenção das abelhas, englobando fontes naturais como néctar, pólen e água (WITHERS, 1981). Já a suplementação é uma abordagem estratégica para corrigir ou suprir deficiências nutricionais quando a dieta natural se mostra inadequada, seja devido à escassez de recursos ou condições ambientais desfavoráveis (NETO et al., 2015; PAOLI et al., 2014).

No Brasil, dietas experimentais estão sendo testadas como potenciais complementar para pólen e mel, a fim de suprir as deficiências nutricionais das abelhas durante períodos de escassez destes alimentos, apresentando melhorias em termos de equilíbrio fisiológicos e morfológicos (PAOLI, 2014). Além disso, a suplementação dietética pode ser empregada para estimular o crescimento populacional das colônias, objetivando a produção de mel, multiplicação de colônias para divisão, produção de rainhas e para fins de polinização de culturas agrícolas, como em polinização dirigida em pomares de maçã (KHAN et al., 2021).

A alimentação artificial pode ser ofertada líquida, pastosa ou sólida. Estes suplementos podem ser de natureza energética ou proteica sendo utilizado de acordo com as reservas alimentares disponíveis e a finalidade da colmeia (PARAY et al., 2021). No entanto, a suplementação energética em períodos de baixa oferta floral, requer cautela. Embora estimule a postura da rainha e a produção de larvas, a insuficiência de carboidratos nas reservas pode comprometer o desenvolvimento das pupas (LEGLER et al., 2000; OSKAY, et al 2021).

Os suplementos proteicos apresentam composição nutricional similar ao pólen e demonstram eficiência na redução da perda de colônias (DEGRANDI-HOFFMAN et al., 2010). Os ingredientes frequentemente utilizados em dietas proteicas incluem farelo de soja, farelo de milho, levedura de cerveja e suplementos vitamínicos e minerais. Na formulação de dietas suplementares, é importante considerar a qualidade da proteína fornecida e o correto balanço de aminoácidos, para o aproveitamento eficiente da fração proteica (OLIVEIRA, 2019). Dietas enriquecidas com proteína de soja resultaram em aumento na produção de mel e postura de rainha (ULLAH et al., 2021), no peso final da população, na coleta de pólen e consumo do alimento (NÚÑEZ-TORRES et al., 2017)

Embora nenhuma dieta se equipare nutricionalmente ao néctar e ao pólen, é imperativo reunir informações detalhadas sobre a eficácia desses produtos em situações de campo. Além disso, compreender a qualidade, composição e condições de aplicação dos suplementos disponíveis no mercado é imprescindível. Em situações adversas, os suplementos contribuem para a manutenção da sanidade das colônias e desempenho nas atividades. Além disso, a suplementação nutricional tem o potencial de proporcionar aumento na renda e na qualidade de vidas dos apicultores (ZANGIROLAMI, 2022).

Nos últimos anos, estudos relacionados à nutrição de abelhas foram desenvolvidos em laboratório com ambientes controlados para minimizar variáveis abióticas. No entanto, *A. mellifera* possui comportamento eussocial, de modo que a colônia funcione como um superorganismo, caracterizado pela cooperação e interdependência dentro da colônia, onde as abelhas atuam coletivamente. Ainda existe uma lacuna referente ao conhecimento sobre as necessidades de macro e micronutrientes às abelhas, o impacto da diversidade alimentar na saúde e produtividade das colônias. Embora a suplementação proteica seja uma técnica comum de manejo entre os apicultores, não há uma dieta padrão oferecida aos enxames (CAMILLI, 2019). Assim, torna-se necessário e urgente a condução de pesquisas adicionais às laboratoriais, considerando ambientes de campo, a fim de obter uma compreensão das demandas nutricionais das abelhas e desenvolver estratégias de manejo mais eficazes.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a composição de dietas ofertadas como suplementação proteica e seus efeitos sobre a sanidade e desenvolvimento colonial de *A. mellífera*.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a composição centesimal e de aminoácidos de dietas utilizadas como suplementação proteica em *A. mellífera* L.
- Estudar os efeitos de dietas de suplementação proteica sobre o desenvolvimento colonial de *A. mellífera* L. em condições de campo.
- Investigar o índice de infestação de *Vairimorpha* spp. e *Varroa destructor* em colônias de *A. mellífera* L. suplementadas ou não com dietas proteicas.

## **CAPÍTULO 1: ANÁLISE CENTESIMAL E DE AMINOÁCIDOS DE DIETAS UTILIZADAS COMO SUPLEMENTAÇÃO PROTEICA PARA *Apis mellifera* L.**

### **RESUMO**

A sanidade e a nutrição impactam diretamente a população de *A. mellifera*, os serviços de polinização e a produção apícola. Durante períodos de escassez de recursos tróficos, a suplementação com dietas artificiais torna-se uma estratégia para a manutenção das colônias. Contudo, a ausência de rações formuladas especificamente para abelhas leva apicultores a usar misturas caseiras ou produtos destinados a outros animais, sem garantia de que atendam às exigências nutricionais das colônias. O presente estudo teve como objetivo avaliar a composição centesimal e o perfil de aminoácidos de três dietas proteicas amplamente utilizadas por apicultores. Foram testadas três formulações (D1, D2 e D3) compostas por proteína de soja, levedura de cerveja, extrato de própolis e açúcar, com variações na adição de suco de limão, extrato de baunilha, vitaminas e óleos de linhaça e palma. A composição centesimal foi determinada pela quantificação de cinzas, proteína, lipídios e carboidratos, enquanto o perfil de aminoácidos foi analisado por cromatografia líquida de alta eficiência (RP-HPLC/DAD). A análise centesimal demonstrou que a dieta D3 possui maiores teores de lipídios (9,62%), cinzas (4,19%) e carboidratos (46,78%), enquanto a D2 destacou-se pelo maior teor de proteína (30,01%), associada a baixos níveis de carboidratos (26,82%). A avaliação de aminoácidos indicou que a D1 apresentou maiores concentrações de ácido aspártico, ácido glutâmico, alanina e arginina ( $P < 0,001$ ), além de quantidades detectáveis de glutamina/histidina e isoleucina. As dietas testadas podem suprir parcialmente as necessidades nutricionais das abelhas, destacando a D1 pela quantidade e diversidade de aminoácidos. No entanto, testes *in vivo* são essenciais para validar a eficácia nutricional e viabilidade na manutenção das colônias.

**Palavras-chave:** Abelhas africanizadas, análise nutricional, dieta artificial, escassez de recursos.

## ABSTRACT

The health and nutrition directly impact the *A. mellifera* population, pollination services, and beekeeping production. During periods of resource scarcity, supplementation with artificial diets becomes a strategy for colony maintenance. However, the lack of feed specifically formulated for bees leads beekeepers to use homemade mixes or products intended for other animals, with no guarantee that they meet the nutritional requirements of the colonies. This study aimed to evaluate the proximate composition and amino acid profile of three protein diets widely used by beekeepers. Three formulations (D1, D2, and D3) composed of soy protein, brewer's yeast, propolis extract, and sugar were tested, with variations in the addition of lemon juice, vanilla extract, vitamins, and linseed and palm oils. The centesimal composition was determined by quantifying ash, protein, lipids, and carbohydrates, while the amino acid profile was analyzed by high-performance liquid chromatography (RP-HPLC/DAD). The centesimal analysis showed that diet D3 had higher levels of lipids (9.62%), ash (4.19%), and carbohydrates (46.78%), while D2 stood out for its higher protein content (30.01%), associated with low levels of carbohydrates (26.82%). The amino acid evaluation indicated that D1 had higher concentrations of aspartic acid, glutamic acid, alanine, and arginine ( $P < 0.001$ ), in addition to detectable amounts of glutamine/histidine and isoleucine. The tested diets can partially meet the nutritional needs of bees, with D1 standing out for its quantity and diversity of amino acids. However, *in vivo* testing is essential to validate nutritional efficacy and viability in colony maintenance.

**Keywords:** Africanized honeybees, nutritional analysis, artificial diet, resource scarcity.

#### 4.1 INTRODUÇÃO

A coleta de recursos por abelhas depende das necessidades da colônia e da oferta no ambiente, sendo a diversidade vegetal fundamental para uma dieta equilibrada (CARROLL et al., 2017). Durante o forrageamento, as abelhas coletam néctar, pólen e óleos como fontes de carboidratos, proteínas e outros nutrientes essenciais para a colônia (FAITA, 2020). O pólen é rico em proteínas, lipídios, esteróis e micronutrientes, exibindo variações nutricionais conforme sua origem botânica (THAKUR; NANDA, 2020). O mel constitui a principal fonte de carboidratos, composto principalmente por sacarose e seus constituintes monossacarídeos, glicose e frutose que são essenciais para atividades como voo, termorregulação e produção de cera (WRIGHT et al, 2018).

As abelhas necessitam de uma ingestão mínima de aminoácidos essenciais equivalente a aproximadamente 20% da proteína digerível. Entre esses aminoácidos, destacam-se arginina (3%), fenilalanina (2,5%), histidina (1,5%), isoleucina (4%), leucina (4,5%), lisina (3%), metionina (1,5%), treonina (3%), triptofano (1%) e valina (4%) (DE GROOT, 1953; NOGUEIRA-COUTO, 1998; PAOLI et al., 2014). O equilíbrio de aminoácidos é importante para otimizar a absorção da fração proteica na dieta, enquanto desvios significativos nessas proporções podem diminuir a população da colônia, comprometendo o equilíbrio fisiológico e a capacidade de resistência ao estresse das abelhas (ARCHER et al., 2014). A baixa disponibilidade de fontes proteicas na entressafra compromete a produção de geleia real pelas abelhas nutrizes.

A deficiência nutricional pode reduzir a secreção das glândulas hipofaríngeas e mandibulares, responsáveis pela produção de geleia real, afetando diretamente o desenvolvimento das larvas e a nutrição da rainha, o que pode comprometer a renovação da colônia e sua produtividade (HERBERT, 1992; BRODSCHNEIDER, CRAILSHEIM, 2010; WRIGHT et al. 2018). Desse modo, as secreções imunizantes contidas na geleia real, que atuam na prevenção de parasitos e patógenos (MAORI et al., 2019), deixam de ser sintetizadas adequadamente. Em um cenário de enfraquecimento das colônias devido a exposição à estressores, as abelhas têm dificuldade em manter ou restabelecer a imunidade social (CHAVES et al, 2022).

A fim de mitigar o impacto da deficiência nutricional na imunidade das abelhas, os apicultores recorrem à alimentação suplementar, utilizadas como substitutos do pólen e do mel (SIHAG; GUPTA, 2013). Tradicionalmente, esses substitutos proteicos incluem farinha de soja e derivados de leite (FREITAS; ECHAZARRETA, 2001). No entanto, esses suplementos proteicos não oferecem a mesma qualidade nutricional que o pólen e o néctar e seus efeitos sobre a imunidade individual e coletiva das colônias não são claros. Neste contexto, o objetivo deste capítulo foi analisar a composição centesimal e o perfil de aminoácidos de três dietas proteicas utilizadas por apicultores, buscando fornecer subsídios sobre sua eficiência como suplemento nutricional para *A. mellifera*.

## 4.2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.2.1 Preparo das dietas

A composição das dietas, baseadas em formulações comumente utilizadas por apicultores, foi determinada a partir de ingredientes adquiridos em estabelecimentos comerciais, sendo organizadas em três tratamentos distintos: D1, D2 e D3 (Tabela 1).

**Tabela 1:** Formulação de três dietas artificiais (D1, D2 e D3) utilizadas por apicultores como suplementação proteica para *Apis mellifera*.

Tratamento	Formulação de dietas
D1	Açúcar cristal orgânico (1000g) + Proteína de soja orgânica (500g) + Suco de limão (100ml) + Extrato de baunilha (10ml) + Extrato de própolis (10ml)
D2	Açúcar cristal orgânico (525g) + Proteína de soja orgânica (375g) + Levedura de cerveja (300g) + Extrato de própolis (2,5ml)
D3	Açúcar cristal orgânico (818g) + Proteína de soja orgânica (350g) + Levedura de cerveja (350g) + Óleo de palma (80ml) + Óleo de linhaça (80ml) + Lecitina de soja (20g) + Núcleo de vitaminas (2g)

Os tratamentos foram preparados a partir da homogeneização dos ingredientes e, em seguida, fracionados e embalados em porções de 50g com

filme plástico de PVC (policloreto de vinila) e armazenados sob refrigeração (5°C) até a realização das análises.

#### **4.2.2 Avaliação de composição centesimal da dieta**

A avaliação da composição centesimal determina os materiais orgânicos de cada tratamento. Em laboratório, os tratamentos (D1, D2 e D3) foram retirados da refrigeração e fracionados para verificar a concentração de cinzas, proteínas, lipídeos, umidade e carboidratos.

##### *4.2.2.1 Cinzas*

A determinação do teor de cinzas foi realizada a partir da pesagem de 3 g de cada tratamento em cadinhos de porcelana previamente tarados. As amostras foram inicialmente incineradas com o auxílio de um bico de Bunsen, sob capela de exaustão. Em seguida, os cadinhos foram transferidos para um forno mufla, onde permaneceram a 550 °C por um período de 3 h. Após esse tempo, o forno foi desligado e os cadinhos deixados em seu interior até atingirem aproximadamente 300 °C. Com o uso de pinças, os cadinhos foram então retirados e colocados em dessecador até atingirem a temperatura ambiente. Após o resfriamento completo, os cadinhos contendo as cinzas foram pesados, e a porcentagem de cinzas foi calculada por meio da fórmula:

$$\text{Cinzas (\%)} = \frac{(\text{Peso do cadinho com amostra seca} - \text{Peso do cadinho vazio}) \times 100}{\text{Peso da amostra}}$$

##### *4.2.2.2 Proteína bruta*

A análise de proteína bruta iniciou-se com a preparação da mistura digestora. Inicialmente, dissolveram-se 3,6 g de selenito de sódio, 21,4 g de sulfato de sódio e 4 g de sulfato de cobre em 175 mL de água destilada. Em seguida, adicionou-se cuidadosamente 200 mL de ácido sulfúrico à mistura de forma gradativa. Posteriormente, foram adicionados 0,1 g de cada tratamento a 7 mL de uma mistura digestora em tubo de digestão. O tubo foi aquecido no bloco digestor até que a solução se tornasse incolor. Após a digestão, 20 mL de

solução de NaOH a 45% foram adicionados, e o tubo foi conectado ao destilador de proteínas. Durante a etapa de destilação, o nitrogênio liberado foi coletado em um Erlenmeyer contendo 10 mL de solução de ácido bórico 2%. O processo de destilação continuou até que o destilado atingisse um volume total de 50 mL. Em seguida, o destilado foi titulado com solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,021 N até o ponto de viragem da solução indicadora. A porcentagem de nitrogênio presente na amostra foi calculada, e o teor de proteína bruta foi determinado aplicando-se o fator de conversão padrão de 6,25, sendo as fórmulas:

$$N (\%) = \frac{[(A - B) \times N \times 14 \times 100]}{P}$$

$$\text{Proteína (\%)} = \% N \times 6,25$$

*A = Volume de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> gasto na titulação da amostra (mL)*

*B = Volume de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> gasto na titulação do branco (mL)*

*N = Normalidade da solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>*

*P = Peso da amostra em miligramas (mg)*

#### 4.2.2.3 Lipídeos

A determinação do teor de lipídeos teve início com a pesagem de 3 g de cada tratamento, acondicionadas em cartuchos de papel, os quais foram inseridos na corneta do extrator de Soxhlet. O sistema foi montado acoplado o extrator a um balão de fundo chato, ao qual foram adicionados 150 mL de hexano como solvente. A extração foi conduzida por um período de 12 horas. Finalizada essa etapa, os balões contendo o solvente e os lipídeos extraídos foram transferidos para uma estufa com circulação de ar a 105 °C, onde permaneceram por 24 horas para evaporação completa do hexano. Em seguida, os balões foram resfriados em dessecador e pesados em balança analítica. A quantidade de lipídeos foi calculada com base na diferença entre o peso final e o peso inicial do balão:

$$\text{Lipídeos (\%)} = \frac{[(\text{peso do balão com óleo}) - (\text{peso do balão}) \times 100]}{\text{peso da amostra}}$$

#### 4.2.2.4 *Umidade e carboidratos*

A determinação de umidade foi realizada utilizando o determinador de umidade infravermelho AND MX-50. Inicialmente, foi pesado 1 g da amostra de cada tratamento, colocada no determinador e o resultado da umidade foi fornecido em porcentagem. A quantidade de carboidratos foi calculada pela diferença entre 100% e a soma dos valores obtidos para umidade, cinzas, fibra bruta, proteína e lipídeos, expressa em porcentagem conforme a fórmula:

$$\begin{aligned} \text{Carboidratos (\%)} \\ &= (\% \text{ umidade}) + (\% \text{ cinzas}) + (\% \text{ proteínas}) + (\% \text{ fibras}) \\ &+ (\% \text{ lipídeos}) - 100 \end{aligned}$$

### 4.2.3 **Avaliação de composição de aminoácidos da dieta**

#### 4.2.3.1 *Reagentes*

Os reagentes utilizados são de grau analítico, enquanto os solventes são de pureza cromatográfica. A água ultrapura foi obtida por meio de um sistema Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, EUA). O ácido clorídrico foi adquirido da Neon Reagentes Analíticos (Suzano, SP, Brasil). Metanol, acetonitrila, fosfato de sódio, tetraborato de sódio, hidróxido de amônio, orto-ftalaldeído (OPA, solução completa de o-ftalaldeído +  $\beta$ -mercaptoetanol - CAS: 643-79-8), assim como os padrões de aminoácidos ácido aspártico, ácido glutâmico, asparagina, serina, glutamina, histidina, glicina, treonina, arginina, alanina, tirosina, cistina, valina, metionina, triptofano, fenilalanina, isoleucina, leucina e lisina, foram adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA).

