



Universidade Federal do Pará
Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento Rural
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Amazônia Oriental
Universidade Federal Rural da Amazônia
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal

JOYCE CAROLINE DA SILVA TEIXEIRA

ESTUDO DE UMA ALIMENTAÇÃO ARTIFICIAL PROTEICA PARA *Melipona flavolineata* (Hymenoptera: Apidae)

Belém
2015

Joyce Caroline da Silva Teixeira

**Estudo de uma alimentação artificial proteica para *Melipona flavolineata*
(Hymenoptera: Apidae)**

Dissertação apresentada para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento Rural. Universidade Federal do Pará. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Amazônia Oriental. Universidade Federal Rural da Amazônia.

Área de concentração: Produção Animal

Orientador: Dr. Felipe Nogueira Domingues

Co-orientador: Dr. Cristiano Menezes

**Belém
2015**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFPA

Teixeira, Joyce Caroline da Silva, 1990-
Estudo de uma alimentação artificial proteica para
Melipona flavolineata (hymenoptera: apidae) / Joyce
Caroline da Silva Teixeira. - 2015.

Orientador: Felipe Domingues;
Coorientador: Cristiano Menezes.
Dissertação (Mestrado) – Universidade
Federal do Pará, Núcleo de Ciências Agrárias e
Desenvolvimento Rural, Programa de Pós-Graduação
em Ciência Animal, Belém, 2015.

1. Abelha sem ferrão – Alimentação e rações.
2. Abelha sem ferrão – Nutrição. 3. Nutrição
animal. 4. Melipona. 5. Soja. I. Título.

CDD 22. ed. 638.144

Joyce Caroline da Silva Teixeira

**Estudo de uma alimentação artificial proteica para *Melipona flavolineata*
(Hymenoptera: Apidae)**

Dissertação apresentada para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento Rural. Universidade Federal do Pará. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Amazônia Oriental. Universidade Federal Rural da Amazônia.

Área de concentração: Produção Animal.

Data da aprovação. Belém - PA: ____/____/____

Banca Examinadora



Dr. Cristiano Menezes
Embrapa Amazônia Oriental



Dr. Giorgio C. Venturieri
Embrapa Amazônia Oriental



Dr. Felipe A. L. Contrera
Universidade Federal do Pará

Dr. Felipe Nogueira Domingues
Universidade Federal do Pará

Dedico este trabalho à Deus e aos meus pais

AGRADECIMENTOS

À Deus pelo seu amor e misericórdia e por ser o fundamento de tudo, sem Ele nada teria sentido.

À UFPA e Embrapa Amazônia oriental pelo apoio institucional

Ao Dr. Cristiano Menezes pela orientação (na graduação e no mestrado), pela dedicação ao me orientar, por partilhar seus conhecimentos, pela amizade, paciência, pela atenção nos inúmeros momentos que precisei e pelos ricos conselhos.

Ao Dr. Felipe Domingues pela oportunidade e auxílio durante o mestrado.

À Dra. Alessandra Ferraiolo pela orientação nas análises físico-químicas.

Ao Dr. Felipe Contrera pela amizade e por partilhar os seus conhecimentos que muito contribuíram com a minha formação.

Ao Dr. Giorgio Venturieri por em 2008 ter me recebido na Embrapa e desde então contribuir com a minha formação, obrigada por sua amizade, pelos ensinamentos e conselhos.

Aos meus pais pelo amor, confiança, apoio incondicional principalmente nos últimos 10 anos que estive longe de casa, obrigada por compreender a minha rotineira ausência e meu estresse em muitos momentos, obrigada por serem o meu exemplo de pessoas trabalhadoras, simples, honestas, amáveis, excelentes profissionais (na educação e na ciência agrária), e em especial por terem me dado um lindo exemplo de família.

Aos meus irmãos (Joelly, Carla, Wilson, Humberto e Maria) pelo amor e carinho (eu sei que são os melhores irmãos do mundo, muito obrigada por tudo).

Ao Alix Ribeiro pela maravilhosa companhia na caminhada religiosa e universitária, por ser esse amigo e namorado tão dedicado e agradeço em especial pelo apoio constante na realização deste trabalho (os finais de semana no laboratório seriam mais difíceis sem ele).

Ao Douglas Schwanke e ao professor Arnaldo Pantoja que juntos me apresentaram e me iniciaram no incrível universo das abelhas.

Aos professores Armando, Carlos e demais instrutores do Sebrae pelas maravilhosas aulas de Apicultura.

Aos amigos apicultores e meliponicultores pelos conhecimentos partilhados e por suas amizades.

Aos meus amigos abelhudos seu Lourival (ajuda imprescindível na logística, muito obrigada por todas as caronas), José Alves, Janete, Elizangela especialmente à Carol,

Kamila e Jamille por fazer as correções iniciais, me ajudar com a estatística e pelas críticas construtivas, agradeço também aos mais novos abelhudos Thaline e Daniel. Abelhudos muito obrigada pela valiosa contribuição e amizade de cada um de vocês.

Aos amigos do laboratório de agroindústria dona Conceição, dona Ana, Lorena, Amanda, Rodrigo, Sérgio, Igor, Daniel, Adriano, Karina, Juliana, Mozaniel e Heloisa, pela convivência e por me ajudar a entender uma pequena parte das análises físico-químicas.

Aos amigos do Ministério Universidades Renovadas por sonharem comigo a construção de um mundo melhor, sendo profissionais do reino de forma a servir a sociedade com a capacidade e o amor que Deus plantou no nosso coração. “A fé e a razão são duas asas que nos elevam para o Céu”.

Aos amigos da casa dos estudantes, obrigada pela companhia de cada um e por ser a minha família de Belém (fechei a vida de nômade com chave de ouro, pois essa será minha última república) obrigada por tudo queridos;

À capes pela concessão da bolsa;

Ao Cnpq pelo apoio financeiro no projeto de pesquisa;

À todos que de alguma forma contribuíram para a realização do trabalho.

RESUMO

A meliponicultura tem avançado consideravelmente nos últimos anos e, como consequência, aumentaram as demandas por colônias. Entretanto as técnicas de produção precisam ser aprimoradas para atingir a escala necessária. A alimentação das abelhas é uma das técnicas que precisam ser estudadas, pois existem longos períodos de escassez de florada, o que reduz a disponibilidade de alimento para as abelhas e limita a produção de colônias. O presente trabalho teve como objetivo estudar uma alimentação artificial proteica para *Melipona flavolineata*. Foi investigado a composição nutricional do alimento natural (pólen estocado) e artificial (a base de extrato de soja), seus efeitos sobre a sobrevivência e tamanho dos imaturos e longevidade dos adultos. O alimento artificial apresentou composição nutricional diferente à composição nutricional do pólen (alimento natural). O alimento artificial é mais rico em carboidratos e lipídeos, porém mais pobre em proteínas. Contudo, a diferença não afetou a sobrevivência e tamanho dos indivíduos imaturos; foi afetada somente a longevidade dos indivíduos adultos. É recomendado que nas próximas fabricações, seja reduzida a quantidade de açúcar e adicionado ingredientes com teor de proteína mais elevado. A dieta a base de extrato de soja se mostrou um bom substituto para o pólen, mas não perfeito. Pequenos ajustes de ingredientes podem ser direcionados a partir dos resultados desse trabalho para se chegar a um alimento de melhor qualidade.

Palavras chaves: Abelhas sem ferrão. Nutrição. Extrato de soja. Pólen.

ABSTRACT

The stingless bee keeping has been improved considerably in the last years and, consequently, the demand for colonies has increased. However, the breeding techniques still need to be improved to reach the necessary production scale. The feeding system is one of the issues that must be studied and improved, because long periods of low availability of food resources constraint the production of new colonies. The present study aimed to test an artificial diet to replace the pollen for *Melipona flavolineata*. It was investigated the nutritional composition of their natural food (stored pollen) and of the artificial diet (based on soybean extract). The effect of the artificial diet was tested at the survival and size of brood and longevity of adult workers. The artificial diet presented a different nutritional composition compared to the stored pollen. It was richer in carbohydrates and lipids, but poorer in proteins. However, this difference did not affect the survival and size of brood; it affected the longevity of adult workers, but not drastically. It is recommended to reduce the amount of sugar and to add new ingredients with higher protein content in future diets. The diet based on soybean extract showed to be a good substitute for pollen, but not perfect. Small changes can be addressed based on the results of the present contribution to reach an artificial diet with better quality.

Key words: Stingless bees. Nutrition. Soy extract. Pollen.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 01** - Ilustração interna de uma colônia de abelha sem ferrão do gênero *Melipona*.....15
- Figura 02** - Operárias de *Melipona flavolineata*.....23
- Figura 03** –Marcação no favo de cria formado nas duas semanas do confinamento.....29
- Figura 04** - Ilustração do retângulo formado no favo de cria para análise de sobrevivência dos indivíduos imaturos.....30
- Figura 05.** Variação entre as amostras de pólen em cada parâmetro analisado.....33
- Figura 06.** Rastreamento dos alimentos desde o provisionamento, postura e desenvolvimento do indivíduo.....36
- Figura 07:** Comparação do número de indivíduos imaturos que conseguiram viver até a fase adulta, provisionados a partir do alimento natural (pólen) e do alimento artificial à base de soja.....37
- Figura 08.** Curvas da longevidade dos indivíduos adultos que consumiram o alimento natural e o alimento artificial à base de soja.....38

LISTA DE TABELAS

Tabela 01: Resultados das análises de composição centesimal e pH do alimento natural de *M. flavolineata* (pólen fermentado) liofilizado e do alimento artificial fermentado liofilizado. Dados em Média, desvio padrão, valor do teste e valor de p.....34

Tabela 02: Resultados das análises de composição centesimal e pH do alimento artificial não fermentado e do alimento artificial fermentado, considerando o teor de umidade retirado na liofilização. Dados em Média, desvio padrão, valor do teste e valor de p.....34

Tabela 03: Comparação estatística do tamanho dos indivíduos alimentados desde ovo até adulto, com a alimentação natural e com a alimentação artificial.....37

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1 ALIMENTAÇÃO ARTIFICIAL	17
3. METODOLOGIA.....	21
4.1 ÁREA E PERÍODO DE ESTUDO	21
4.2 DESCRIÇÃO DA ESPÉCIE ESTUDADA	21
4.3 ORIGEM E PROCESSAMENTO DO ALIMENTO NATURAL USADO NOS EXPERIMENTOS.....	22
4.4 ORIGEM E PROCESSAMENTO DO ALIMENTO ARTIFICIAL USADO NOS EXPERIMENTOS.....	22
4.5 EXPERIMENTO 1 – ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO ALIMENTO NATURAL, ALIMENTO ARTIFICIAL NÃO FERMENTADO E ALIMENTO ARTIFICIAL FERMENTADO.....	23
4.5.1 Processamento das amostras	23
4.5.2 Análise de umidade.....	24
4.5.3 Análise de cinzas	24
4.5.4 Análise de lipídios	24
4.5.5 Determinação de pH.....	25
4.5.6 Análise de fibra	25
4.5.7 Análise de proteína	25
4.5.8 Análise de carboidratos totais	26
4.5.9 Análise estatística.....	26
4.6 EXPERIMENTO 2 – EFEITO DA ALIMENTAÇÃO ARTIFICIAL SOBRE A SOBREVIVÊNCIA DOS IMATUROS E TAMANHO DOS INDIVÍDUOS PRODUZIDOS.....	26
4.7 EXPERIMENTO 3 – EFEITO DA ALIMENTAÇÃO ARTIFICIAL SOBRE A LONGEVIDADE DOS INDIVÍDUOS ADULTOS.....	30
5.1 COMPARAÇÃO ENTRE A COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO ALIMENTO NATURAL DE <i>M. FLAVOLINEATA</i> (PÓLEN) E ALIMENTO ARTIFICIAL À BASE DE SOJA.....	31
5.2 COMPARAÇÃO ENTRE A COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO ALIMENTO ARTIFICIAL À BASE DE SOJA ANTES E DEPOIS DA FERMENTAÇÃO.....	33
5.3.1 Sobrevivência dos imaturos	34
5.3.2 Tamanho dos indivíduos recém-emergidos.....	35