#### 4.2.3.2 *Preparo de amostra*

As amostras foram submetidas à digestão ácida usando radiação em microondas (MARS Classic<sup>®</sup>, CEM Corporation, Matthews, NC, EUA). Duzentos miligramas ( $200 \pm 20$  mg) foram pesados em tubos de teflon PFA e adicionados

de 5 mL de ácido clorídrico 6M. Para limitar a oxidação de aminoácidos durante a hidrólise, os tubos foram purgados com nitrogênio para remoção do oxigênio e imediatamente fechados e submetidos ao programa de aquecimento. Uma rampa de aquecimento até 130 °C foi estabelecida por 5 min, em seguida as amostras hidrolisadas por 120 min a 130 °C (KROLL et al., 1998; WEBER, 2022), e posteriormente os tubos foram resfriados até 40 °C. Em seguida 5 mL de hidróxido de amônio foram adicionados para neutralização do ácido clorídrico. Os extratos foram filtrados com papel filtro Whatman nº 1 (Millipore, Burlington MA, EUA) em balão de 25 mL cujo volume foi completado com água ultrapura.

#### 4.2.3.3 *Derivatização pré-coluna*

A derivatização dos aminoácidos foi realizada conforme a metodologia descrita por Fontes et al. (2024). Para a reação, 50 µL da amostra ou padrão de aminoácidos foram combinados com 300 µL de tampão borato de sódio 40 mM (pH = 9,5) e 150 µL do reagente OPA (o-ftalaldeído) em tubos de centrífuga de 2 mL. A mistura foi centrifugada por 3 min a 11.200 RPM e, em seguida, transferida para canuleta e injeção no sistema LC-DAD (Cromatografia líquida com detector de arranjo de diodos). O tempo total de derivatização e injeção não excedeu 10 min, sendo realizado à temperatura ambiente ( $25 \pm 1$  °C).

#### 4.2.3.4 *Análise de aminoácidos por LC-DAD*

A identificação dos aminoácidos foi realizada utilizando um sistema Agilent 1260 Infinity LC (Agilent Technologies, Santa Clara, EUA) equipado com um detector de arranjo de diodos (DAD, modelo G1315D) e uma coluna Zorbax Poroshel 120 C18 (100 × 4,6 mm, 3,5 µm), com método adaptado de Fontes et al. (2024). O volume de injeção foi de 5 µL, a temperatura do forno foi ajustada para 30 °C e a vazão foi de 1,0 mL min<sup>-1</sup>. A fase móvel consistiu dos seguintes solventes: (A) tampão fosfato de sódio 10 mM + borato de sódio 10 mM (pH = 8,2) e (B) acetonitrila:metanol:água (45:45:10 v/v/v). O gradiente de separação foi configurado da seguinte forma: 0 min: 98% A; 0,35 min: 98% A; 15,5 min: 43% A; 15,6 min: 0% A; 18 min: 0% B; 18,5 min: 98% A; 20 min: 98% A. A detecção foi realizada a 338 nm e os aminoácidos foram identificados com base nos

tempos de retenção, comparados aos padrões correspondentes. A solução contendo os 17 aminoácidos ( $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) foi preparada em ácido clorídrico 0,1 M e armazenada a  $-20 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ .

Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística utilizando a Análise de Variância (ANOVA) para verificar a existência de diferenças entre os tratamentos. Quando a ANOVA indicou diferença estatística ( $p < 0,05$ ), foi aplicado o teste *post hoc* de Tukey.

#### 4.3 RESULTADOS

Os tratamentos avaliados apresentaram variações na composição centesimal. A D2 teve o maior teor proteico, enquanto a D3 apresentou os maiores valores de lipídios, cinzas e carboidratos (Tabela 2).

**Tabela 2:** Porcentagem de cinzas, proteínas, lipídeos, umidade e carboidratos de dietas proteicas utilizadas como suplementação para *Apis mellifera*.

Amostra	Cinzas (%)	Proteínas (%)	Lipídeos (%)	Umidade (%)	Carboidratos (%)
Polen	2,9	21	5	-	54
D1	0,94c	23,59b	$0,62 \pm 0,01c$	38,71a	36,14b
D2	3,89b	30,01a	$0,87 \pm 0,03b$	38,41a	26,82c
D3	4,19a	20,91c	$9,62 \pm 0,00a$	18,50b	46,78a
F	38797	65206	$1,51 \times 10^6$	1321	4905
P - value	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

Os resultados da análise de fibra bruta não foram apresentados por serem nulos nos tratamentos. Letras diferentes na coluna indicam diferenças significativas entre os tratamentos pelo teste de Tukey ( $p\text{-valor} < 0,05$ ).

Comparada ao tratamento D1, o D3 teve 77,6% mais cinzas, 93,5% mais lipídios e 22,7% mais carboidratos, além de 52,21% menos umidade. Em relação ao tratamento D2, o D3 apresentou 7,1% mais cinzas, 91% mais lipídios e 51,2% mais carboidratos e menor teor proteico.

A avaliação de aminoácidos pelo método por LC-DAD, indicou a presença de 17 substâncias, que foram identificadas e quantificadas em cada tratamento (Tabela 3).

**Tabela 3.** Determinação e quantificação de 17 aminoácidos em dietas utilizadas como suplementação proteica em colmeias de *Apis mellifera*.

Aminoácidos	Tratamentos (média da área do pico)			F-valor	P-valor
	D1	D2	D3		
Ácido aspártico	36667a	25534b	21841b	114	<0,001
Ácido glutâmico	80337a	53832b	43929b	268	<0,001
Alanina	53985a	45867b	39234c	135	<0,001
Arginina	37431a	24212b	19499c	222	<0,001
Cisteína	28894a	21911a	22200a	3.06	0,15
Fenilalanina	346015a	284257a	301537a	2.2	0,18
Glicina	196448a	141418a	114051a	151	0,003
Glutamina/Histidina	14641a	<LODb	<LODb	1684	<0,001
Isoleucina	52581a	<LODb	<LODb	1221	<0,001
Leucina	15278c	37087a	28996b	579	<0,001
Lisina	33608a	24320a	19719a	13,6	0,005
Treonina	23680a	16390a	13835a	49,7	0,103
Serina	57291a	40337a	38012a	61,4	0,267
Tirosina	90252a	53783a	42702a	20,2	0,008
Valina / metionina	24572a	19379a	15296a	77,3	0,002

\*Letras diferentes na linha indicam diferenças significativas entre os tratamentos. Valores <LOD representam concentrações abaixo do limite de detecção. Os resultados são apresentados como a média da área do pico (338 nm) dividida pela massa (g) da amostra injetada, com n = 3.

A composição de aminoácidos apresentou diferenças entre as formulações das dietas proteicas. O teor de ácido aspártico do tratamento D1 foi 40,4% superior ao de D3 e 30,4% maior que o de D2. Para o ácido glutâmico, a D1 apresentou valores 45,4% e 40% mais altos em relação aos tratamentos D3 e D2, respectivamente. Para a alanina, a D1 teve um aumento de 27,3% em relação ao tratamento D3 e de 15% em relação ao D2, enquanto a arginina foi 47,9% e 35,3% superior nas mesmas comparações. O tratamento D1 apresentou concentrações detectáveis de glutamina, histidina e isoleucina ( $p < 0,001$ ). O tratamento D2 apresentou a maior concentração de leucina, com valores 58,8% superiores aos de D1 e 21,8% superiores aos de D3. Não foram observadas diferenças entre os tratamentos quanto aos demais aminoácidos.

#### 4.4 DISCUSSÃO

A oferta adequada de nutrientes, especialmente proteínas e aminoácidos essenciais, é determinante para a manutenção da atividade fisiológica, do desenvolvimento da cria e da resistência a patógenos, configurando-se como um aspecto estratégico para o manejo nutricional e a sustentabilidade das colônias, sobretudo em períodos de escassez de pólen (ALAUX et al, 2010).

O pólen apresenta, em média, 2,91% de cinzas, 21,30% de proteínas, 5,31% de lipídios e 54,22% de carboidratos, sendo considerado a principal fonte natural de nutrientes para *Apis mellifera* (THAKUR; NANDA, 2020). A análise centesimal das dietas avaliadas neste estudo revelou que os teores de cinzas em D2 (3,89%) e D3 (4,19%) situam-se dentro da faixa recomendada para o conteúdo mineral de pólen, que varia entre 1% e 7% (BRODSCHNEIDER; CRAILSHEIM, 2010). Os minerais são componentes essenciais para diversas funções fisiológicas nas abelhas, como o transporte de nutrientes, a regulação do equilíbrio osmótico (THAKUR; NANDA, 2020) e a modulação da resposta imune, impactando diretamente a resistência das colônias a patógenos (HAGENGIMANA et al., 2021). No entanto, a composição mineral deve ser cuidadosamente balanceada, uma vez que concentrações excessivas de certos elementos, como o ferro, frequentemente elevado em pólen provenientes de

cultivos altamente fertilizados, podem induzir processos de peroxidação lipídica e comprometer a longevidade das abelhas (JUMARIE et al., 2017).

Os tratamentos D1 apresentou teores de proteína bruta próximos ao intervalo recomendado para uma alimentação equilibrada, que varia entre 20% e 21% (BRODSCHNEIDER; CRAILSHEIM, 2010), enquanto o D2 excedeu esse intervalo em 29%. Dietas ricas em proteína favorecem a produtividade das colônias e o desenvolvimento larval (HERNÁNDEZ et al., 2024). Colônias alimentadas artificialmente com teores adequados na fração proteica, apresentaram uma carga reduzida do vírus da asa deformada (DWV) durante o inverno, níveis elevados de proteínas corporais, especialmente na cabeça e no tórax, e uma maior expressão do gene defensivo, resultando em uma melhoria na imunidade das colônias (FRUNZE et al., 2024).

A concentração de lipídios nas dietas das abelhas desempenha um papel fundamental em sua sobrevivência (BRODSCHNEIDER; CRAILSHEIM, 2010). O conteúdo lipídico do pólen varia entre 2% e 20% da massa seca (ROULSTON; CANE, 2000), enquanto o consumo diário de lipídios pelas abelhas é estimado entre 2% e 4% (BRODSCHNEIDER; CRAILSHEIM, 2010). O tratamento D3 apresentou 44,8% superior em relação aos níveis recomendados para garantir 90% de sobrevivência das abelhas. Em contrapartida, as menores concentrações lipídicas observadas em D1 e D2 podem estar associadas ao aumento de mortalidade nas colônias (ARIEN, 2015). Assim, níveis adequados de lipídios são cruciais para a longevidade das abelhas adultas e para a produção de geleia real (AMENT et al., 2016).

O tratamento D3 destacou-se por apresentar um perfil mais equilibrado de macronutrientes em comparação às demais formulações avaliadas. No entanto, na nutrição de *A. mellifera*, a quantidade total de proteína é menos determinante do que o perfil e a proporção de aminoácidos essenciais em relação às necessidades fisiológicas da espécie (DE GROOT, 1953). A adequação desses aminoácidos é crucial para a síntese proteica, o desenvolvimento da cria e, especialmente, para o fortalecimento do sistema imunológico, contribuindo para a maior resistência das abelhas a infecções e a estressores ambientais (BORGES et al., 2015). Os estudos pioneiros de De Groot (1953) identificaram que leucina, isoleucina e valina são requeridas em maiores concentrações, enquanto triptofano, metionina e histidina são necessários em menores

quantidades, sendo treonina, fenilalanina, arginina e lisina exigidas em níveis intermediários. Assim, dietas com composição balanceada desses aminoácidos tendem a promover melhor desempenho e sanidade nas colônias.

O ácido glutâmico é utilizado na síntese de cofatores como a glutatona e o ácido fólico, além de atuar como principal neurotransmissor excitatório no sistema nervoso central (ZHOU; DANBOLT, 2014). Além disso, estudos demonstram que a suplementação com ácido glutâmico pode contribuir para o aumento do peso corporal das abelhas (NOORDYKE; ELLIS, 2021).

A arginina apresentou valores mais elevados na D1 Este aminoácido é precursor na biossíntese de óxido nítrico (NO), composto crucial para a regulação da circulação hemolinfática e da imunidade das abelhas (NEGRI, 2019). Além disso, a suplementação de arginina tem demonstrado aumentar a taxa de sobrevivência das crias e estimular o desenvolvimento das glândulas hipofaríngeas, essenciais para a produção de geleia real (KRATZ et al., 2024) devido a geleia real possuir altos níveis de ácido glutâmico, arginina e  $\beta$ -alanina (RZETECKA et al., 2024).

A alanina participa do ciclo glicose-alanina, que regula o metabolismo da glicose e da alanina em órgãos (FELIG, 1973). Sua ingestão é essencial para a produção de anticorpos e outros componentes do sistema imunológico (ANJU et al., 2023). A suplementação de  $\beta$ -alanina é amplamente utilizada por indivíduos fisicamente ativos para melhorar a força e a resistência muscular.

A D1 foi a única a apresentar quantidades detectáveis de isoleucina e glutamina/histidina. Esses aminoácidos são fundamentais para o metabolismo e a regulação da síntese proteica, sendo essenciais para o desenvolvimento das crias (HOCHERL et al., 2012), especialmente na formação da hemoglobina, além de desempenharem um papel crucial na resposta imunológica (HTOO; WILTAFSKY, 2011). Os aminoácidos atuam como moléculas de sinalização que regulam vários processos biológicos (XIAO; GUO, 2022). Portanto, eles precisam ser fornecidos ao corpo de forma equilibrada. As abelhas enfermeiras regulam a nutrição larval de operárias em desenvolvimento (*A. mellifera*) quando se alimentam de vários tipos de pólen.

#### 4.5 CONCLUSÃO

A composição das dietas influenciou o perfil de aminoácidos disponibilizado às colônias. O tratamento D3 apresentou o melhor balanço entre macronutrientes, no entanto com baixa proporção de aminoácidos essenciais, o que pode limitar seu valor nutricional para *A. mellifera*. O tratamento D1 destacou-se pelas maiores concentrações de arginina, ácido aspártico, ácido glutâmico e alanina, além da presença de isoleucina e glutamina/histidina. Por sua vez, o tratamento D2 apresentou o maior teor de leucina e uma composição mineral mais equilibrada, sugerindo contribuição ao metabolismo proteico. Esses resultados indicam a necessidade de estudos adicionais para avaliar seus efeitos no desenvolvimento e na sanidade das colônias de *A. mellifera*.