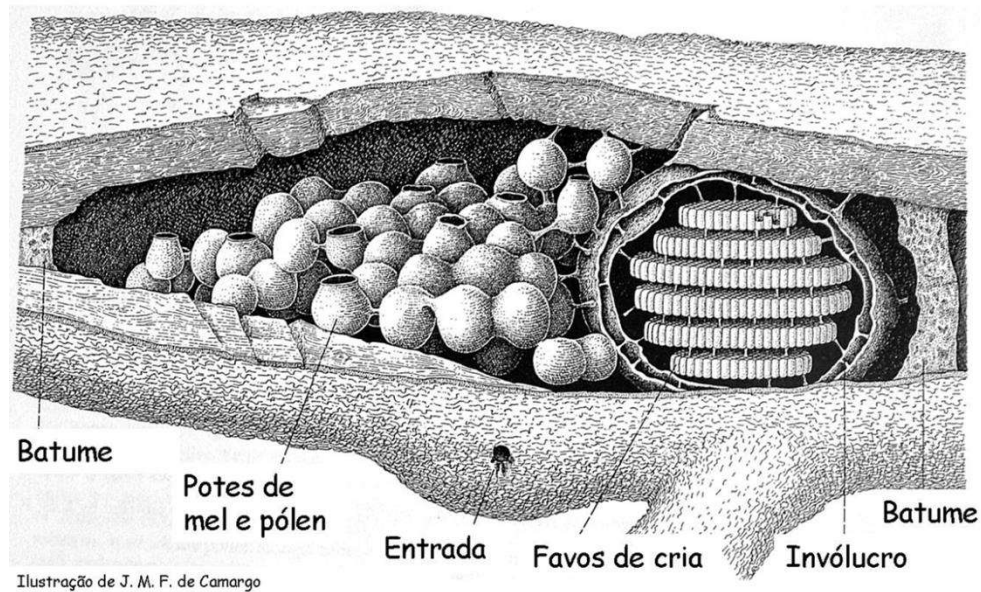
5.3.3 Efeito do alimento sobre a longevidade dos indivíduos adultos	36
6. DISCUSSÃO	38
7. CONCLUSÃO.....	45
REFERÊNCIAS	46

1. INTRODUÇÃO

As abelhas indígenas sem ferrão são insetos eusociais, com indivíduos organizados em castas (zangão, rainha e operárias), com divisão de trabalho intracolônia e com sobreposição de gerações (MICHENER, 1974). Pertencem à ordem Hymenoptera, à superfamília Apoidea, são agrupadas na família Apidae e na subfamília Apinae que é composta por quatro tribos: Apini, Bombini, Euglossini e Meliponini (MICHENER, 2007). A tribo Meliponini, conhecida popularmente por meliponíneos ou abelhas indígenas sem ferrão, é distribuída nos ambientes tropicais e subtropicais do globo terrestre (MICHENER, 2013). Aproximadamente 600 espécies de meliponíneos de diversos tamanhos e formas foram identificadas; deste total, cerca de 391 espécies encontram-se nas regiões Neotropicais (SILVEIRA; MELO; ALMEIDA, 2002).

A população de uma colônia de abelhas indígenas sem ferrão é formada por abelhas adultas, imaturos (ovos, larvas e pupas), uma única rainha fisogástrica (ALVES et al., 2010) e machos jovens. A estrutura física é composta por um ninho geralmente envolto por invólucro, potes de armazenamento de alimento (fabricados com cerume - mistura de cera e resina vegetal), e batume (mistura de resina vegetal e barro) ou própolis, um substrato que veda as frestas da colônia. As colônias geralmente são abrigadas em ocos de árvores, no solo ou outros ocos pré-existentes na natureza e podem ser criadas em caixas adaptadas para cada espécie (NOGUEIRA-NETO, 1997).

Figura 01 - Ilustração interna de uma colônia de abelha sem ferrão do gênero *Melipona*.



A criação das abelhas sem ferrão foi nomeada de Meliponicultura por Nogueira-Neto (1953). No Brasil, foi iniciada pelos povos indígenas, como a tribo Kayapó, que gerou amplo conhecimento sobre a biologia e comportamento das abelhas, difundindo-as no Norte do país. Os conhecimentos indígenas foram transferidos às comunidades tradicionais, que iniciaram a atividade para complemento ou alternativa de renda familiar (CORTOPASSI- LAURINO et al., 2006; CAMARGO; POSEY, 1990).

A criação de abelhas indígenas pode ser destinada à vários fins. Os diferentes gêneros e espécies são amplamente diversos e com inúmeras especialidades de produção. São eficientes na produção de mel, própolis, pólen, na polinização de diversas culturas agrícolas economicamente importantes e podem ser usadas como ferramenta de educação ambiental (CORTOPASSI- LAURINO et al., 2006, YAMAMOTO; AKATSU; SOARES, 2007, FREITAS et al., 2007; SÁ; PRATO, 2007, MAGALHÃES; VENTURIERI, 2010).

O conjunto de produtos da criação de abelhas sem ferrão tem promovido o crescimento da atividade e em consequência o surgimento de novas demandas de colônias, principalmente para polinização agrícola. Cerca de 30 culturas agrícolas economicamente importantes poderiam ser beneficiadas pela polinização por abelhas sem ferrão (HEARD, 1999; CASTRO et al., 2006; SLAA et al., 2006), e para isso demandarão grandes quantidades de colônias. Em diversos países são comercializadas ou alugadas milhões de colônias de abelhas para polinização agrícola e este serviço é uma importante fonte de renda para os criadores de abelhas que as alugam ou empresas que as produzem (Velthuis, 2002; Velthuis;

Van Doorn, 2006). O serviço de polinização no Reino Unido, por exemplo, gera um faturamento anual em torno de 440 milhões de libras (POTTS et al., 2010).

O Brasil também tem potencial de produzir e comercializar as colônias para polinização agrícola. Entretanto as técnicas de produção precisam ser aprimoradas para atingir a escala necessária. A alimentação das abelhas é uma das técnicas que precisam ser estudadas, pois existem determinados períodos de escassez de florada, o que reduz a disponibilidade de alimento para as abelhas e limita a produção de colônias (PEREIRA et al., 2006). As abelhas necessitam basicamente de dois tipos de alimento que é o mel e o pólen. O mel, que é a fonte de açúcares, pode ser facilmente substituído por solução de açúcar. Mas o pólen, que é a fonte de proteínas, lipídeos, vitaminas e minerais, ainda precisa de mais estudos para ser plenamente substituído.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

As abelhas são consideradas visitantes florais por excelência, coletam nas flores seu alimento que será consumido desde a fase larval à adulta (KLEINERT et al., 2009), exceto a espécie *Trigona hypogea* que coleta seu alimento em carcaças de animais (ROUBIK, 1989; NOLL, 1997; MATEUS; NOLL, 2004). Os alimentos das abelhas são basicamente mel e pólen (NOGUEIRA-NETO, 1997).