## **CAPÍTULO 2: AVALIAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO COLONIAL E DE SANIDADE DE *Apis mellifera* L., SUPLEMENTADA COM DIETAS PROTEICAS**

### **RESUMO**

O manejo intensivo, tanto para a polinização quanto para a produção de produtos apícolas, pode induzir o estresse nas abelhas, comprometendo o desenvolvimento e sanidade das colônias. Diante desse cenário, a suplementação com dietas artificiais tem sido adotada pelos apicultores como estratégia para fortalecer as colônias e mitigar os efeitos adversos desses estressores. Nesse contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar o desenvolvimento colonial, o índice de infestação por *Varroa destructor* e *Vairimorpha* spp. em colônias de *A. mellifera* suplementadas com diferentes dietas proteicas, nos municípios de Caçador (CDR) e Florianópolis (FLN), Santa Catarina. Foram utilizadas 16 colônias por apiário, divididas em quatro tratamentos (D1, D2, D3 e Controle) com quatro repetições. O consumo médio das dietas foi avaliado por seis dias. Durante sete meses, as colônias foram monitoradas para determinar o seu desenvolvimento, considerando a população de abelhas adultas, áreas de cria e de alimento. Neste período também foram realizadas coletas para testes de sanidade das abelhas. Em laboratório, foi realizada a quantificação por *V. destructor* em abelhas adultas e crias, enquanto a quantificação e prevalência dos esporos de *Vairimorpha* spp. foi analisada em abdomens de abelhas. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). O consumo foi maior nos tratamentos D1, D2 e Controle. Aos 135 dias em FLN, D1 e D2 apresentaram maior estoque de pólen que o controle. A menor carga de *Vairimorpha* spp. foi observada aos 90 dias em D2 (FLN) e D1 (CDR), nas demais avaliações do experimento, não houve diferenças entre os tratamentos, indicando que, nas condições testadas, as dietas não afetaram o desenvolvimento e a sanidade das colônias.

**Palavras-chave:** Abelhas, nutrição, nosebose, polinização, varroose.

## ABSTRACT

Apple crops are highly dependent on bee pollination for fruit formation. However, intensive hive management during this period can cause stress in bees, compromising colony development and health. Given this scenario, supplementation with artificial diets has been adopted by beekeepers as a strategy to strengthen colonies and mitigate the adverse effects of these stressors. In this context, the objective of this study was to evaluate colonial development and the infestation rate by *V. destructor* and *Vairimorpha* spp. in *A. mellifera* colonies supplemented with different protein diets for seven months in the cities of Caçador (CDR) and Florianópolis (FLN), Santa Catarina. Sixteen colonies per apiaries were used, divided into four treatments (D1, D2, D3 and Control) with four replicates. The diet consumption was evaluated for six days, and the development of the colonies was monitored considering the percentage of population and the brood and food areas of each frame of the hive in the field. In the laboratory, the quantification of *V. destructor* was performed in adult and brood bees, while the quantification and prevalence of *Vairimorpha* spp. spores was analyzed in bee abdomens. The results were submitted to analysis of variance (ANOVA), and the means were compared by Tukey's test ( $p < 0.05$ ). The consumption was higher in treatments D1, D2 and Control. At 135 days in FLN, D1 and D2 presented a higher pollen stock than the control. The lowest load of *Vairimorpha* spp. was observed at 90 days in D2 (FLN) and D1 (CDR). In the other collections, there was no variation between treatments. Thus, under the conditions evaluated, the diets did not influence the development and sanitary condition of the colonies.

**Keywords:** Bees, nutrition, nosema, pollination, varroa.

## 5.1 INTRODUÇÃO

As abelhas são responsáveis pela polinização de cerca de 70% das espécies vegetais (THAKUR, 2020), sendo essenciais para a produtividade de diversos cultivos. No caso da maçã, a ausência de polinizadores pode reduzir a frutificação em até 100% (DELAPLANE; MAYER, 2000). No Brasil, estima-se que aproximadamente 100 mil colmeias de *A. mellifera* sejam utilizadas na polinização dirigida de macieiras, especialmente em Santa Catarina (FREITAS; NUNES-SILVA, 2012).

A eficiência da polinização está diretamente relacionada às condições sanitárias e nutricionais das colônias, sendo a suplementação alimentar uma prática recorrente para suprir deficiências nutricionais em períodos de escassez floral (NETO et al., 2015; PAOLI et al., 2014). Além de favorecer a preparação das colônias ao final do inverno para a polinização em pomares (SALOMÉ, 2014; BIZZOTO et al., 2019), uma dieta equilibrada contribui para o fortalecimento imunológico, melhora do metabolismo e maior resistência a patógenos (DEQUENNE et al., 2022).

Estudos em epigenética e nutrigenômica evidenciam que a qualidade e diversidade nutricional, aliadas à microbiota, influenciam diretamente a resiliência das colônias frente a estresses ambientais e agentes infecciosos (DEQUENNE et al., 2022). Entre os principais desafios sanitários destacam-se o ácaro *Varroa destructor* e o microsporídio *Vairimorpha* spp., ambos com impacto negativo na longevidade e produtividade das colônias (SEITZ et al., 2016; HIGES et al., 2010; RAMSEY, 2019; MOOKHPLOY et al., 2021).

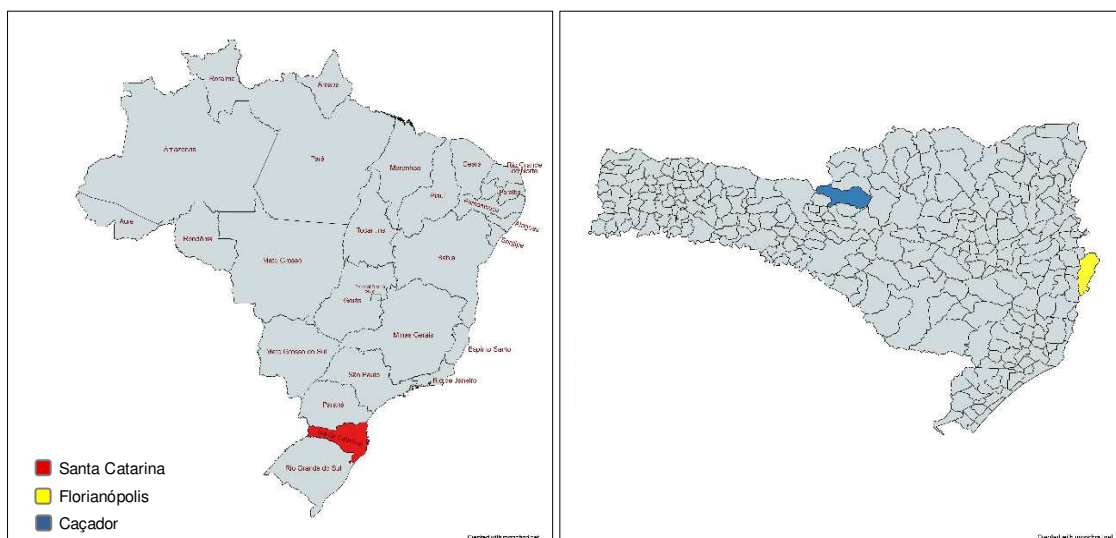
Embora a suplementação proteica seja amplamente adotada por apicultores, ainda há lacunas quanto às reais exigências nutricionais das abelhas (CAMILLI, 2019). A análise centesimal e de aminoácidos tem sido uma ferramenta útil para identificar deficiências em dietas artificiais, visando a formulações mais eficazes. Assim, a alimentação suplementar apresenta-se como estratégia promissora para manutenção da sanidade e do desempenho das colônias, especialmente em sistemas de polinização agrícola (PARAY et al., 2021).

Diante disso, este capítulo tem como objetivo avaliar o desenvolvimento colonial e a sanidade de colônias de *A. mellifera* submetidas à suplementação com diferentes dietas proteicas, em dois apiários localizados nos municípios de Florianópolis e Caçador, Santa Catarina.

## 5.2 MATERIAL E MÉTODOS

### 5.2.1 Caracterização dos apiários

O bioensaio foi realizado em apiários experimentais, situados nos municípios de Caçador (CDR) e Florianópolis (FLN), de Santa Catarina (Figura 1).



**Figura 1:** Localização geográfica dos municípios de Florianópolis e Caçador (Santa Catarina/Brasil) onde foram realizados os experimentos. Criado pelo site mapchart. Fonte: o autor.

Em Caçador (CDR), o apiário está inserido na Estação Experimental de Caçador “José Oscar Kurtz”, pertencente à Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI), na região do Alto Vale do Rio do Peixe. A vegetação característica é Floresta Ombrófila Mista (FOM) e o apiário experimental localizado nas seguintes coordenadas geográficas: 26° 49' 39" S; 50° 58' 56" O, a uma altitude de 928 metros acima do nível do mar. O clima da região é classificado como temperado subtropical úmido.

Em Florianópolis (FLN), o apiário está localizado no Parque Ecológico Cidade das Abelhas, pertencente à Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) (27° 35' 48" S; 48° 32' 57" O), a uma altitude de 10 metros acima do nível do mar. A região apresenta clima subtropical úmido e está inserida no bioma de Floresta Ombrófila Densa. A área experimental está situada dentro de uma unidade de conservação ambiental com 4,92 km<sup>2</sup>, onde não são realizadas atividades agrícolas em um raio de 10 km.

### **5.2.2 Obtenção das colônias de *A. mellifera***

O bioensaio foi conduzido em colmeias núcleo contendo quatro favos, com abelhas africanizadas (*A. mellifera*), adquiridas de um fornecedor especializado, com população de abelhas cobrindo em média três favos em ambos lados e rainhas irmãs. As colônias foram distribuídas em quatro tratamentos formados pelas dietas proteicas fornecidas, denominados D1, D2, D3 e Controle. O bioensaio seguiu um delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições por tratamento, totalizando de 16 colônias por apiário.

Os experimentos foram conduzidos ao longo do período de safra, com duração de sete meses em cada apiário: de agosto de 2023 a fevereiro de 2024 no CDR e de janeiro a julho de 2024 em FLN. As avaliações realizadas foram de sanidade apícola, desenvolvimento colonial e consumo das dietas.

As temperaturas médias registradas nos meses de coleta foram obtidas por meio da Epagri/Ciram. Em CDR, a amplitude térmica média durante o experimento foi de 10 °C, com temperaturas variando entre 1,80 °C e 34,95 °C. Nos dias 0 e 45, registraram-se baixos índices pluviométricos (4,46 mm) e temperaturas reduzidas (média de 9,66 °C). Nos dias 90 e 135, observou-se um aumento de 59,8% na precipitação e um acréscimo de 17% na temperatura média. Em FLN, a amplitude térmica foi menor (7 °C), com temperaturas mais elevadas no início do experimento (média de 25,34 °C), seguidas por redução gradual até o dia 180 (20,26 °C). A pluviosidade média foi de 6,75 mm/h, com aumento de 34,01% no dia 90.

### **5.2.3 Preparo das dietas para bioensaio**

A composição das dietas proteicas foi estabelecida a partir de formulações utilizadas pelos apicultores (Tabela 4).

**Tabela 4:** Formulação de dietas artificiais fornecidas para abelhas *Apis mellifera* nos municípios de Caçador (CDR) e Florianópolis (FLN), Santa Catarina, Brasil

Tratamento	Formulação de dietas
D1	Açúcar cristal orgânico (1000g) + Proteína de soja orgânica (500g) + Suco de limão (100ml) + Extrato de baunilha (10ml) + Extrato de própolis (10ml)
D2	Açúcar cristal orgânico (525g) + Proteína de soja orgânica (375g) + Levedura de cerveja (300g) + Extrato de própolis (2,5ml)
D3	Açúcar cristal orgânico (818g) + Proteína de soja orgânica (350g) + Levedura de cerveja (350g) + Óleo de palma (80ml) + Óleo de linhaça (80ml) + Lecitina de soja (20g) + Núcleo de vitaminas (2g)
Controle	Açúcar cristal orgânico (5000g) + Água (1700ml).

O fornecimento das dietas correspondentes para cada tratamento foi realizado em quatro momentos, com intervalos regulares de 45 dias entre cada um. Neste sentido, o primeiro fornecimento foi denominado “dia 0”, seguido de “45, 90 e 135”. Os ingredientes das dietas D1, D2 e D3 foram pesados, homogeneizados e separados em porções de 100 g, envolvidas em filme plástico de PVC (policloreto de vinila) e armazenadas sob refrigeração (5°C) até a utilização. No momento do fornecimento às abelhas, as porções de cada dieta foram retiradas do invólucro plástico e depositadas diretamente sobre os caixilhos das colmeias (Figura 2). A dieta Controle foi fornecida em uma garrafa PET de 500mL, na forma líquida, com um volume de 300mL por colmeia. Durante o bioensaio, os alvados das colmeias permaneceram abertos, permitindo o livre acesso das abelhas aos recursos tróficos disponíveis em cada ambiente.



**Figura 2:** Disposição de 100g de dieta a colônias núcleo de *Apis mellifera*, no biensaio de Caçador, Santa Catarina. Foto: Márcia Regina Faíta.

#### **5.2.4 Avaliação de consumo das dietas**

O consumo das dietas (D1, D2, D3 e Controle) foi determinado durante seis dias, com avaliações a cada 24 h (0h, 24h, 48h, 72h, 96h e 120h). As dietas foram fornecidas para 16 colônias, sendo três repetições para cada tratamento. Os ingredientes da D1, D2 e D3 foram pesados, homogêneos e moldados em porções de 100g, armazenadas em plástico PVC até o momento da administração sobre os favos. A dieta energética Controle foi preparada em solução líquida e fornecida em um volume de 300 g em garrafas PET de 500 mL.

O consumo foi quantificado por meio da pesagem do alimento oferecido e do resíduo remanescente em cada intervalo de 24h, utilizando balanças de

precisão. Os dados obtidos foram organizados em tabelas, possibilitando uma análise de consumo diário.

O peso final (g) foi determinado com base na diferença entre o peso da dieta oferecida e o peso remanescente da última avaliação, sendo calculado pela fórmula:

$$\text{Peso final diário (\%)} = \text{peso} - \text{peso da avaliação anterior}$$

### **5.2.5 Avaliações de sanidade apícola e desenvolvimento colonial**

Foram realizadas cinco avaliações ao longo do experimento em 16 colmeias por município, totalizando 80 observações por apiário. As avaliações foram conduzidas antes de cada fornecimento da dieta, com exceção da última, que foi realizada sem suplementação.

No município CDR, a primeira coleta de dados (dia 0) ocorreu em 2 de agosto de 2023; a segunda, 45 dias após o início da suplementação (19 de setembro de 2023); a terceira, após 90 dias (10 de novembro de 2023); a quarta, após 135 dias (13 de dezembro de 2023); e a quinta, 180 dias após o início (23 de fevereiro de 2024). Em FLN, a primeira coleta foi realizada em 22 de janeiro de 2024; a segunda, 45 dias após o início da suplementação (6 de março de 2024); a terceira, após 90 dias (21 de abril de 2024); a quarta, após 135 dias (7 de junho de 2024); e a quinta, 180 dias após o início (26 de julho de 2024).

Paralelamente ao desenvolvimento das colônias, foram realizados monitoramentos dos níveis de infestação por *Varroa destructor* em crias e abelhas adultas, quantificação de esporos e avaliação da prevalência de *Vairimorpha* spp., além do acompanhamento do desenvolvimento geral das colônias.

#### **5.2.5.1 *Varroa destructor***

A quantificação do ácaro *V. destructor* foi realizada seguindo as diretrizes da Organização Mundial de Saúde Animal (OIE, 2008).

A avaliação da infestação do ácaro em abelhas adultas foi realizada por meio de coleta de 100 indivíduos próximos aos quadros centrais da colmeia,

utilizando uma vassoura apícola. As abelhas foram acondicionadas em frascos identificados com o número da colmeia, contendo álcool 70%, e transportadas ao laboratório. As amostras permaneceram em contato com o álcool por 24 h para facilitar o desprendimento dos ácaros do corpo do hospedeiro. Após esse período, os frascos foram agitados manualmente durante 10 segundos, e o conteúdo foi transferido para bandejas de polipropileno, permitindo a identificação visual e contagem dos ácaros.

A avaliação da infestação em pupas foi realizada a partir de fragmentos de favos contendo 100 pupas na fase de "olho rosa", sendo 50 pupas de cada lado do favo. Os favos foram acondicionados em sacos de papel identificados com o número da colmeia e transportados ao laboratório. No mesmo dia das coletas, os favos foram dispostos em bandejas de polietileno e as pupas foram removidas com o auxílio de pinças anatômicas estéreis para a contagem dos parasitos jovens e adultos.

A taxa de infestação de *V. destructor* em abelhas adultas e pupas foi determinada utilizando a seguinte fórmula:

$$\text{Taxa de Infestação} = \frac{\text{total de ácaros}}{\text{total de abelhas}} \times 100$$

#### 5.2.5.2 *Vairimorpha* spp.

Foram realizadas duas avaliações de *Vairimorpha* spp. em abelhas adultas, com o intuito de determinar a prevalência, para quantificar a proporção de abelhas infectadas, e a infestação, por meio da contagem de esporos presentes nas abelhas. Estes parâmetros foram empregados para fornecer uma análise mais robusta e precisa sobre o estado clínico de nosemose nas colônias. Os alvados foram bloqueados com espuma de poliuretano e coletadas 50 abelhas forrageiras, utilizando-se uma vassoura apícola. As abelhas foram acondicionadas em recipientes identificados contendo álcool 70% e transportadas ao laboratório para posterior análise.

A quantificação de *Vairimorpha* spp. foi realizada conforme o método descrito por Doull e Eckert (1962), com adaptações. As abelhas preservadas em

álcool foram dispostas em bandejas de polipropileno. Com o auxílio de pinças anatômicas e lâmina estéreis, os abdomens de 30 abelhas foram seccionados e colocados em um cadinho com 10 mL de água destilada. O material foi macerado até a formação de uma massa homogênea. Em seguida, adicionou-se 20 mL de água destilada e o macerado foi filtrado por meio de uma peneira. A solução filtrada foi submetida a um agitador magnético por 1 min. Utilizando uma pipeta de Pasteur, a solução foi pipetada até o preenchimento da câmara de Neubauer. A adaptação metodológica consistiu no processamento de abdomens de um número reduzido de abelhas, devido à utilização de colmeias modelo núcleo, compostas por quatro quadros, em contraste com as colmeias padrão Langstroth, empregadas nos estudos de referência, que possuem 10 quadros. Além disso, adotou-se um intervalo de 5 minutos após o preparo da lâmina antes da contagem dos esporos, a fim de evitar subestimação decorrente da flutuação inicial. A quantificação foi realizada em microscópio óptico com aumento de 400x.

A avaliação da prevalência de *Vairimorpha* spp. foi realizada por meio da remoção manual dos intestinos de 10 abelhas, utilizando duas pinças anatômicas estéreis. Os intestinos foram dispostos em lâminas de vidro e macerados com auxílio das pinças em 500 µL de água destilada. A presença ou ausência de esporos foi determinada por microscopia óptica com aumento de 400x.

#### 5.2.5.3 *Desenvolvimento colonial*

As avaliações do desenvolvimento da colônia foram realizadas de acordo com o método subjetivo descrito por Delaplane et al. (2013) que quantifica o número de quadros contendo cria aberta (CA) e cria fechada (CF), a estimativa da população de abelhas, bem como os recursos alimentares estocados (mel e pólen).

A estimativa da população foi determinada visualmente por avaliadores treinados. Considerando a presença de abelhas sobre os quadros no momento da remoção da tampa da colmeia, assim como a quantidade de abelhas em cada lado dos caixilhos dentro da colmeia, observadas de cima.

A quantificação de cria aberta (CA), cria fechada (CF) e alimento estocado (pólen e mel) em cada lado do favo (lado a e lado b), foi realizada retirando os favos da caixa e avaliando individualmente cada quadro contra a luz solar, considerando o favo completamente construído como 100%. Com base nessa referência, foi realizada uma estimativa visual das proporções de CA, CF, pólen e mel. Os dados foram registrados em planilhas eletrônicas e os resultados foram calculados com base na média dos valores obtidos para os quatro favos avaliados em cada colmeia.

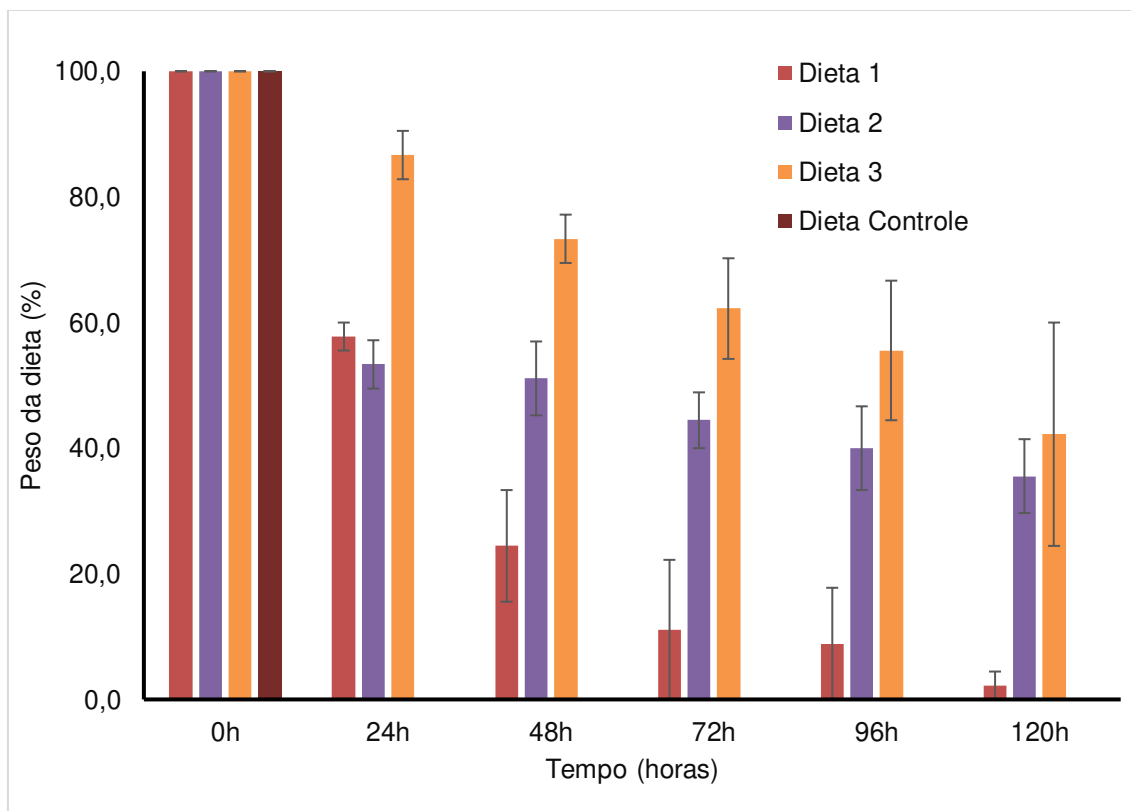
### 5.2.6 Análise estatística

Os dados de cria aberta, cria fechada, mel, pólen e população de abelhas obtidos em colmeias localizadas em Florianópolis e Caçador foram submetidos ao teste de Anderson-Darling para verificar se atendem a suposição da normalidade. Os dados que não atenderam a normalidade foram submetidos a transformação Box-Cox para estabilizar a variância e torná-los mais semelhantes a uma distribuição normal (AZEVEDO et al., 2016). Posteriormente foi realizada a análise de variância (ANOVA) por meio de Modelos Lineares Generalizados e as médias ranqueadas pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ ).

Os dados sobre a quantificação de *V. destructor* e infestação de *Vairimorpha* spp. foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk para avaliação da normalidade e teste de Bartlett para homoscedasticidade de variâncias. Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey para ranqueamento das médias.

## 5.3 RESULTADOS

A análise indicou diferença entre os tratamentos quanto ao consumo das dietas ao longo do tempo ( $F = 7,20$ ;  $p < 0,001$ ). Observou-se que o tratamento D3 apresentou consumo inferior ao tratamento Controle, enquanto os tratamentos D1 e D2 não diferiram do Controle (Figura. 3).



**Figura 3:** Peso médio de dietas em porcentagem e erro padrão da média dos tratamentos Dieta 1, Dieta 2, Dieta 3 e Dieta Controle a cada 24h (0h, 24h, 48h, 72h, 96h, 120h), no município de Florianópolis, Santa Catarina.

A dieta do tratamento Controle foi completamente transferida pelas abelhas nas primeiras 24 horas de exposição. Entre os tratamentos experimentais, o consumo acumulado ao longo de 120 horas variou. A D1 apresentou a maior aceitação pelas abelhas, com consumo de 88,87%. Em seguida, a dieta 2 (D2) foi consumida em 57,80%, enquanto a dieta 3 (D3) apresentou o menor consumo entre os tratamentos com 54,47%.

### 5.3.1 *Varroa destructor*

A infestação por *V. destructor* em abelhas adultas variou ao longo do experimento nas localidades de Florianópolis (FLN) e Caçador (CDR), sem variações estatísticas entre os tratamentos (Tabela 5).

**Tabela 5:** Porcentagem de infestação por *Varroa destructor* em pupas de abelhas *Apis mellifera*, frente a dietas suplementares proteicas (D1, D2, D3 e Controle), nos municípios de Florianópolis e Caçador, Santa Catarina.

Florianópolis						
Dias	Tratamentos - Porcentagem média				F-valor (GL)	P-valor
	Controle	D1	D2	D3		
0	2,5 ± 0,70	9,8 ± 4,83	4,2 ± 1,59	2,1 ± 1,22	1,85 (15)	0,192
45	1,2 ± 0,63	3,0 ± 2,18	0,9 ± 0,34	0,0 ± 0,00	0,02 (10)	0,981
90	0,7 ± 0,48	0,7 ± 0,33	4,0 ± 2,45	2,2 ± 1,93	0,08 (14)	0,968
135	3,1 ± 1,12	2,0 ± 1,53	3,9 ± 1,61	4,9 ± 0,94	0,59 (12)	0,638
180	5,8 ± 1,41	3,3 ± 1,20	9,3 ± 6,27	6,0 ± 3,00	0,33 (12)	0,803
Caçador						
0	2,5 ± 1,04	2,2 ± 1,03	28,0 ± 7,50	1,2 ± 0,63	0,1 (14)	0,997
45	4,5 ± 2,06	4,5 ± 3,23	2,3 ± 1,20	4,3 ± 0,33	0,3 (13)	0,818
90	4,4 ± 1,25	2,2 ± 0,85	3,3 ± 1,66	11,0 ± 7,34	1,5 (14)	0,277
135	4,5 ± 1,78	2,3 ± 0,85	2,9 ± 0,74	4,1 ± 3,16	0,3 (14)	0,806
180	3, ± 1,03	1,7 ± 0,51	4,9 ± 1,88	3,7 ± 1,20	1,4 (11)	0,320

Em relação à infestação por *V. destructor* em pupas, não foram observadas diferenças em FLN e CDR. Em FLN, o parasitismo aumentou gradualmente, exceto no tratamento D1, que apresentou redução de 66,01% entre 0 e 180 dias. Em CDR, a redução no D1 foi de 25,3% no mesmo período de avaliação.

Na avaliação da quantificação do ácaro em abelhas adultas, não foram encontradas variações entre os tratamentos. No entanto, houve uma redução na quantidade de ácaros em ambos os municípios (Tabela 6).

**Tabela 6:** Porcentagem de infestação por *Varroa destructor* em abelhas adultas *Apis mellifera*, que receberam dietas suplementares proteicas (D1, D2, D3 e Controle), nos municípios de Florianópolis e Caçador, Santa Catarina.

Florianópolis						
Dias	Tratamentos - Porcentagem média				F-valor (GL)	P-valor
	Controle	D1	D2	D3		

0	3,8 ± 0,09	6,3 ± 2,86	4,9 ± 2,30	2,1 ± 1,56	0,19 (15)	0,903
45	1,6 ± 0,39	3,1 ± 1,05	2,7 ± 0,24	2,0 ± 0,24	1,35 (14)	0,31
90	1,3 ± 0,94	0,0 ± 0,00	1,9 ± 0,94	2,0 ± 0,71	0,22 (11)	0,80
135	4,1 ± 1,7	3,1 ± 1,34	3,6 ± 1,76	3,5 ± 1,35	0,06 (13)	0,98
180	2,7 ± 0,62	2,2 ± 0,64	3,9 ± 2,52	3,1 ± 1,17	0,21 (13)	0,89
<b>Caçador</b>						
0	4,2 ± 1,50	3,2 ± 0,27	3, ± 1,02	5,0 ± 2,14	0,07 (14)	0,972
45	6,5 ± 2,63	3,2 ± 1,31	4,3 ± 3,33	3,3 ± 1,20	0,54 (13)	0,663
90	5,1 ± 1,57	3,2 ± 1,19	3,2 ± 0,63	2,2 ± 0,69	0,61 (14)	0,624
135	2,0 ± 0,72	2,1 ± 1,10	3,2 ± 0,91	2,7 ± 0,94	0,49 (14)	0,694
180	2,9 ± 0,64	4,1 ± 1,95	1,9 ± 0,75	2,4 ± 1,98	0,56 (12)	0,657

Durante o bioensaio, foi observado uma redução de 64,67% na taxa de infestação de varroa em abelhas do tratamento D1 em FLN, alcançando 0% de presença do ácaro após 90 dias de exposição à dieta. As colônias dos demais tratamentos apresentaram uma diminuição de infestação  $\leq 29\%$ . Em CDR, a infestação aumentou 28,62% nas colônias com o tratamento D1 e diminuiu 51,78% com o tratamento D3 durante os 180 dias de exposição às dietas.

### 5.3.2 *Vairimorpha* spp.

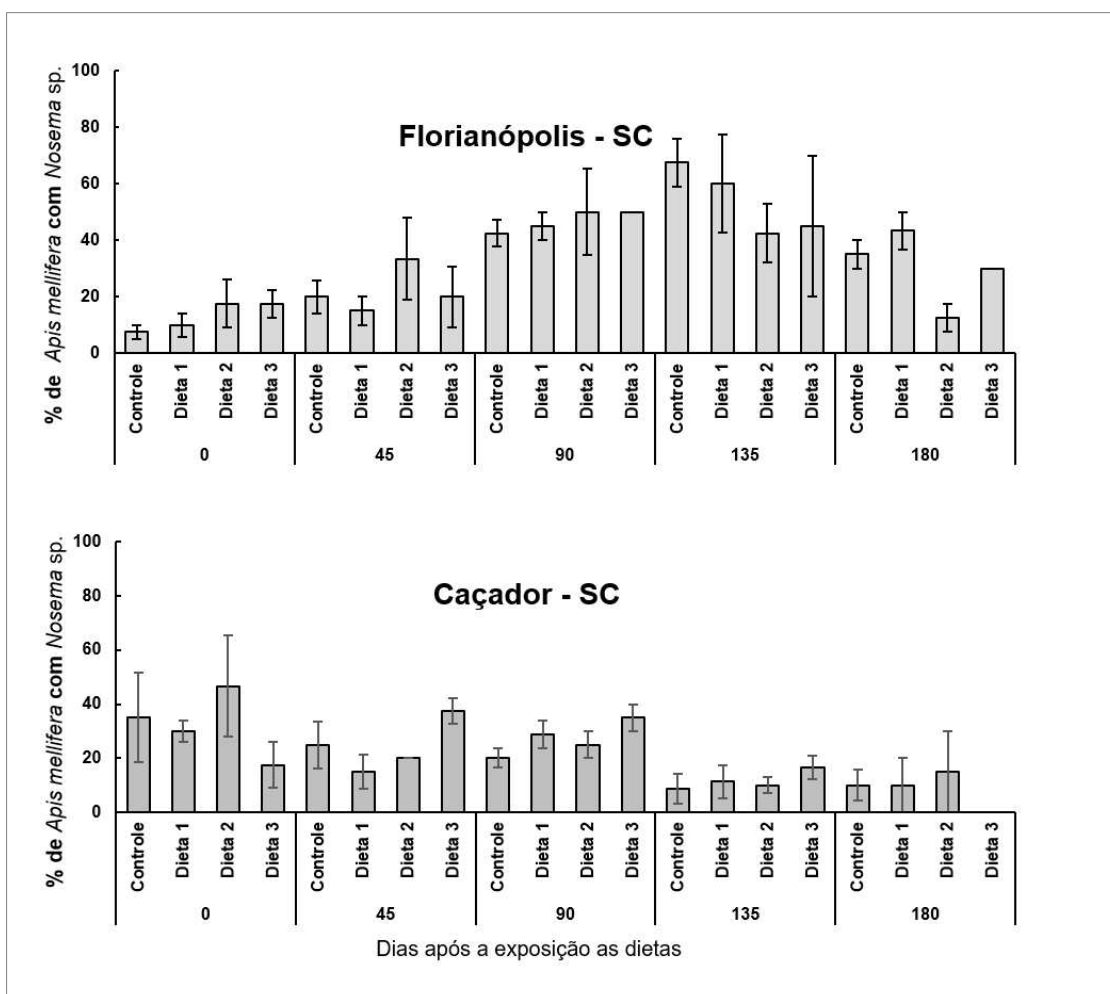
O nível de infestação de *Vairimorpha* spp. apresentou diferenças apenas aos 90 dias de exposição às dietas, em ambos os apiários. Em FLN, as abelhas submetidas ao tratamento D2 apresentaram redução de 98% e 97,9% nos esporos de *Nosema* em comparação com as abelhas dos tratamentos D1 e D3, respectivamente. Em CDR, o tratamento D1 se diferenciou em 74% em relação ao tratamento D3, porém sem diferença ao controle ( $p = 0,016$ ). Nos demais períodos avaliados, não foram encontradas variações entre os tratamentos (Tabela 7).