O mel é originado do néctar e é fonte de carboidratos, lipídios, hidratos de carbono, enzimas, aminoácidos, ácidos orgânicos, minerais e substâncias aromáticas (MARCHINI; SODRÉ; MORETI, 2005). Porém, o principal nutriente para as abelhas proveniente do mel são os açúcares, muito usado pelas forrageiras como fonte de energia.

O pólen é a estrutura reprodutora masculina da planta, é encontrado nas anteras das flores (MURADIAN et al., 2005). Os grãos de pólen possuem diversas formas, diâmetro de 6 a 200µm, cores que variam do branco, amarelo, laranja, vermelho e tons mais escuros, de acordo com a origem botânica (SCHMIDT; BUCHMANN, 1992; MURADIAN et al., 2005). É composto por proteínas, açúcares, fibras, lipídeos, sais minerais, aminoácidos e vitaminas. A composição nutritiva varia de acordo com a espécie botânica, fisiologia e condições edafoclimáticas (ZUCOLOTO, 1994; SOUZA et al., 2004).

Para coletar o pólen as abelhas forrageiras raspam ou vibram as anteras e misturam os grãos com néctar, organizando-os na corbícula em um pequeno aglomerado, que é transportado até a colônia e depositado pelas forrageiras em potes específicos, separado do

mel. Apesar de o pólen ser rico em proteínas e possuir outros nutrientes importantes para as abelhas, eles não estão completamente disponíveis (ROULSTON; CANE, 2000). Para disponibilizar os nutrientes as paredes do pólen precisam ser quebradas (pré-digestão) pelos microrganismos (GILLIAM; ROUBIK; LORENZ, 1990). Os alimentos são armazenados no interior da colônia em potes de cerume (FREITAS, 2003), onde são pré-digeridos por ação microorgânica, e consumido de acordo com as necessidades da colônia.

O pólen é a principal fonte de proteínas das abelhas, é usado especialmente pelas operárias nutrizas para produção de alimento larval e na alimentação da rainha (NOGUEIRA-NETO, 1997; BRAND, 2011). O consumo de pólen pelas operárias é muito elevado após emergirem para que assim ocorra o desenvolvimento das glândulas mandibulares e hipofaríngeas, que serão demandadas para produção do alimento larval (CRUZ-LANDIM; AKAHIRA, 1966). As operárias nutrizas ingerem o pólen dos potes e adicionam produtos glandulares para produzir o alimento larval líquido (ZERBO; SILVA de MORAES, 1996; ZERBO; SILVA DE MORAES; BROCHETTO-BRAGA, 2001).

Diferente de *Apis* e *Bombus*, nas abelhas sem ferrão todo o alimento que os imaturos irão precisar para o seu desenvolvimento são fornecidos antes da postura do ovo, pois após a postura a célula é fechada (SAKAGAMI; ZUCCHI, 1963; MICHENER, 1974; ROUBIK, 1989). A composição do alimento larval das abelhas sem ferrão é geralmente 40-60% de água, 5-12% de açúcares, 15-30% de pólen (1,1-19,4% de proteínas e 0,2-1,3% de aminoácidos livres) (HARTFELDER; ENGELS, 1989). Este composto fornece os nutrientes necessários ao desenvolvimento dos imaturos (ROUBIK, 1989; ELTZ; BRUHL; GORKE, 2002; BRODSCHNEIDER; CRAILSHEIM, 2010).

Durante seus estágios de vida, as abelhas requerem nutrientes básicos como carboidratos e lipídios (nutrientes não essenciais), aminoácidos, vitaminas e sais minerais (nutrientes essenciais) (PANIZZI; PARRA, 2009). As abelhas adultas são dependentes do carboidrato estocado na colônia e não sobrevivem por longo período sem este, pois ao contrário das larvas elas não possuem reservas de carboidratos em seus corpos (CRAILSHEIM et al., 1993). Barker e Lehner (1974) corroboram esta informação ao afirmar que as abelhas adultas possuem baixos níveis de glicogênio, e quando necessitam de energia para as atividades buscam-na em reservas de mel da colônia. O lipídeo requerido pelas abelhas é composto por ácidos graxos, esteróis e fosfolipídios. O ácido graxo é fundamental na estrutura da membrana celular dos insetos (SOMERVILLE, 2005). São importantes fontes de energia para as abelhas e o metabolismo destes ocorre no estágio larval (BRODSCHNEIDER; CRAILSHEIM, 2010).

O requerimento de proteína é de aproximadamente 20-25%. São formadas por vários aminoácidos que são essenciais para o crescimento e desenvolvimento das abelhas (SOMERVILLE, 2005). Os aminoácidos necessários são arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano e valina, os demais aminoácidos podem ser sintetizados a partir destes (SOMERVILLE, 2005). Segundo Brodschneider e Crailsheim (2010) para o crescimento das larvas a vitamina C (ácido ascórbico) também é de fundamental importância. Diversas vitaminas e minerais são importantes para o crescimento e desenvolvimento das abelhas, porém poucas pesquisas foram realizadas para saber de que forma cada substância é usada. Acredita-se que diversas vitaminas sejam usadas principalmente na fase imatura, pois em *Apis mellifera* as abelhas nutrizas ao produzir geléia real necessitam de vitaminas do complexo B, tiamina, ácido pantotênico, riboflavina, nicotinamida, ácido fólico e biotina (BRODSCHNEIDER; CRAILSHEIM, 2010). As vitaminas e minerais precisam estar em pequenas concentrações no alimento, pois em níveis elevados podem tornar-se tóxicos para as abelhas (SOMERVILLE, 2005). A alimentação precisa estar balanceada, para ser fornecida em quantidades e qualidades satisfatórias ao desenvolvimento normal dos indivíduos. Pois larvas subalimentadas originam indivíduos menos desenvolvidos e mais susceptíveis à doenças (FOLEY et al., 2012).