**Tabela 7:** Número médio ( $\pm$  erro padrão da média) de esporos de *Vairimorpha* spp. em colônias submetidas a dietas proteicas em diferentes tempos (0h, 24h, 48h, 72h, 96h, 120h), em Caçador e Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.

Florianópolis						
Tratament o	Tempo (dias)					
	0	45	90	135	180	
Controle	$2705 \times 10^3 (\pm 615 \times 10^3)$	$1242 \times 10^3 (\pm 218 \times 10^3)$	$2715 \times 10^3 (\pm 924 \times 10^3)$ bc	$20612 \times 10^3 (\pm 4148 \times 10^3)$	$4380 \times 10^3 (\pm 1692 \times 10^3)$	
Dieta 1	$732 \times 10^3 (\pm 207 \times 10^3)$	$2232 \times 10^3 (\pm 999 \times 10^3)$	$9050 \times 10^3 (\pm 775 \times 10^3)$ a	$13150 \times 10^3 (\pm 1214 \times 10^3)$	$4410 \times 10^3 (\pm 1084 \times 10^3)$	
Dieta 2	$2250 \times 10^3 (\pm 1142 \times 10^3)$	$2342 \times 10^3 (\pm 781 \times 10^3)$	$145 \times 10^3 (\pm 313 \times 10^3)$ c	$19812 \times 10^3 (\pm 5595 \times 10^3)$	$4415 \times 10^3 (\pm 787 \times 10^3)$	
Dieta 3	$2140 \times 10^3 (\pm 1613 \times 10^3)$	$3805 \times 10^3 (\pm 1759 \times 10^3)$	$6900 \times 10^3 (\pm 185 \times 10^3)$ ab	$16217 \times 10^3 (\pm 6085 \times 10^3)$	$7750 \times 10^3 (\pm 141 \times 10^3)$	
F	0,95	0,76	9,05	0,60	1,11	
GL	15	15	13	13	12	
P-valor	0,447	0,539	0,003	0,630	0,395	
Caçador						
Controle	$4917 \times 10^3 (\pm 2649 \times 10^3)$ a	$3125 \times 10^3 (\pm 1395 \times 10^3)$	$2817 \times 10^3 (\pm 897 \times 10^3)$ ab	$1057 \times 10^3 (\pm 278 \times 10^3)$	$1163 \times 10^3 (\pm 407 \times 10^3)$	
Dieta 1	$1047 \times 10^3 (\pm 380 \times 10^3)$ ab	$1047 \times 10^3 (\pm 380 \times 10^3)$	$1317 \times 10^3 (\pm 641 \times 10^3)$ b	$530 \times 10^3 (\pm 181 \times 10^3)$	$245 \times 10^3 (\pm 45 \times 10^3)$	
Dieta 2	$7660 \times 10^3 (\pm 4479 \times 10^3)$ a	$7660 \times 10^3 (\pm 4479 \times 10^3)$	$2262 \times 10^3 (\pm 217 \times 10^3)$ ab	$437 \times 10^3 (\pm 128 \times 10^3)$	$1760 \times 10^3 (\pm 1595 \times 10^3)$	
Dieta 3	$85 \times 10^3 (\pm 37 \times 10^3)$ b	$85 \times 10^3 (\pm 37 \times 10^3)$	$5067 \times 10^3 (\pm 600 \times 10^3)$ a	$663 \times 10^3 (\pm 373 \times 10^3)$	$1645 \times 10^3 (\pm 25 \times 10^3)$	
F	7,80	0,28	5,35	1,25	0,96	
GL	14	15	14	14	9	
P-valor	0,005	0,837	0,016	0,340	0,469	

Letras diferentes na coluna indicam diferenças entre os tratamentos.

A prevalência de *Vairimorpha* spp. das colônias não apresentou diferenças entre os tratamentos. Em relação à prevalência de *Vairimorpha* spp. nas colônias, não foram observadas diferenças entre os tratamentos em ambos os apiários. No entanto, em FLN, houve um aumento progressivo nos níveis de esporos ao longo do experimento, atingindo 67,5% no grupo controle após 135 dias de exposição em relação ao dia 0 (Figura 4).



**Figura 4:** Percentual ( $\pm$  Erro Padrão da Média) de adultos de *A. mellifera*, coletados em apiários localizados em Florianópolis e Caçador/SC, contendo ou não esporos *Vairimorpha* spp. após a exposição a quatro diferentes dietas alimentares.

No tratamento D2, a prevalência de abelhas com esporos reduziu em 28,57% ao longo do período experimental, enquanto nos demais tratamentos houve aumento de, no mínimo, 40%. Em CDR, as colônias de todos os tratamentos resultaram na redução da prevalência de nosema nas abelhas adultas, com uma diminuição de 71,43% na carga de esporos no grupo controle.

### 5.3.3 Desenvolvimento colonial

A avaliação do desenvolvimento das colônias não revelou variações ao longo dos 180 dias de experimento, independentemente do apiário. No entanto, no apiário de FLN, após 135 dias de exposição às dietas, observaram-se diferenças no volume de pólen armazenado, com os tratamentos D1 e D2 apresentando incrementos de 68% e 73%, respectivamente, em comparação ao grupo controle (Tabela 8).

**Tabela 8:** Número de opérculos abertos e fechados, número de quadros com abelhas, mel operculado e pólen ( $\pm$  Erro Padrão da Média) de colmeias de *Apis mellifera* expostas por 180 dias a diferentes dietas proteicas em Florianópolis.

CRIA ABERTA					
Tratamento	Dia zero	Dia 45	Dia 90	Dia 135	Dia 180
Controle	14,1 ( $\pm$ 3,72)	12, ( $\pm$ 3,34)	8,0 ( $\pm$ 1,72)	9,5 ( $\pm$ 2,30)	8,7 ( $\pm$ 2,84)
Dieta 1	10,5 ( $\pm$ 3,32)	19,00 ( $\pm$ 5,78)	11,2 ( $\pm$ 2,81)	12,3 ( $\pm$ 5,55)	12,5 ( $\pm$ 1,65)
Dieta 2	10,5 ( $\pm$ 3,32)	10,9 ( $\pm$ 2,40)	11,2 ( $\pm$ 3,07)	14,2 ( $\pm$ 2,80)	14,5 ( $\pm$ 2,52)
Dieta 3	7,3 ( $\pm$ 1,03)	9,7 ( $\pm$ 3,78)	7,5 ( $\pm$ 1,49)	11,0 ( $\pm$ 5,87)	7,5 ( $\pm$ 3,84)
F	1,21	1,15	0,46	0,39	1,3
P-valor	0,349	0,371	0,713	0,762	0,328
CRIA FECHADA					
Controle	15,7 ( $\pm$ 7,86)	20,3 ( $\pm$ 6,20)	14,7 ( $\pm$ 2,66)	6,6 ( $\pm$ 1,98)	17,5 ( $\pm$ 5,03)
Dieta 1	10,6 ( $\pm$ 4,57)	27,9 ( $\pm$ 11,43)	23,6 ( $\pm$ 4,63)	12,5 ( $\pm$ 0,40)	22,4 ( $\pm$ 1,84)
Dieta 2	8,3 ( $\pm$ 1,26)	14,4 (3,16)	18,7 ( $\pm$ 6,32)	10,0 ( $\pm$ 2,65)	16,6 ( $\pm$ 4,92)
Dieta 3	6,9 ( $\pm$ 0,68)	11,8 ( $\pm$ 4,03)	14,1 ( $\pm$ 7,06)	7,2 ( $\pm$ 2,28)	9,5 ( $\pm$ 5,22)
F	0,05	0,99	0,75	1,56	1,34
P-valor	0,986	0,435	0,546	0,259	0,315
POPULAÇÃO					
Controle	3,0 ( $\pm$ 0,35)	2,7 ( $\pm$ 0,43)	3,2 ( $\pm$ 0,25)	3,4 ( $\pm$ 0,38)	3,2 ( $\pm$ 0,43)
Dieta 1	2,7 ( $\pm$ 0,32)	3,5 ( $\pm$ 0,58)	3,6 ( $\pm$ 0,33)	3,7 ( $\pm$ 0,17)	4,0 ( $\pm$ 0,58)
Dieta 2	2,2 ( $\pm$ 0,32)	1,9 ( $\pm$ 0,24)	3,0 ( $\pm$ 0,35)	2,9 ( $\pm$ 0,13)	2,9 ( $\pm$ 0,13)
Dieta 3	2,6 ( $\pm$ 0,13)	2,6 ( $\pm$ 0,60)	2,9 ( $\pm$ 0,43)	2,7 ( $\pm$ 0,44)	2,5 ( $\pm$ 0,76)
F	1,18	2,3	0,93	2,18	1,63
P-valor	0,358	0,134	0,457	0,166	0,245
MEL					
Tratamento	Dia zero	Dia 45	Dia 90	Dia 135	Dia 180
Controle	7,3 ( $\pm$ 3,62)	7,8 ( $\pm$ 4,06)	33,1 ( $\pm$ 10,41)	39,8 ( $\pm$ 3,35)	33,9 ( $\pm$ 6,63)
Dieta 1	7,2 ( $\pm$ 1,64)	2,9 ( $\pm$ 0,75)	15,7 ( $\pm$ 4,52)	31,3 ( $\pm$ 10,18)	32,5 ( $\pm$ 7,80)
Dieta 2	7,7 ( $\pm$ 3,51)	2,5 ( $\pm$ 0,77)	18,7 ( $\pm$ 5,76)	35,0 ( $\pm$ 6,71)	14,2 ( $\pm$ 6,39)
Dieta 3	5,9 ( $\pm$ 4,17)	4,3 ( $\pm$ 2,23)	15,3 ( $\pm$ 5,37)	16,9 ( $\pm$ 6,56)	20,6 ( $\pm$ 10,02)
F	0,28	0,43	1,17	2,52	2,04
P-valor	0,839	0,734	0,367	0,117	0,172
PÓLEN					
Controle	4,1 ( $\pm$ 1,36)	6,4 ( $\pm$ 1,62)	8,0 ( $\pm$ 2,99)	1,6 ( $\pm$ 0,18)c	12,0 ( $\pm$ 3,52)
Dieta 1	5,0 ( $\pm$ 1,89)	5,3 ( $\pm$ 2,14)	6,8 ( $\pm$ 2,84)	4,9 ( $\pm$ 0,69)ab	7,7 ( $\pm$ 0,80)
Dieta 2	6,6 ( $\pm$ 1,07)	1,9 ( $\pm$ 0,44)	7,1 ( $\pm$ 3,80)	5,8 ( $\pm$ 0,64)a	7,8 ( $\pm$ 3,11)
Dieta 3	4,7 ( $\pm$ 0,90)	3,0 ( $\pm$ 0,64)	7,7 ( $\pm$ 4,06)	2,6 ( $\pm$ 0,79)bc	8,0 ( $\pm$ 6,48)
F	0,67	2,72	0,09	13,18	0,81
P-valor	0,585	0,095	0,964	0,001	0,515

O tratamento controle apresentou um aumento de 15,98% na área de CA ao longo do experimento. Houve um incremento de 52,58% e 50% na área de CF nos tratamentos D1 e D3, respectivamente. Em relação à população das colônias, registrou-se um aumento de 45,45% no tratamento D1 e de 28% no tratamento D2. Destaca-se que a colônia nº 47, pertencente à repetição do tratamento D1, foi transferida para uma colmeia modelo Langstroth após 45 dias do início do experimento. Quanto ao mel armazenado, verificou-se um acréscimo de 78,35% no grupo controle e de 77,87% no tratamento D1 ao longo do período experimental.

No município de Caçador, os resultados do desenvolvimento colonial foram semelhantes, não sendo observadas diferenças entre os tratamentos para os parâmetros analisados (Tabela 9).

**Tabela 9:** Número de opérculos abertos e fechados, número de quadros com abelhas, mel operculado e pólen ( $\pm$  Erro Padrão da Média) de colmeias de *Apis mellifera* expostas por 180 dias a diferentes dietas proteicas em Caçador.

<b>CRIA ABERTA</b>					
Tratamento	Dia zero	Dia 45	Dia 90	Dia 135	Dia 180
Controle	14,2 ( $\pm$ 2,50)	16,4 ( $\pm$ 5,77)	17,4 ( $\pm$ 0,90)	20,2 ( $\pm$ 2,29)	11,8 ( $\pm$ 2,78)
Dieta 1	16,7 ( $\pm$ 0,39)	20,6 ( $\pm$ 8,13)	13,7 ( $\pm$ 2,68)	12,8 ( $\pm$ 3,15)	10,5 ( $\pm$ 1,83)
Dieta 2	13,0 ( $\pm$ 4,71)	12,9 ( $\pm$ 6,41)	14,5 ( $\pm$ 3,06)	10,1 ( $\pm$ 3,50)	4,7 ( $\pm$ 0,69)
Dieta 3	17,9 ( $\pm$ 1,00)	24,4 ( $\pm$ 1,88)	19,7 ( $\pm$ 1,32)	15,2 ( $\pm$ 3,71)	10,0 ( $\pm$ 2,29)
F	0.57	0.44	1.48	2.15	2.86
P-valor	0.644	0.731	0.273	0.152	0.097
<b>CRIA FECHADA</b>					
Controle	23,0 ( $\pm$ 3,94)	40,8 ( $\pm$ 3,81)	23,7 (6,27)	17,1 ( $\pm$ 4,36)	16,1 ( $\pm$ 4,87)
Dieta 1	31,7 ( $\pm$ 2,44)	39,7 ( $\pm$ 12,93)	19,7 ( $\pm$ 3,88)	8,6 ( $\pm$ 3,29)	14,0 ( $\pm$ 3,11)
Dieta 2	19,8 ( $\pm$ 6,97)	27,7 ( $\pm$ 10,31)	23,0 ( $\pm$ 2,90)	14,5 ( $\pm$ 6,58)	7,5 ( $\pm$ 3,73)
Dieta 3	26,9 ( $\pm$ 4,38)	43,3 ( $\pm$ 3,61)	23,2 ( $\pm$ 5,72)	14,2 ( $\pm$ 5,44)	16,5 ( $\pm$ 4,84)
F	1.15	0.57	0.15	0.67	1.04
P-valor	0.37	0.648	0.926	0.588	0.422
<b>POPULAÇÃO</b>					
Controle	3,7 (0,14)	3,4 (0,31)	5,7 (1,48)	5,9 (1,39)	6,2 (1,31)
Dieta 1	3,5 (0,29)	3,6 (0,28)	5,2 (1,54)	5,4 (1,09)	6,3 (1,42)
Dieta 2	3,2 (0,43)	3,3 (0,44)	4,4 (0,38)	4,4 (0,24)	3,8 (0,38)
Dieta 3	3,5 (0,20)	3,7 (0,17)	6,0 (1,53)	6,3 (1,45)	6,5 (1,44)
F	0,36	0,21	0,19	0,44	1,21
P-valor	0,786	0,888	0,904	0,728	0,359
<b>MEL</b>					
Controle	26,7 ( $\pm$ 2,17)	12,5 ( $\pm$ 1,88)	11,4 ( $\pm$ 2,15)	9,4 ( $\pm$ 5,21)	17,1 ( $\pm$ 6,52)
Dieta 1	29,4 ( $\pm$ 0,44)	5,2 ( $\pm$ 3,44)	13,6 ( $\pm$ 3,47)	12,7 ( $\pm$ 7,32)	18,8 ( $\pm$ 9,04)

Dieta 2	23,3 ( $\pm 5,94$ )	6,9 ( $\pm 0,63$ )	7,5 ( $\pm 2,43$ )	5,1 ( $\pm 1,85$ )	8,1 ( $\pm 4,65$ )
Dieta 3	17,3 ( $\pm 4,39$ )	12,7 ( $\pm 5,40$ )	11,5 ( $\pm 1,26$ )	9,1 ( $\pm 5,84$ )	8,4 (2,76)
F	1.59	2.03	1.16	0.36	0.65
P-valor	0.247	0.174	0.37	0.783	0.604
<b>PÓLEN</b>					
Controle	7,7 ( $\pm 1,66$ )	11,1 ( $\pm 1,93$ )	6,7 ( $\pm 1,29$ )	6,6 ( $\pm 0,85$ )	5,9 ( $\pm 1,10$ )
Dieta 1	15,0 ( $\pm 0,92$ )	9,4 ( $\pm 1,41$ )	6,4 ( $\pm 1,28$ )	5,8 ( $\pm 1,12$ )	6,9 ( $\pm 1,45$ )
Dieta 2	10,8 ( $\pm 2,73$ )	9,6 ( $\pm 0,95$ )	5,0 ( $\pm 0,68$ )	6,0 ( $\pm 1,56$ )	1,7 ( $\pm 0,82$ )
Dieta 3	8,7 ( $\pm 0,83$ )	11,5 ( $\pm 1,10$ )	11,0 ( $\pm 3,78$ )	5,6 ( $\pm 2,40$ )	8,4 ( $\pm 2,76$ )
F	3.25	0.64	1.05	0.09	3.6
P-valor	0.064	0.605	0.408	0.964	0.059

Observou-se uma redução na área de CA ao longo do experimento, sendo o tratamento D2 o que apresentou a maior declínio, com uma redução de 63,83%. Em relação à cria fechada, os tratamentos D1 e D2 também demonstraram diminuição, com reduções de 55,9% e 62,3%, respectivamente. Verificou-se uma diminuição quanto à população de abelhas adultas na colônia, com reduções de 83,76% no tratamento D2 e 53,87% no tratamento D1. Houve um declínio no estoque de mel ao longo do experimento, com reduções de 65,29% no tratamento D2 e 51,30% no tratamento D3.