2.1 ALIMENTAÇÃO ARTIFICIAL

É importante a ingestão de alimentos que supram os requerimentos nutricionais das abelhas. A alimentação inadequada pode interferir no desenvolvimento dos instares iniciais e juvenis dos indivíduos e refletirá no amadurecimento, com o retardo ou declínio da formação glandular, ovariana e ou de outros órgãos em geral. As larvas mal nutridas terão desenvolvimento retardado, e provavelmente não desenvolverão as glândulas de forma adequada. O impacto ou detrimento na fisiologia das abelhas, afeta diretamente o desenvolvimento da colônia, pois reduz a produção de alimento larval, de alimento para a rainha, número de crias, construção do invólucro, defesa contra os inimigos e em consequência reduz a saúde da colônia (CRUZ- LANDIM, 2009).

O armazenamento de pólen na colônia é relativamente pequeno, portanto os estoques rapidamente acabam em períodos de pouco forrageio ou em falta de flores no ambiente (SCHMICKL; CRAILSHEIM, 2002). Nas épocas em que a floração das plantas é reduzida, torna escassos os recursos alimentares das abelhas (NUNES- SILVA; HNR CIR; IMPERATRIZ-FONSECA, 2010). Nestas épocas, as colônias adotam estratégias para

economizar alimento, como redução na quantidade de alimento fornecido à cria, redução da taxa de postura e da população da colônia, redução das atividades externas (RAMALHO et al, 1990; MENEZES 2010; VEIGA et al, 2012; GOMES et al 2014). Conseqüentemente, as colônias enfraquecem nesse período. Por isso, as colônias manejadas para fins de produção comercial necessitam de alimentação artificial.

A recomendação do reforço alimentar para as abelhas foi estabelecida somente para a alimentação energética com uso de xarope (solução de água e açúcar) em variadas proporções (NOGUEIRA-NETO, 1997; PEREIRA et al., 2006). No entanto, a alimentação proteica também é necessária para a manutenção da saúde e desenvolvimento da colônia. Na apicultura, por exemplo, quando os enxames não são suplementados com alimento artificial, necessitam de um período de fortalecimento de pelo menos 50 dias após o início da floração, o que causa prejuízo aos apicultores (RAAD, 2002).

Segundo Dias et al. (2010) em *Melipona subnitida* os favos de cria são maiores, quando a colônia é subsidiada com alimento proteico artificial, demonstrando que o subsídio alimentar é uma ferramenta efetiva no desenvolvimento das colônias. O alimento artificial precisa conter nutrientes essenciais e não essenciais (carboidratos, lipídios, esteróis, proteínas, vitaminas e sais minerais) em níveis satisfatórios para realizar o metabolismo e desenvolvimento das abelhas (PANIZZI; PARRA, 2009). O reforço alimentar deve ser realizado com o uso de alimentos de alto valor proteico e com provável ingestão pelas abelhas.

O estudo sobre alimentação proteica em meliponíneos iniciou em 1975, quando Zucoloto avaliou o valor nutricional de pólen armazenado em colônias de *Apis mellifera*, *M. quadrifasciata*, e *Friseomelitta varia* para alimentação de *Scaptotrigona postica*. Segundo Zucoloto o pólen de *Friseomelitta varia* não foi aceito por *S. postica*, e não apresentou sinais de fermentação, podendo ser esta a razão da rejeição. Posteriormente, Camargo (1976) começou a elaborar um alimento proteico artificial, contendo pólen de *Typha dominguensis* (taboa), mel e pólen fermentado da espécie que iria receber o alimento proteico artificial. O alimento preparado foi fermentado de 10 à 15 dias em reservatório coberto com gaze, em temperatura de 28 à 32°C. Segundo a autora o processo de fermentação é necessário para que o alimento seja aceito pelas abelhas.

Foram realizadas outras receitas com uso do levedo de cerveja (25%) misturado ao pólen (75%) da própria espécie, apresentou resultados satisfatórios ao desenvolvimento das glândulas hipofaríngeas e dos ovários das abelhas de *S. postica* (PENEDO; TESTA; ZUCOLOTO, 1976). Algumas receitas também foram testadas por Fernandes-da-Silva e

Zucoloto (1990), receita 1) pólen da própria espécie mais solução de sacarose 50% (receita controle); receita 2) leveduras mais solução de sacarose (50%); receita 3) 1,5g de pólen coletado de *S. depilis*, misturado a 20g de levedura e 30ml de sacarose, fermentado por 15 dias; receita 4) os mesmos ingredientes da receita 3, porém sem o processo de fermentação. Os autores observaram que as receitas 1, 3 e 4 apresentaram resultados satisfatórios ao desenvolvimento das glândulas hipofaríngeas. Diversas outras receitas foram comparadas para alimentar *S. postica*, e a que apresentou melhor resultado foi a mistura de 18% de levedo de cerveja e 82% de sacarose (ZUCOLOTO, 1977).

Estudo investigando o uso de beemix (suplemento de aminoácido) na alimentação de *M. subnitida*, revelou alto valor proteico e satisfatória aceitação do alimento pelas abelhas, porém o suplemento possui custo elevado (DIAS et al., 2010). Costa e Venturieri (2009) investigaram o uso de pólen apícola, suplemento de aminoácido, levedo e extrato de soja na alimentação de *M. flavolineata*. Identificou que o pólen apícola possui alto valor proteico, mas seu custo no mercado é elevado. Já o levedo tem custo reduzido em comparação aos demais produtos, porém é pouco aceito pelas abelhas. Enquanto que o extrato de soja tem custo reduzido, boa aceitação pelas abelhas e considerável valor proteico (COSTA; VENTURIERI, 2009; PIRES; VENTURIERI; CONTRERA, 2009 e DIAS et al., 2010).

Estes estudos identificaram que, dentre todas as alternativas, o extrato de soja tem maior viabilidade de uso na alimentação artificial. Além de as abelhas aceitarem o alimento e ele possuir custo relativamente baixo, foram observados resultados satisfatórios no desenvolvimento glandular e ovariano nas operárias alimentadas artificialmente à base de extrato de soja (COSTA, VENTURIERI, 2009; PIRES, VENTURIERI, CONTRERA, 2009).