#### 5.4 DISCUSSÃO

O consumo das dietas nos tratamentos D1, D2 e Controle foi superior ao observado nas colônias que receberam a dieta D3. A suplementação das colônias teve efeito sobre a quantidade de pólen estocado no apiário FLN aos 135 dias de experimento, e na infestação por *Vairimorpha* spp. em ambos os apiários, aos 90 dias. A análise dos dados não revelou variações entre os tratamentos quanto ao efeito das dietas no desenvolvimento colonial e na infestação por *V. destructor* nos dois apiários experimentais, pelos métodos utilizados.

A palatabilidade das dietas constitui um parâmetro fundamental na avaliação da eficácia da suplementação alimentar em colônias de abelhas, especialmente quando o manejo nutricional visa preparar os enxames para atividades intensivas de polinização. No presente estudo, a dieta do tratamento Controle, composta por carboidratos e água, foi completamente transferida pelas abelhas nas primeiras 24 horas após sua disponibilização. O consumo dos

tratamentos com dieta D1 e D2 não diferiram do Controle, e foram superiores ao consumo da dieta do tratamento D3 (54,47%). Observou-se que a D2 apresentou textura mais endurecida ao longo do tempo, possivelmente devido à presença de dois ingredientes farináceos em sua composição, os quais favorecem a rápida perda de umidade. Essa característica pode ser explicada pelo alto teor de proteína, possivelmente comprometeu sua atratividade e disponibilidade para consumo, refletindo em uma aceitação ligeiramente inferior em comparação à D1.

Em CDR, as colônias suplementadas com D2 apresentaram uma taxa de infestação de *Vairimorpha* spp. 58,22% superiores às daquelas do tratamento D1. A dieta D2 destacou-se por conter a maior concentração de leucina entre os tratamentos (ver Tabela 3, Cap. 1), sendo 58,8% superior à D1 e 21,81% superior à D3. A leucina está associada à síntese proteica, à reparação celular e à modulação da resposta imunológica em abelhas, contribuindo para a resistência contra infestação por *Vairimorpha* spp. (DEGRANDI-HOFFMAN et al., 2010). A presença desse aminoácido na dieta D2 pode ter desempenhado um papel relevante no apiário FLN, onde a disponibilidade de recursos florais foi reduzindo com a proximidade do inverno, resultando em menor oferta nutricional no ambiente. A leucina, participa de processos metabólicos relacionados à síntese proteica, ao crescimento larval, à regulação imunológica e à longevidade das abelhas (DUFOUR et al, 2001). Nesse sentido, a composição da dieta D2, mais rica em leucina em comparação às demais, pode ter contribuído para uma melhor resposta fisiológica das colônias frente ao estresse ambiental e nutricional observado no apiário FLN. A maior porcentagem de plantas apícolas floridas em Santa Catarina é observada entre os meses de agosto a novembro na maioria dos municípios (WIESE; SALOMÉ, 2020). Adicionalmente, a maior diversidade de espécies vegetais no apiário CDR, pode ter compensado a menor oferta de leucina nos demais tratamentos, por meio do forrageamento.

A infestação por *V. destructor* e *Vairimorpha* spp. é influenciada por múltiplos fatores, incluindo a sazonalidade, as condições climáticas, a correlação entre esses patógenos, o impacto no sistema imunológico das abelhas e o manejo intensivo das colônias. Estudos indicam que a probabilidade de coexistência de nosema na presença de varroa durante o inverno é 3,8 vezes maior do que no verão (CARMONA-GASCA et al., 2020).

No presente estudo, a análise estatística não indicou diferenças nos índices de infestação por *V. destructor* em abelhas adultas e pupas entre os tratamentos, em ambos os apiários. Esses resultados indicam que a infestação do ácaro pode não estar diretamente relacionada à dieta suplementar fornecida às colônias. Em vez disso, a infestação do ácaro parece estar associada a mecanismos comportamentais das abelhas, como o comportamento de *autogrooming* e *alogrooming* — no qual as abelhas removem os ácaros de seus próprios corpos ou dos corpos de companheiras, respectivamente. Esse comportamento, juntamente com o comportamento higiênico (CH), que envolve a identificação e remoção de crias mortas ou parasitadas, constitui uma das principais defesas contra infestações por ácaros em *A. mellifera* (BOECKING, RITTER, 2008; FRIES et al., 2003).

O comportamento higiênico (CH) pode ser modulado por condições ambientais, que afetam sua expressão nas colônias (STANIMIROVIC et al., 2003; CURRIE, TAHMASBI, 2008). Além disso, os limiares de tolerância à *V. destructor* variam conforme o contexto ecológico e climático (MEIXNER et al., 2014; GIACOBINO et al., 2017). Em regiões de clima úmido e subúmido, as infestações por *V. destructor* tendem a se intensificar durante o verão, possivelmente devido a condições que favorecem o desenvolvimento do ácaro e comprometem os mecanismos de defesa das colônias (GUZMAN-NOVOA et al., 2012). Dessa forma, a carga parasitária de *V. destructor* parece estar mais relacionada a fatores inerentes às colônias e às condições do apiário, do que aos efeitos diretos da alimentação suplementar.

No apiário de FLN, aos 135 dias de exposição às dietas ( $p < 0,001$ ), as colônias dos tratamentos D1 e D2 apresentaram aumento em 68% e 73% respectivamente no volume de pólen armazenado, em relação ao grupo Controle. Esse acréscimo na quantidade de pólen sugere que as colônias suplementadas possivelmente estavam estocando as dietas proteicas junto ao pólen natural, possivelmente como uma estratégia de reserva alimentar. Entretanto, é esperado que as abelhas consumam as dietas e não estoquem em favos para formação em pão de abelha (NOORDYKE; ELLIS, 2021).

Há evidências que as abelhas adultas modulam a ingestão de macronutrientes para atingir um equilíbrio ideal entre proteínas e lipídios (STABLER et al., 2021). O pólen, ativa as vias metabólicas e de detecção de

nutrientes, influenciando a expressão de genes envolvidos na longevidade, na função imunológica, na produção de peptídeos antimicrobianos e na desintoxicação de pesticidas (ALAUX et al., 2011; SCHMEHL et al., 2014).

Enxames enfraquecidos tendem a apresentar uma resposta tardia na coleta de recursos, utilizando as primeiras floradas principalmente para se fortalecerem e se restabelecerem. Deste modo, estoques de mel são observados quando há uma população robusta de abelhas adultas no início das floradas, indicando que os enxames estão fortes e bem desenvolvidos (SOMBRA, 2018). O tratamento D2 apresentou alto teor proteico (ver Tabela 2, Capítulo 1), potencialmente beneficiando a imunidade e a produtividade da colmeia (FRUNZE et al., 2024). No entanto, a menor aceitação da dieta pelas abelhas pode estar associada à baixa concentração de aminoácidos essenciais, como a histidina. Esse aminoácido desempenha um papel no metabolismo, na regulação da síntese proteica e desenvolvimento das crias (HOCHERL et al., 2012).

Os compostos presentes no néctar, pólen e resinas têm propriedades antimicrobianas e ajudam a fortalecer o sistema imunológico das abelhas (ERLER et al., 2014; NEGRI et al., 2015; RICHARDSON et al., 2015). As abelhas usam essas substâncias bioativas como uma forma de automedicação para melhorar a defesa da colônia. Esses compostos podem ser consumidos pelas abelhas, como no caso do néctar e pólen, ou coletados, como as resinas, que protegem todos os membros da colônia (ERLER; MORITZ, 2016). No entanto, o estresse causado por parasitos pode afetar a expressão de genes importantes, como a vitelogenina (Vg), uma proteína essencial para a imunidade e proteção das abelhas, prejudicando a defesa da colônia (ERLER et al., 2014; NEGRI et al., 2015).

As dietas proteicas com composição nutricional balanceada podem contribuir para o fortalecimento da resposta imunológica, o armazenamento de recursos e o desempenho das colônias em ambientes com restrições nutricionais. No entanto, a eficácia dessas dietas pode ser modulada por fatores ambientais e comportamentais, o que ressalta a importância de abordagens integradas para o manejo nutricional de colônias. Estudos futuros devem considerar a interação entre dieta, microbiota, imunocompetência e condições ecológicas a fim de aprimorar estratégias de suplementação alimentar na apicultura.

## 5.5 CONCLUSÃO

A suplementação alimentar exerce influência sobre parâmetros nutricionais e sanitários das colônias de *A. mellifera*. A palatabilidade das dietas mostrou-se determinante para o consumo, destacando a menor aceitação da dieta D3 e a elevada atratividade do Controle, D1 e D2. Embora a dieta D2 apresentasse maior teor proteico e concentração de leucina, fatores associados a benefícios metabólicos e imunológicos, sua textura mais endurecida comprometeu a atratividade, resultando em menor consumo. Ainda assim, a suplementação com D1 e D2 favoreceu o acúmulo de pólen estocado em condições de baixa oferta floral, sugerindo uma estratégia adaptativa de armazenamento.

No tocante à sanidade, não foram observadas diferenças entre tratamentos quanto à infestação por *Varroa destructor*, indicando que a dieta não se relaciona diretamente à dinâmica populacional deste ácaro, e sim a fatores comportamentais e ambientais. Por outro lado, a infestação por *Vairimorpha* spp. foi modulada pela dieta, com destaque para a maior suscetibilidade associada à D2 no apiário CDR, possivelmente refletindo interações entre composição nutricional, condições sazonais e disponibilidade de recursos.

De forma geral, os achados reforçam a importância do equilíbrio nutricional na formulação de dietas proteicas para abelhas, não apenas em termos de teor proteico bruto, mas também na qualidade e diversidade de aminoácidos essenciais. A interação entre dieta, comportamento das colônias, disponibilidade de recursos florais e condições ambientais deve ser considerada em estratégias de suplementação, de modo a potencializar o desempenho, a imunidade e a resiliência das colmeias frente a desafios sanitários e ecológicos.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A avaliação da composição centesimal e do perfil de aminoácidos das dietas proteicas ofertadas a *A. mellifera* L. evidenciou que, embora formuladas por profissionais capacitados, as dietas testadas não atenderam integralmente às exigências nutricionais das abelhas, especialmente no que se refere ao equilíbrio de macro e micronutrientes. Dentre os tratamentos, o D1 apresentou a composição mais equilibrada em termos de aminoácidos essenciais e exclusividade em isoleucina e glutamina/histidina, ainda que tenha demonstrado deficiências na concentração de minerais.

Quanto aos efeitos das suplementações sobre o desenvolvimento colonial e a sanidade das colônias mantidas em condições de campo nos municípios de FLN e CDR, não foram observadas variações em comparação ao grupo controle para os parâmetros avaliados. Os tratamentos D1 e D2 apresentaram maior consumo, fator possivelmente associado ao maior acúmulo de alimento e à redução da carga de *Vairimorpha* spp. aos 90 dias.

As variações observadas entre os tratamentos e os apiários ressaltam a complexidade das respostas biológicas de organismos sociais como as abelhas, cujas dinâmicas populacionais e sanitárias são fortemente moduladas por fatores ambientais, climáticos e comportamentais. Considerando os impactos crescentes das mudanças climáticas e da degradação ambiental sobre a disponibilidade de recursos florais, torna-se cada vez mais urgente o aprofundamento de estudos que integrem aspectos nutricionais, sanitários e ecológicos. Os resultados obtidos neste trabalho destacam a necessidade de que avaliações de dietas suplementares sejam realizadas em condições reais de campo, de modo a garantir intervenções mais eficazes para a manutenção da saúde e produtividade das colônias.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALAUX, C.; DUCLOZ, F.; CRAUSER, D.; LE CONTE, Y. Diet effects on honeybee immunocompetence. **Biology Letters**, London, v. 6, n. 4, p. 562–565, 2010.

ALAUX, C.; DANTEC, C.; PARRINELLO, H.; LE CONTE, Y. Nutrigenômica em abelhas: Análise de expressão gênica digital dos efeitos nutritivos do pólen em abelhas saudáveis e parasitadas por varroa. **BMC Genomics**, v. 12, p. 496, 2011.

AMENT, S. A.; HUANG, Z. Y.; ROBINSON, G. E. Nutritional regulation of honey bee behavior. **Nature**, v. 547, n. 7661, p. 162-165, 2016.

ANJU, V. T. et al. Human microbiome and the susceptibility to infections. In: KOTHARI, V.; KUMAR, P.; RAY, S. (ed.). **Probiotics, prebiotics, synbiotics, and postbiotics**. Singapore: Springer, 2023. p. 117–138.

ARCHER, C. R.; PIRK, C. W. W.; WRIGHT, G. A.; NICOLSON, S. W. Nutrition affects survival in African honeybees exposed to interacting stressors. **Functional Ecology**, p. 913-923, 2014.

ARECHAVALETA-VELASCO, M.; GUZMAN-NOVOA, E. Efeito relativo de quatro características que restringem o crescimento populacional do ácaro *Varroa destructor* em colônias de abelhas (*Apis mellifera*). **Apidologia**, v. 32, p. 157-174, 2001.

ARIEN, Y. et al. A deficiência de ômega-3 prejudica o aprendizado das abelhas. **Proceedings of the National Academy of Sciences** – PNAS, v. 112, n. 51, p. 15761–15766, 2015.

AZEVEDO, M. A.; ANDRADE JR., V. C.; FERNANDES, J. S. C. Transformação Box-Cox na homocedasticidade e normalidade uni e multivariada em experimentos de batata-doce. **Horticultura Brasileira**, v. 34, p. 93-101, 2016.

BERTOLINI, A. M.; CARVALHO, A. M.; BÓGUS, C. M.; MARCHIONI, D. M. L. (Org.). Biodiversidade e sistemas alimentares: a contribuição (in)visível das abelhas sem ferrão. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da Universidade Federal de São Paulo, p. 147, 2023.

BIZOTTO, L. de A.; SANTOS, R. S. S. dos; BOFT, M. I. C. Análise diagnóstica de colmeias utilizadas na polinização de macieiras. Ed. 297. Lages: Universidade do Estado de Santa Catarina; Vacaria: Embrapa Uva e Vinho, 2019.

BOECKING, O.; GENERSCH, E. Varroose – a crise contínua na apicultura. **J. Verbr. Lebensmo.**, v. 3, p. 221–228, 2008.