As receitas à base de extrato de soja foram elaboradas com ingredientes ricos em proteínas, mas outros elementos como carboidratos, lipídeos, cinzas e umidade precisavam ser considerados. Apesar de terem apresentado bons resultados de aceitação e desenvolvimento glandular e ovariano das abelhas, não era conhecida a composição centesimal e pH do alimento artificial. Conhecer a composição centesimal e pH do alimento artificial é importante para comparar com a composição e pH do pólen, e assim verificar não só no teor de proteína, mas nos diversos elementos se o alimento artificial se assemelha ao natural.

Os trabalhos avaliaram se a dieta era nutritiva por meios indiretos, ou seja, por meio do desenvolvimento de glândulas e ovários. Os métodos são válidos e foram importantes para as avaliações e aperfeiçoamento inicial do alimento, mas existem poucas informações sobre o efeito desse alimento artificial na colônia como um todo. Apesar de os indivíduos terem apresentado desenvolvimento glandular adequado com o alimento artificial, ele poderia não

ser satisfatório em outros aspectos como no desenvolvimento dos imaturos e longevidade dos adultos. Assim, é necessário investigar a composição nutricional, os efeitos da fermentação sobre o alimento artificial e os efeitos dele sobre a sobrevivência e tamanho dos imaturos, bem como sobre a longevidade dos adultos.

OBJETIVOS

- Analisar a composição físico-química do alimento artificial e comparar com a composição físico-química do alimento natural
- Investigar se a fermentação eleva os teores de alguns nutrientes no alimento artificial
- Estudar os efeitos da alimentação artificial sobre a sobrevivência e desenvolvimento dos indivíduos imaturos e na longevidade dos indivíduos adultos.

3. METODOLOGIA

4.1 ÁREA E PERÍODO DE ESTUDO

O estudo foi realizado na área do laboratório de Botânica da Embrapa Amazônia Oriental (1°26'11.52"S, 48°26'35.50"W) em Belém do Pará-Brasil. Esta região é semi-urbana, rodeada por manchas de mata e possui clima *Af*, de acordo com a classificação de Köppen-Geiger (PEEL; FINLAYSON; MCMAHON, 2007). O estudo foi realizado no período de fevereiro de 2013 até novembro de 2014. Para tal, utilizamos na Embrapa em 2 meliponários coletivos, cerca de 45 colônias de *Melipona flavolineata* provenientes da cidade de Igarapé-açu-PA e Inhangapi-PA.

4.2 DESCRIÇÃO DA ESPÉCIE ESTUDADA

Foi usada como modelo experimental a espécie *Melipona flavolineata*, conhecida popularmente como urucu amarela. É uma abelha dócil, mas colônias fortes podem ser agressivas necessitando usar um véu para proteger o rosto. São resistentes ao manejo com população que varia de 1000 a 1400 operárias adultas. Produz mel ácido, com considerável atividade antioxidante (OLIVEIRA et al., 2012) e o pólen estocado nas colônias apresenta fortes traços de fermentação. As colônias de *M. flavolineata* ocorrem nos Estados do Ceará, Maranhão, Pará e Tocantins (CAMARGO; PEDRO, 2013). Esta espécie foi usada como modelo experimental por causa de sua importância econômica na região Nordeste do estado do Pará (VENTURIERI et al, 2003; MAGALHÃES e VENTURIERI, 2010) e porque tem sido utilizada como modelo experimental em outros estudos sobre alimentação artificial (COSTA; VENTURIERI, 2009).

Figura 02 - Operárias de *Melipona flavolineata*.



Fonte: Cristiano Menezes.

4.3 ORIGEM E PROCESSAMENTO DO ALIMENTO NATURAL USADO NOS EXPERIMENTOS

Foi usado como alimento natural (controle) pólen fermentado estocado em colônias de *M. flavolineata*. Na investigação da sobrevivência dos indivíduos imaturos, do tamanho dos indivíduos recém-emergidos e longevidade dos indivíduos adultos, o pólen usado foi retirado de colônias de *M. flavolineata* da região metropolitana de Belém-PA. Este pólen não sofreu nenhum processamento, foi retirado da colônia, armazenado em pote fechado e acondicionado em geladeira até o momento dos experimentos. O pólen usado para as análises físico-química foi retirado de colônias de *M. flavolineata* de 3 localidades diferentes (região metropolitana de Belém-PA, Muaná-PA e Curuçá-PA). O pólen de cada localidade foi analisado em triplicata.

4.4 ORIGEM E PROCESSAMENTO DO ALIMENTO ARTIFICIAL USADO NOS EXPERIMENTOS

O alimento artificial à base de extrato de soja foi produzido com base nos estudos de Camargo, (1976); Zucoloto, (1975), (1976); Costa, Venturieri (2009); Pires, Contrera, Venturieri, (2009), com algumas modificações. O alimento contém 500g de extrato de soja, 500ml de sacarose diluída e 50g de pólen fermentado de *M. flavolineata* coletado a partir dos potes da colônia e usado imediatamente. No preparo do alimento a sacarose foi diluída em água sob aquecimento; em um recipiente grande foi homogeneizada a sacarose diluída aos 500g de extrato de soja; quando a temperatura reduziu para aproximadamente 30°C foi acrescido 50g de pólen fermentado de *M. flavolineata*. O recipiente foi fechado para evitar a entrada de forídeos e mantido em estufa à 28°C; o alimento foi fermentado em um período de 15 dias, manipulado diariamente para homogeneização e aeração da massa.

O extrato de soja foi selecionado por possuir alto teor de proteína (30g de extrato de soja contém 14g de proteína de acordo com informações do fabricante (marca mãe terra) e apresentar custo relativamente baixo (em supermercados 500g é comercializado por aproximadamente R\$8,00). O pólen fermentado foi usado para inocular os microrganismos naturais da própria espécie de abelha e promover a fermentação. A sacarose diluída foi usada para dar consistência pastosa e para promover um meio de cultura satisfatório ao crescimento dos microrganismos e fermentação do extrato de soja.

4.5 EXPERIMENTO 1 – ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO ALIMENTO NATURAL, ALIMENTO ARTIFICIAL NÃO FERMENTADO E ALIMENTO ARTIFICIAL FERMENTADO.