BORGES, M. G. B. Estudo sobre a sustentabilidade: aspectos socioeconômicos e ambientais em cinco associações de apicultores no sertão da Paraíba. Pombal. 62 f. Monografia (Graduação) – Universidade Federal de Campina Grande, 2015.

BRODSCHNEIDER, R.; CRAILSHEIM, K. Nutrition and health in honey bees. **Apidologie**, v. 41, n. 3, p. 278–294, 2010.

BROWN, M. J. F.; DICKS, L. V.; PAXTON, R. J.; BALDOCK, K. C.; BARRON, A. B.; CHAUZAT, M. P.; FREITAS, B. M.; GOULSON, D.; JEPSEN, S.; KREMEN, C.; LI, J.; NEUMANN, P.; PATTEMORE, D. E.; POTTS, S. G.; SCHWEIGER, O.; SEYMOUR, C. L.; STOUT, J. A horizon scan of future threats and opportunities for pollinators and pollination. **PeerJ**, v. 4, 2016.

CALDERONE, N. W. Insect Pollinated Crops, Insect Pollinators and US Agriculture: Trend Analysis of Aggregate Data for the Period 1992–2009. **PLoS ONE**, v. 7, n. 5, p. 24–28, 2012.

CAMILLI, M. P. Efeito da suplementação proteica no desenvolvimento das glândulas mandibulares em abelhas *Apis mellifera* L. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, São Paulo, 80 f., 2019.

CARMONA-GASCA, C. A.; ESCALERA-VALENTE, F.; LEMUS-FLORES, C. *et al.* Variação sazonal na prevalência de *Varroa*, *Nosema* e *Acarapis* em colmeias das quais são produzidos núcleos de acasalamento de abelhas rainhas. **Journal of Apicultural Research**, v. 59, n. 4, p. 558-563, 2020.

CARROLL, M. J. *et al.* Honey bees preferentially consume freshly stored pollen. **PLoS ONE**, v. 12, p. 1-21, 2017.

CASACA, J. D. Manual de produção de pólen e própolis. Federação Nacional de Apicultores de Portugal (FNAP), 2010.

CASTAGNINO, G. L. B.; ORSI, R. O. Produtos naturais para o controle do ácaro *Varroa destructor* em abelhas africanizadas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 6, p. 738-744, 2012.

CHAVES, A. Efeitos subletais de fungicidas usados no cultivo da macieira sobre colmeias de *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae). 2022. 95 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2022.

CHEMURROT, M.; SMET, L.; DE BRUNAIN, M.; RYCKE, R.; DE GRAAF, D. C. *Nosema neumanni* n. sp. (Microsporidia: Nosematidae), a new microsporidian parasite of honeybees, *Apis mellifera* in Uganda. **European Journal of Protistology**, v. 61, p. 13–19, 2017.

CORDES, N.; HUANG, W. F.; STRANGE, J. P.; CAMERON, S. A.; GRISWOLD, T. L.; LOZIER, J. D.; SOLTER, L. F. Interspecific geographic distribution and

variation of the pathogens *Nosema bombi* and *Crithidia* species in United States bumble bee populations. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 109, p. 209–216, 2012.

CURRIE, R. W.; TAHMASBI, G. H. A capacidade das linhagens de alta e baixa limpeza de abelhas para remover o ácaro parasita *Varroa destructor* é afetada pelas condições ambientais. **Canadian Journal of Zoology**, v. 86, p. 1059–1067, 2008.

DELAPLANE, K. S.; MAYER, D. F. **Crop pollination by bees**. CABI, 2000.

DELAPLANE, K. S.; VAN DER STEEN, J.; GUZMAN, E. Standard methods for estimating strength parameters of *Apis mellifera* colonies. **Journal of Apicultural Research**, v. 52, n. 1, p. 1-12, 2013.

DEGRANDI-HOFFMAN, G.; CHEN, Y.; HUANG, E.; HUANG, M. H. The effect of diet on protein concentration, hypopharyngeal gland development and virus load in worker honey bees (*Apis mellifera* L.). **Journal of Insect Physiology**, v. 56, n. 9, p. 1184–1191, 2010.

DEGRANDI-HOFFMAN, G.; GAGE, S. L.; CORBY-HARRIS, V.; CARROLL, M.; CHAMBERS, M.; GRAHAM, H.; DE JONG, E. Connecting the nutrient composition of seasonal pollens with changing nutritional needs of honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies. **Journal of Insect Physiology**, v. 109, p. 114–124, 2018.

DEGRANDI-HOFFMAN, G.; CHEN, Y. Nutrition, immunity and viral infections in honey bees. **Current Opinion in Insect Science**, v. 10, p. 170-176, 2015.

DE GROOT, A. P. Exigências de proteínas e aminoácidos da abelha (*Apis mellifera* L.). **Fisiologia Comparada e Ecologia**, v. 3, p. 1-83, 1953.

DEQUENNE, I.; PHILIPPART DE FOY, J.-M.; SPRL, M.; CANI, P. D. Desenvolvimento de estratégias para ajudar a resiliência das colônias de abelhas em ambientes em mudança. **Animais**, v. 12, n. 23, p. 3396, dez. 2022.

DOLEZAL, A. G.; TOTH, A. L. Feedbacks between nutrition and disease in honey bee health. **Current Opinion in Insect Science**, v. 26, p. 114–119, 2018.

DOMINGOS, H. G. T.; SOMBRA, D. S.; SANTOS, R. G.; GRAMACHO, K. P.; GONÇALVES, L. S. Surface Temperature and Heat Transfer between Body Regions of Africanized Honeybees (*Apis mellifera* L.) in Hives under Sun and Shade Conditions in the Northeastern Semi-arid Region of Brazil. **Journal of Agricultural Science and Technology**, v. 8, p. 28-35, 2018.

DOULL, K. M.; ECKERT, J. E. Um levantamento da incidência de doença na Califórnia. **Journal of Economic Entomology**, v. 55, n. 3, p. 313–317, 1962.

DUAY, P.; DE JONG, D.; ENGELS, W. Weight loss in drone pupae (*Apis mellifera*) multiply infested by *Varroa destructor* mites. **Apidologie**, v. 34, n. 1, p. 61-65, 2003.

DUFOUR, F.; NALECZ, K. A.; NALECZ, M. J.; NEHLIG, A. Metabolic approach of absence seizures in a genetic model of absence epilepsy, the GAERS: study of the leucine-glutamate cycle. **Journal of Neuroscience Research**, Hoboken, v. 66, n. 5, p. 981–988, 2001.

EPAGRI. Relatório de Produção de Maçãs em Santa Catarina. Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina, 2024.

ERLER, S.; DENNER, A.; BOBIS, O.; FORSGREN, E.; MORITZ, R. F. A. Diversidade de lojas de mel e seu impacto nas bactérias patogênicas da abelha, *Apis mellifera*. **Eco Evoluir**, v. 4, p. 3960–3967, 2014.

ERLER, S.; MORITZ, R. F. A. Farmacofagia e farmacoforia: Mecanismos de automedicação e prevenção de doenças na colônia de abelhas (*Apis mellifera*). **Apidologia**, v. 47, p. 389–411, 2016.

FAITA, M. R. Conhecimento atual sobre o efeito da alimentação na saúde das abelhas. **Zumzum**, v. 374, n. 54, p. 4–6, 2020.

FAITA, M. R.; CHAVES, A.; NODARI, R. O. A expansão do agronegócio: impactos nefastos do desmatamento, agrotóxicos e transgênicos nas abelhas. **Edição Especial - Agronegócio em Tempos de Colapso Planetário: Abordagens Críticas**, v. 57, p. 79-105, 2021.

FELIG, P. The glucose-alanine cycle. **Metabolism**, v. 22, n. 2, p. 179–207, 1973.

FONTES, V. M. S. et al. An improved method for determining free amino acids by RP-HPLC/DAD with o-phthalaldehyde derivatization: Method evaluation in beers and wines. **Food Chemistry**, v. 435, p. 137591, 2024.

FREITAS, B. M.; NUNES-SILVA, P. Polinização agrícola e sua importância no Brasil. In: IMPERATRIZ-FONSECA, V. et al. (eds.). Polinizadores no Brasil: contribuições e perspectivas para a biodiversidade, uso sustentável, conservação e serviços ambientais. São Paulo: EDUSP, p. 113-118, 2012

FREITAS, J. C.; ECHAZARRETA, C. Importancia de la granulometria em ingredientes para la alimentación de las abejas. In: **XV Seminario Americano de Apicultura**, Tepic, Nayarit, México, p. 54-58, 2001.

FRIES, I. et al. Enxameação em abelhas (*Apis mellifera*) e desenvolvimento populacional de *Varroa destructor* na Suécia. **Apidologie**, v. 34, p. 389–397, 2003.

FRUNZE, O.; KIM, H.; LEE, J.-H.; KWON, H.-W. Os efeitos das dietas artificiais na expressão de genes marcadores moleculares relacionados à saúde das abelhas. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, p. 4271, 2024.

GARIBALDI, L. A.; CAVALHEIRO, L. G.; LEONHART, M. A.; AIZEN, B. R.; BLAAUW, R.; ISSACS, M.; KUHLMANN, D.; KLEIJN, A. M.; KREMEN, C.; MORANDIN, L.; SHEPER, J. R. Winfree from research to action: enhancing crop yield through wild pollinators. **Journal of Ecology and Environment**, 2014.

GIACOBINO, A. *et al.* Ambiente ou gestão da apicultura: O que explica melhor a prevalência de colônias de abelhas com altos níveis de *Varroa destructor*? **Research in Veterinary Science**, v. 112, p. 1–6, 2017.

GIANNINI, T. C.; CORDEIRO, G. D.; FREITAS, B. M.; SARAIVA, A. M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. The Dependence of Crops for Pollinators and the Economic Value of Pollination in Brazil. **Journal of Economic Entomology**, College Park MD, p. 1-9, 2015.

GIANNINI, T. C., *et al.* Crop pollinators in Brazil: a review of reported interactions. **Acta Amazonica**, v. 45, n. 3, p. 317-331, 2015.

GOULSON, D.; NICHOLLS, E.; BOOTIES, C.; ROTHERAY, E. L. Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. **Science**, v. 347, n. 6229, 2015.

GRAYSTOCK, P.; YATES, K.; DARVILL, B.; GOULSON, D.; HUGHES, W. O. H. Emerging dangers: deadly effects of an emergent parasite in a new pollinator host. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 114, p. 114–119, 2013.

GROOT, A. P. D. Requisitos de proteína e aminoácidos da abelha (*Apis mellifera* L.). 1953.

GUZMAN-NOVOA, E. *et al.* Variabilidade genotípica e relações entre níveis de infestação de ácaros, danos causados por ácaros, intensidade de limpeza e remoção de ácaros *Varroa destructor* em linhagens selecionadas de abelhas operárias (*Apis mellifera* L.). **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 110, p. 314–320, 2012.

HAGENGIMANA, M. G.; NDUNGURU, J.; KHAMIS, F. M. Nutritional composition and quality of bee pollen from different plants in Tanzania. **Journal of Apicultural Research**, v. 60, n. 5, p. 749-758, 2021.

HERBERT, E. W. Honey bee nutrition. In: GRAHAM, J. M. (ed.). The hive and the honey bee. Hamilton (IL): Dadant & Sons, p. 197–233, 1992.

HERNÁNDEZ, R., *et al.* Suplementação com superproteína em colônias de abelhas: impactos na saúde e produção. **Apicultural Research**, v. 12, p. 45-56, 2024.

HIGES, M.; GARCÍA-PALENCIA, P.; MARTÍN-HERNÁNDEZ, R. Infecção experimental de abelhas *Apis mellifera* com *Nosema ceranae* (Microsporidia). **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 94, n. 3, p. 211, 2007.

HIGES, M., et al. *Nosema ceranae*, a newly identified parasite affecting honey bees. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 98, p. 131-139, 2010.

HRISTOV, P.; SHUMKOVA, R.; PALOVA, N.; NEOV, B. Factors associated with honey bee colony losses: a mini-review. **Veterinary Sciences**, v. 7, n. 4, p. 166, 2020.

HOCHERL, N.; SIEDE, R. I.; GATSCHENBERGER, H.; TAUTZ, J. Avaliação do valor nutritivo do milho para abelhas. **Journal of Insect Physiology**, v. 58, n. 2, p. 278-285, 2012.

HTOO, J.; WILTAFSKY, M.K. Roles, metabolismo y antagonismos de aminoácidos de cadena ramificada en la nutrición animal. **Amino News**, v. 16, p. 25-32, 2011.

HUANG, Z. Honey bee nutrition. **American Bee Journal**, v. 150, n. 8, p. 773–776, 2010.

IBGE. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2023.

INTERGOVERNMENTAL SCIENCE-POLICY PLATFORM ON BIODIVERSITY AND ECOSYSTEM SERVICES (IPBES). Assessment report on pollinators, pollination and food production. Bonn, Alemanha: IPBES, 2017.

ISAACS, R.; WILLIAMS, N.; ELLIS, J.; PITTS-SINGER, T. L. Integrated crop pollination: combining strategies to ensure stable and sustainable yields of pollination-dependent crops. **Basic and Applied Ecology**, v. 22, p. 44-60, 2017.

JUMARIE, C.; ARAS, P.; BOILY, M. Misturas de herbicidas e metais afetam o sistema redox de abelhas. **Chemosphere**, v. 168, p. 163-170, 2017.

KHAN, A. K.; GHARAMH, A. C. Pollen source preferences and pollination efficacy of honey bee, *Apis mellifera* (Apidae: Hymenoptera) on *Brassica napus* crop. **Journal of King Saud University – Science**, v. 33, 2021.

KHAN, S. U.; ANJUM, S. I.; RAHMAN, K.; ANSARI, M. J.; KHAN, W. U.; KAMAL, S.; KHATTAK, B. et al. Honey: single food stuff comprises many drugs. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 25, n. 2, p. 320–325, 2018.

KISSINGER, C. N.; CAMERON, S. A.; THORP, R. W.; WHITE, B.; SOLTER, L. F. Survey of bumble bee (*Bombus*) pathogens and parasites in Illinois and selected areas of northern California and southern Oregon. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 107, p. 220–224, 2011.

KLEIN, A. M., et al. Global trends in pollination research: Addressing the role of wild pollinators in agriculture. **Current Opinion in Insect Science**, v. 49, p. 11-18, 2022.

KRATZ, M. et al. As abelhas enfermeiras regulam a nutrição larval de operárias em desenvolvimento (*Apis mellifera*) quando se alimentam de vários tipos de pólen. **Journal of Economic Entomology**, p. 1–13, 2024.

KROLL, J.; RAWEL, H.; KRÖCK, R. Microwave digestion of proteins. **European Food Research and Technology**, v. 207, n. 3, p. 202–206, 1998.

LEGLER, S.; ALVES, E. M.; KIEFER, C.; CASTAGNINO, G. L. B. Efeitos da alimentação energética, açúcar invertido e energético-proteica, açúcares e farinha láctea no desenvolvimento e produção de mel em núcleos de abelhas africanizadas. **Mensagem Doce**, p. 55, 2000.

LI, C.; XU, B.; WANG, Y.; FENG, Q.; YANG, W. Effects of dietary crude protein levels on development, antioxidant status, and total midgut protease activity of honey bee (*Apis mellifera lingustica*). **Apidologie**, v. 43, p. 576, 2012.

LIRA, T. S. Suplemento proteico artesanal para abelhas africanizadas. **Gastronomía ecuatoriana y turismo local**, v. 1, n. 69, p. 5–24, 2014.

MAORI, E. et al. Uma proteína secretada de ligação ao RNA forma grânulos estabilizadores de RNA na geléia real de abelha. **Molecular Cell**, v. 74, n. 3, p. 598–608, 2019.

MARTÍNEZ-PUC, J.; MEDINA-MEDINA, L.; CATZÍN-VENTURA, G. Frecuencia de *Varroa destructor*, *Nosema apis* y *Acarapis woodi* en colonias manejadas y enjambres silvestres de abejas (*Apis mellifera*) en Mérida, Yucatán, México. **Revista mexicana de ciencias pecuarias**, v. 2, p. 25-38, 2011.

MCMENAMIN, A. J.; BRUTSCHER, L. M.; GLENNY, W.; FLENNIKEN, M. L. Abiotic and biotic factors affecting the replication and pathogenicity of bee. **Current Opinion in Insect Science**, v. 16, p. 14–21, 2016.