4.5.1 Processamento das amostras

As análises de composição físico-química das 3 amostras independentes do alimento natural (pólen) e 3 amostras independentes do alimento artificial à base de soja, antes e depois do processo de fermentação (ver detalhes sobre a origem e processamento das amostras na seção anterior) foram realizadas em triplicata. Foi necessário liofilizar as amostras para realização das análises principalmente de umidade e cinzas. Antes da liofilização, as amostras foram congeladas nas bandejas do liofilizador em câmara fria (-2°C) por 48h. Posterior ao processo de congelamento e preparo inicial do liofilizador, as bandejas foram acopladas ao equipamento e iniciado o processo de liofilização por 26h corridas. A desidratação por liofilização retirou em média 45% de água das 3 amostras de pólen, 43,90% de água das 3 amostras do alimento artificial não fermentado e 41,50% de água das 3 amostras do alimento

artificial fermentado. Ao término do processo todas as amostras foram trituradas e armazenadas em frascos de amostras.

Posterior ao preparo das amostras procedeu-se as análises da composição centesimal (umidade, cinzas, lipídeos, fibras, proteínas e carboidratos) e análise do pH. As metodologias usadas para as análises físico-químicas estão descritas em Instituto Adolfo Lutz (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). Os dados de cada análise foram recalculados considerando o teor de umidade retirado no processo de liofilização. Foi necessário recalcular os dados para facilitar a comparação com a literatura.

4.5.2 Análise de umidade

A metodologia utilizada foi perda de umidade por dessecação. Em um cadinho tarado (aquecido em mufla a 550°C por 1h, resfriado em dessecador até a temperatura ambiente e pesado) foi pesado 1,5g de amostra liofilizada; levado para estufa a 105°C por 4h, armazenado em dessecador para resfriar; depois pesado o cadinho com a amostra seca; a operação foi repetida duas vezes para obter resultado final.

4.5.3 Análise de cinzas

Foi utilizada a metodologia de resíduo por incineração para verificar o teor de cinzas das amostras. No cadinho preparado conforme descrito na metodologia de umidade, foi pesado 1,5g de amostra e incinerado em mufla inicialmente em temperatura baixa, elevando-a até 550°C por 4h. Foram repetidas duas vezes as operações de incineração e resfriamento para obter o resultado final.

4.5.4 Análise de lipídios

Foi utilizada a metodologia de extração de lipídeos em aparelho de soxhlet e éter de petróleo como solvente. Foi pesado 3g de amostra em papel filtro e transferido para o extrator tipo soxhlet. Acoplado o extrator ao balão de fundo chato previamente tarado a 105°C. Posteriormente adicionado éter de petróleo em quantidade suficiente para um extrator e meio. A extração foi realizada por 8h sobre uma bateria acoplada ao banho de água fria. Ao final da extração, foi recuperado o éter de petróleo, retirado do extrator o papel filtro com amostra, desacoplado o extrator do balão de fundo chato e levado o balão de fundo chato para estufa a

105°C por 1h para evaporar todo o restante de éter, deixando somente o lipídeo encontrado na amostra. Após sair da estufa o balão foi resfriado em dessecador por aproximadamente 30 minutos, pesado e realizado os cálculos para saber o teor de lipídios encontrado na amostra.

4.5.5 Determinação de pH

Foi determinado o pH utilizando a metodologia eletrométrica, usando um medidor de pH elétrico, previamente calibrado com soluções tampões de pH 4 e 7. Posteriormente foi pesado 1g de amostra liofilizada, diluído em 50 ml de água destilada e homogeneizado com agitador magnético e imã. Após o preparo da amostra, foi inserido o medidor de pH na solução e realizado a leitura.

4.5.6 Análise de fibra

Foi analisado o teor de fibras por detergente ácido (FDA), depois de pesado $\cong 3$ g de amostra seca em frasco de refluxo, foi acrescentado 100 ml de detergente ácido e aquecido até ebulição por 10 minutos; posteriormente aquecido sob refluxo por 60 minutos com ebulição fraca. Em seguida realizado filtragem com mínimo de vácuo em cadinho previamente tarado, foi adicionado água fervente, lavado duas vezes com 30 ml de acetona, secado a vácuo; em seguida os cadinhos com as fibras foram secos em estufa a 105°C até peso constante.

4.5.7 Análise de proteína

Para determinação da proteína bruta, foi utilizado a metodologia de kjeldahl clássico. Foi pesado 0,2g de amostra desengordurada (retirado os lipídeos pelo método de soxhlet) em papel de seda. Foi transferido para o balão de kjeldahl, acrescentado 25 ml de ácido sulfúrico e 6 g da mistura catalítica (Dióxido de titânio anidro, sulfato de cobre anidro e sulfato de potássio anidro, na proporção 0,3:0,3:6). Posteriormente levado para digerir sob aquecimento de 550°C em chapa elétrica, na capela, até a solução se tornar azul-esverdeada e livre de material não digerido e aquecido por mais uma hora. No processo seguinte foi resfriado, destilado e adicionado 10 gotas do indicador fenolftaleína e 1 g de zinco em pó. O balão foi ligado imediatamente ao conjunto de destilação e mergulhado a extremidade afilada do refrigerante em 25 ml de ácido sulfúrico 0,05 M, contido em frasco erlenmeyer de 500 ml com 3 gotas do indicador vermelho de metila. Posteriormente adicionado ao frasco que

contém a amostra digerida, por meio de um funil com torneira, solução de hidróxido de sódio a 30% até garantir um ligeiro excesso de base. Foi aquecido até ebulição e destilado até obter cerca de (250-300ml) do destilado e titulado o excesso de ácido sulfúrico 0,05 M com solução de hidróxido de sódio 0,1 M usando vermelho de metila.

4.5.8 Análise de carboidratos totais

O percentual de carboidrato obtido foi através do método da diferença, de acordo com a equação abaixo, segundo a RDC nº 360/2003.

$$G= 100 - (U+L+P+F+C)$$

Sendo:

G= Carboidrato

U= Umidade

L= Lipídeos

P= Proteínas

F= Fibras

C= Cinzas

4.5.9 Análise estatística

Para comparar os dados da composição centesimal e pH do alimento natural com o alimento artificial fermentado, foi realizado o teste de Mann-Whitney. Para comparar o alimento artificial antes e depois da fermentação, foi usado o teste de Wilcoxon Pareado.