MEIXNER, M. D. *et al.* Ocorrência de parasitas e patógenos em colônias de abelhas usadas em um experimento europeu de interações genótipo-ambiente. **Journal of Apicultural Research**, v. 53, p. 215–229, 2014

MOOKHPLOY, W.; KRONGDANG, S.; CHANTAWANNAKUL, P. Efeitos da infecção pelo vírus da asa deformada nas expressões de genes relacionados à imunidade e à apoptose em abelhas ocidentais (*Apis mellifera*). **Insects**, v. 12, n. 1, p. 82, 2021.

MORAIS, M. M.; TURCATTO, A. P.; PEREIRA, R. A.; FRANCOY, T. M.; GUIDUGLI-LAZZARINI, K. R.; GONÇALVES, L. S.; ALMEIDA, J. M. V.; ELLIS, J. D.; DE JONG, D. Protein levels and colony development of Africanized and European honey bees fed natural and artificial diets. **Genetics and Molecular Research**, v. 12, n. 4, p. 6915-6922, 2013.

MOTA, Adão Vagner; TRINDADE, Gabrielle Nunes; TOLEDO, Taiani Dos Santos De; CARDINAL, Kátia Maria. Termorregulação de abelhas com ênfase em *Apis mellifera*. In: CONGRESSO NACIONAL DE CIÊNCIAS AMBIENTAIS, p. 227-239, 2023

MUSACCHI, S.; SERRA, S. Apple fruit quality: Overview on pre-harvest factors. **Scientia Horticulturae**, v. 234, p. 409–430, 2018.

NAVEEN, P.; KOUR, H.; MALIK, R.; NALIYAPARA, H.; GABBUR, A.; RANA, P.; GOYAL, A. Consumo de diferentes dietas artificiais por colônias de *Apis mellifera* L. durante o período de escassez em Morena, MP, Índia. **Revista de Zoologia de Uttar Pradesh**, v. 45, n. 15, p. 379–386, 2024.

NAZZI, F.; LE CONTE, Y. Ecology of *Varroa destructor*, the Major Ectoparasite of the Western Honey Bee, *Apis mellifera*. **Annual Review of Entomology**, v. 61, n. 1, p. 417-432, 2016.

NEGRI, P. et al. O ácido abscísico aumenta a resposta imune em *Apis mellifera* e contribui para a aptidão da colônia. **Apidologia**, v. 46, p. 542–557, 2015.

NEGRI, P. et al. Towards precision nutrition: A novel concept linking phytochemicals, immune response and honey bee health. **Insects**, v. 10, n. 11, p. 401, 2019.

NETO, A. I. P.; SILVA, R. A.; SILVA, S. S.; SOUSA, J. S.; ANDRADE, A. B. A. Influência de essências na alimentação artificial energética na atratividade de abelhas *Apis mellifera*. **Revista Verde**, v. 10, n. 3, p. 47-52, 2015.

NICOLSON, S. W. Alimento para abelhas: a química e o valor nutricional do néctar, pólen e misturas dos dois. **Zoologia Africana**, v. 46, n. 2, p. 197–204, 2011.

NOGUEIRA-COUTO, R. H. Estudo de algumas dietas artificiais visando à produção de geléia real em colônias de *Apis mellifera*. In: ENCONTRO SOBRE ABELHAS, 3., Ribeirão Preto, SP. Anais [...]. Ribeirão Preto, SP: 1998. p. 227-230.

NOORDYKE, E. R.; ELLIS, J. D. Revisando a eficácia de substitutos de pólen como uma ferramenta de gestão para melhorar a saúde e a produtividade de colônias de abelhas ocidentais (*Apis mellifera*). **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 5, 2021.

NÚÑEZ-TORRES, O. P.; ALMEIDA-SECAIRA, R. I.; ROSERO-PEÑAHERRERA, M. A.; LOZADA-SALCEDO, E. E. Fortalecimiento del rendimiento de abejas (*Apis mellifera*) alimentadas con fuentes proteicas. **Journal of the Selva Andina Animal Science**, v. 4, n. 2, p. 95–103, 2017.

OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES (OIE) (2008) Nosemosis of honeybees.

OLLERTON, J.; WINFREE, R.; TARRANT, S. How many flowering plants are pollinated by animals? **Oikos**, v. 120, n. 3, p. 321-326, 2011.

OLIVEIRA, G. Desempenho produtivo, reprodutivo e resposta fisiológica de abelhas africanizadas que receberam suplementação alimentar. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia (EVZ), Goiânia, 2019.

OSKAY, D. Efeitos da composição da dieta no consumo, peso corporal vivo e expectativa de vida das abelhas operárias (*Apis mellifera* L.). **Applied Ecology and Environmental Research**, v. 19, p. 1–12, 2021.

OSTWALD, M. M.; SMITH, M. L.; SEELEY, T. D. The behavioral regulation of thirst, water collection and water storage in honeybee colonies. **Journal of Experimental Biology**, v. 219, p. 2156-2165, 2016.

PAOLI, P. P.; WAKELING, L. A.; WRIGHT, G. A.; FORD, D. Nutritional balance of essential amino acids and carbohydrates of the adult worker honeybee depends on age. **Springer**, v. 46, p. 1449–1458, 2014.

PARAY, B. A.; KUMARI, I.; HAJAM, Y. A.; SHARMA, B.; KUMAR, R.; ALBESHR, M. F.; FARAH, M. A., et al. Honeybee nutrition and pollen substitutes: A review. **Journal of Biological Sciences**, v. 28, n. 1, p. 1167–1176, 2021.

PARDO, A.; BORGES, P. A. V. Importância mundial da polinização por insetos em macieira pomares: uma revisão. **Agrícola. Ecosistema. Meio Ambiente**, p. 293, 2020.

PLATAFORMA BRASILEIRA DE BIODIVERSIDADE E SERVIÇOS ECOSSISTÊMICOS – BPBES. Polinização, polinizadores e produção de alimentos no Brasil: contribuição do grupo de autores do diagnóstico temático sobre polinização, polinizadores e produção de alimentos no Brasil da BPBES/REBIPP. Campinas: BPBES; São Paulo: REBIPP, p. 196, 2019.

POTTS, S. G.; BIESMEIJER, J. C.; KREMEN, C.; NEUMANN, P.; SCHWEIGER, O.; KUNIN, W. E. Declínio global de polinizadores: tendências, impactos e fatores. **Tendências Eco. Evoluir**, v. 25, p. 345-353, 2010.

POTTS, S. G.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.; NGO, H. T.; AIZEN, M. A.; BIESMEIJER, J. C.; BREEZE, T. D.; DICKS, L. V.; GARIBALDI, L. A.; HILL, R.; SETTELE, J.; VANBERGEN, A. J. Safeguarding pollinators and their values to human well-being. **Nature**, v. 540, p. 220–229, 2016.

POTRICH, M.; SILVA, R. L. T.; MAIA, F. M. C.; LOZANO, E. R.; ROSSI, R. M.; COLOMBO, F. C.; TEDESCO, F. L. G.; GOUVEA, A. Effect of entomopathogens on Africanized *Apis mellifera* L. (*Hymenoptera: Apidae*). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 62, n. 1, p. 5–12, 2018.

PRENDERGAST, K. S.; LECLERCQ, N.; VEREECKEN, N. J. As abelhas melíferas (*Hymenoptera: Apidae*) superam as abelhas nativas em pomares de

maçã da Tasmânia: perspectivas para equilibrar a produção agrícola e a conservação das abelhas nativas. **Entomology Austral.**, v. 60, p. 422–435, 2021.

RAMSEY, S. D. *et al.* *Varroa destructor* feeds primarily on honey bee fat body tissue and not hemolymph. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 116, n. 5, p. 1792–1801, 2019.

REILLY, J. *et al.* A produção agrícola nos EUA é frequentemente limitada pela falta de polinizadores. **Proceedings of the Royal Society B**, v. 287, 2020.

RETSCHNIG, G.; WILLIAMS, G.; SCHNEEBERGER, A.; NEUMANN, P. Temperatura ambiente fria promove *Nosema spp.* intensidade em abelhas (*Apis mellifera*). **Insetos**, v. 8, p. 20, 2017.

RICHARDSON, L. L. *et al.* Metabólitos secundários em néctar floral reduzem infecções parasitárias em abelhas. **Proceedings of the Royal Society B**, v. 282, 2014-2471, 2015.

RICIGLIANO, V. A.; FITZ, W.; COPELAND, D. C.; MOTT, B. M.; MAES, P.; FLOYD, A. S.; DOCKSTADER, A. The impact of pollen consumption on honeybee (*Apis mellifera*) digestive physiology and carbohydrate metabolism. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v. 96, n. 2, p. 1–14, 2017.

ROULSTON, T.H.; CANE, J.H. Pollen nutritional content and digestibility for animals. **Plant Systematics and Evolution**, v.222, n.1-4, p.187-209, 2000.

ROY, R.; SCHMITT, A. J.; THOMAS, J. B.; CARTER, C. J. Review: Nectar biology: From molecules to ecosystems. **Plant Science**, v. 262, p. 148–164, 2017.

RZETECKA, N.; MATUSZEWSKA, E.; PLEWA, S.; MATYSIAK, J.; KLUPCZYNSKA-GABRYSZAK, A. Bee products as valuable nutritional ingredients: Determination of broad profiles of free amino acids in bee pollen, royal jelly, and propolis. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 126, 2024.

SALOMÉ, J. A. *Polinização dirigida em pomares de macieiras (Malus x domestica Borkh) com o uso de colmeias de Apis mellifera L.* 2014. 137 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.

SASSA, H. Molecular mechanism of the S-RNase-based gametophytic self-incompatibility in fruit trees of *Rosaceae*. **Breeding Science**, Japan, v.66, p.116–121, 2016.

SCALOPPI, M. F. Efeitos do transporte de colônias de abelhas *Apis mellifera* L. na expressão de genes relacionados ao sistema imunológico p44. Dissertação (Mestrado), 2019.

SCHMEHL, D. R.; CERCETA, P. E.; FRAZIER, J. L.; GROZINGER, C. M. Análise genômica da interação entre exposição a pesticidas e nutrição em abelhas (*Apis mellifera*). **Journal of Insect Physiology**, v. 71, p. 177–190, 2014.

SEITZ, N. *et al.* Uma pesquisa nacional sobre perdas anuais de colônias de abelhas melíferas manejadas em 2014–2015 nos EUA. **Journal of Apicultural Research**, v. 54, p. 292–304, 2016.

SIHAG, R. C.; GUPTA, M. Testando os efeitos de algumas dietas de substituição de pólen na formação de colônias e na economia da apicultura com *Apis mellifera* L. **Journal of Entomology**, v. 10, p. 120–135, 2013.

SIVITER, H.; BAILES, E. J.; MARTIN, C. D.; OLIVER, T. R.; KORICHEVA, J.; LEADBEATER, E.; BROWN, M. J. Agrochemicals interact synergistically to increase bee mortality. **Nature**, v. 596, p. 389–392, 2021.

SOMBRA, Daiana da Silva. Suplementação alimentar de abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.) na região do semiárido. 2018. 99f. Tese (Doutorado em Ciência Animal: Sanidade e Produção Animal) – Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal Rural do Semiárido, Mossoró – RN, Brasil.

SOSTER, M. T. B.; LATORRE, A. N. Avaliação da fenologia das cultivares de macieira Imperatriz, Gala e Fuji em pomar em Bom Retiro – SC. **Revista Biotemas**, v. 20, p. 35–40, 2007.

SOUZA, D. C. *Apicultura: Manual do agente de desenvolvimento rural*. Revista Sebrae. Brasília, v. 2, p. 186, 2007.

STABLER, D. *et al.* Regulação da ingestão dietética de proteínas e lipídios por abelhas operárias adultas em idade de amamentar. **Journal of Experimental Biology**, v. 224, p. 1–9, 2021.

STANIMIROVIC, Z.; STEVANOVIC, J.; CIRKOVIC, D. Investigações de características reprodutivas, produtivas, higiênicas e de limpeza do ecotipo de abelha Syenichko-Peshterski. **Apidologie**, v. 34, p. 487–488, 2003.

STEINHAEUER, N.; KULHANEK, K.; ANTÚNEZ, K.; HUMAN, H.; CHANTAWANNAKUL, P.; CHAUZAT, M. P.; VANENGELSDORP, D. Drivers of colony losses. **Current Opinion in Insect Science**, v. 26, p. 142–148, 2018.

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

TRIPODI, A.; CIBILS-STEWART, X.; MCCORNACK, B. P.; SZALANSKI, A. L. *Nosema bombi* (Microsporidia: Nosematidae) and trypanosomatid prevalence in spring bumble bee queens (*Hymenoptera: Apidae: Bombus*) in Kansas. **Journal of the Kansas Entomological Society**, v. 87, n. 2, p. 225–233, 2014.

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

ULLAH, A.; SHAHZAD, M. F.; IQBAL, J.; BALOCH, M. S. Nutritional effects of supplementary diets on brood development, biological activities and honey production of *Apis mellifera* L. **Journal of Biological Sciences**, v. 28, n. 12, p. 6861–6868, 2021.

VARASSIN, I.; AMARAL-NETO, L. Atrativos. In: RECH, A.; AGOSTINI, K.; OLIVEIRA, P.; MACHADO, I. C. (org.). **Biologia da polinização**. Rio de Janeiro: Projeto Cultural, 2014.

VAUDO, A. D.; TOOKER, J. F.; PATCH, H. M.; et al. Proteína de pólen: proporções de macronutrientes lipídicos podem orientar padrões amplos de preferências florais de espécies de abelhas. **Insetos**, v. 11, n. 2, p. 132, 2020.

VIANA, G. A. Avaliação in vitro das atividades biológicas da apitoxina extraída de *Apis mellifera* do semiárido. 2015. Monografia (Graduação) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Pombal, 2015.

VIDAU, C.; PANEK, J.; TEXIER, C.; BIRON, D. G.; BELZÚNCES, L. P.; LE GALL, M.; BROUSSARD, C.; DELBAC, F.; EL ALAOUI, H. A análise proteômica diferencial do intestino médio de abelhas infectadas com *Nosema ceranae* revela a manipulação das principais funções do hospedeiro. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 121, p. 89–96, 2014.

WEBER, P. Determination of amino acids in food and feed by microwave hydrolysis and UHPLC-MS/MS. **Journal of Chromatography B**, v. 1209, p. 123429, 2022.

WEEKERS, T.; MARSHALL, L.; LECLERCQ, N.; WOOD, T. J.; CEJAS, D.; DREPPER, B.; GARRATT, M.; HUTCHINSON, L.; ROBERTS, S.; BOSCH, J.; ROQUER-BENI, L.; LHOMME, P.; MICHEZ, D.; MOLENBERG, J.; SMAGGHE, G.; VANDAMME, P.; VEREECKEN, N. J. Dados ecológicos, ambientais e de gestão indicam que a produção de maçãs é impulsionada pela diversidade de abelhas selvagens e práticas de gestão. **Ecological Indicators**, v. 139, 2022.

WIESE, H.; SALOMÉ, J. A. Nova apicultura. 10. ed. Guaíba: **Agrolivros**, 2020.

WITHERS, P. C. The effect of ambient air pressure on oxygen consumption of resting and hovering honeybees. **Journal of Comparative Physiology**, v. 141, p. 433-437, 1981.

WRIGHT, G. A.; NICOLSON, S. W.; SHAFIR, S. Nutritional physiology and ecology of honey bees. **Annual Review of Entomology**, v. 63, p. 327-344, 2018.

XIAO, F.; GUO, F. Impacts of essential amino acids on energy balance. **Molecular Metabolism**, v. 57, 101393, 2022.

ZANGIROLAMI, M. S.; SANTOS JUNIOR, O. O. Organization, nutritional needs and artificial supplementation for *Apis mellifera* bees. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 9, e22211931453, 2022.

ZHANG, Y.; SU, M.; WANG, L.; HUANG, S.; SU, S.; HUANG, W. F. *Vairimorpha* (*Nosema*) *ceranae* infection alters honey bee microbiota composition and sustains the survival of adult honey bees. **Biology**, v. 10, p. 905, 2022.

ZHOU, Y.; DANBOLT, N. C. Glutamate as a neurotransmitter in the healthy brain. **Journal of Neural Transmission**, v. 121, n. 8, p. 799–817, 2014.