4.6 EXPERIMENTO 2 – EFEITO DA ALIMENTAÇÃO ARTIFICIAL SOBRE A SOBREVIVÊNCIA DOS IMATUROS E TAMANHO DOS INDIVÍDUOS PRODUZIDOS.

Para saber o efeito da alimentação artificial sobre a taxa de sobrevivência dos imaturos e tamanho dos indivíduos produzidos, foram comparadas 5 colônias alimentadas com alimento natural com outras 5 alimentadas com alimento artificial (ver seção anterior para mais informações sobre origem e processamento dos alimentos usados nos experimentos).

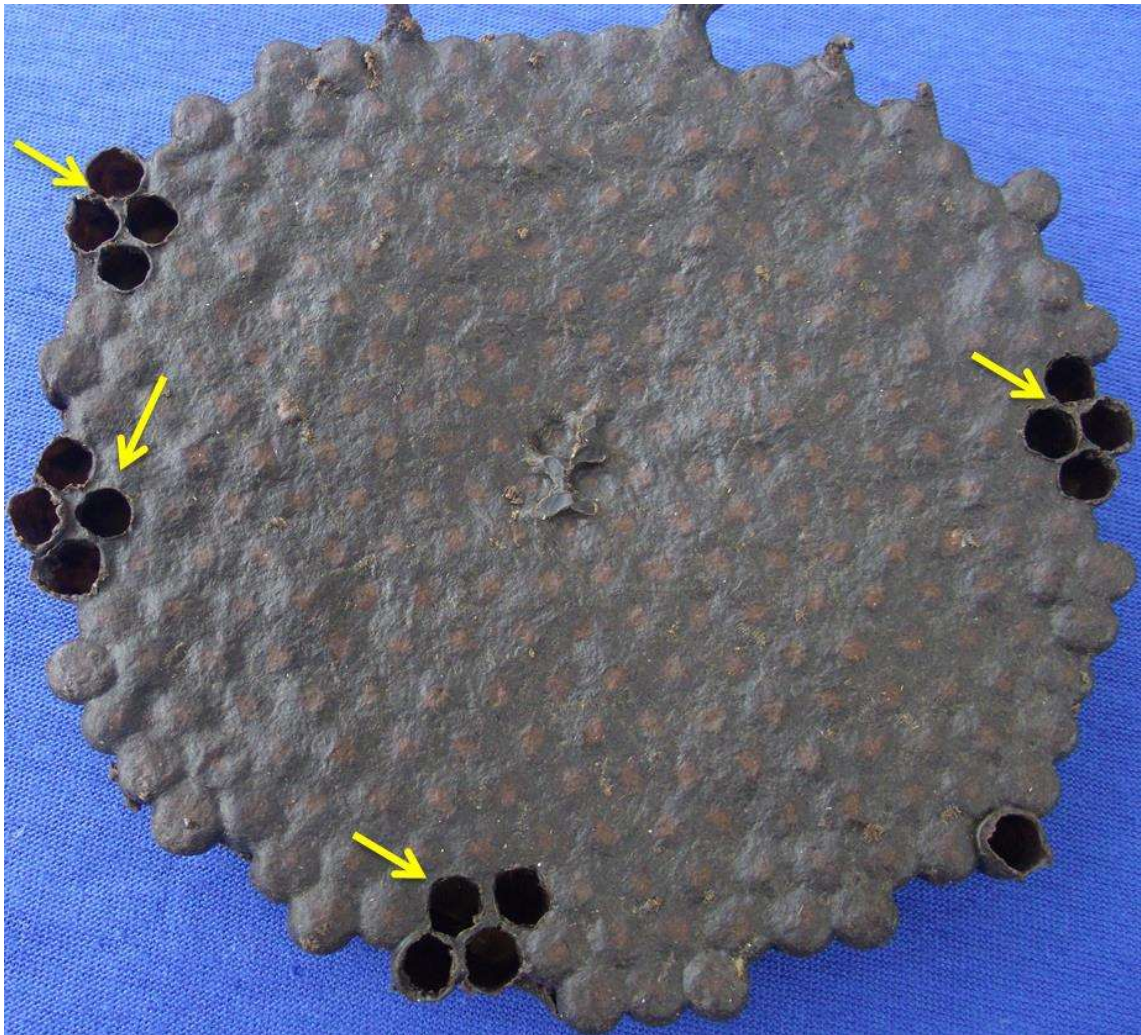
As colônias usadas no experimento foram transferidas para caixas de observação (caixa de madeira de 30x30cm), separando o ninho dos potes de alimento, no intuito de retirar

o alimento previamente estocado e facilitar as observações e manipulações necessárias. A transferência ocorreu no período de escassez de pólen (mês de maio), para diminuir a contaminação de pólen do campo nas colônias amostradas e garantir que as larvas seriam alimentadas predominantemente com o alimento oferecido. Foi colorido o alimento (tanto o alimento natural como o artificial) com anilina (Arcolor®) comestível para certificar se as larvas estavam sendo efetivamente alimentadas com o alimento oferecido (PIRES; CONTRERA; VENTURIERI, 2009). Após a transferência foi fornecido solução de açúcar 50% e 4 potes (aproximadamente 19g) de alimento (artificial ou natural dependendo do tratamento) por semana, durante 2 meses. Nesse período as colônias permaneceram abertas, portanto livres para forrageamento. Esse procedimento foi adotado para que elas se recuperassem do processo de transferência e reativassem a construção de células de cria.

Dois meses depois da transferência, as colônias foram confinadas por duas semanas para que os ovos fossem provisionados com alimento larval produzido majoritariamente a partir do alimento oferecido. Os alimentos tingidos de verde nas colônias foram rastreados para observar se no período do confinamento as abelhas usaram o alimento oferecido para o provisionamento das crias (Figura 06).

O favo de cria formado nas duas semanas de confinamento, foi marcado com abertura de 4 células opostas, repetido em 4 extremidades (Figura 03), para que após 30 dias (antes da emergência dos adultos), fosse retirado da colônia para análise de sobrevivência e tamanho dos indivíduos adultos.

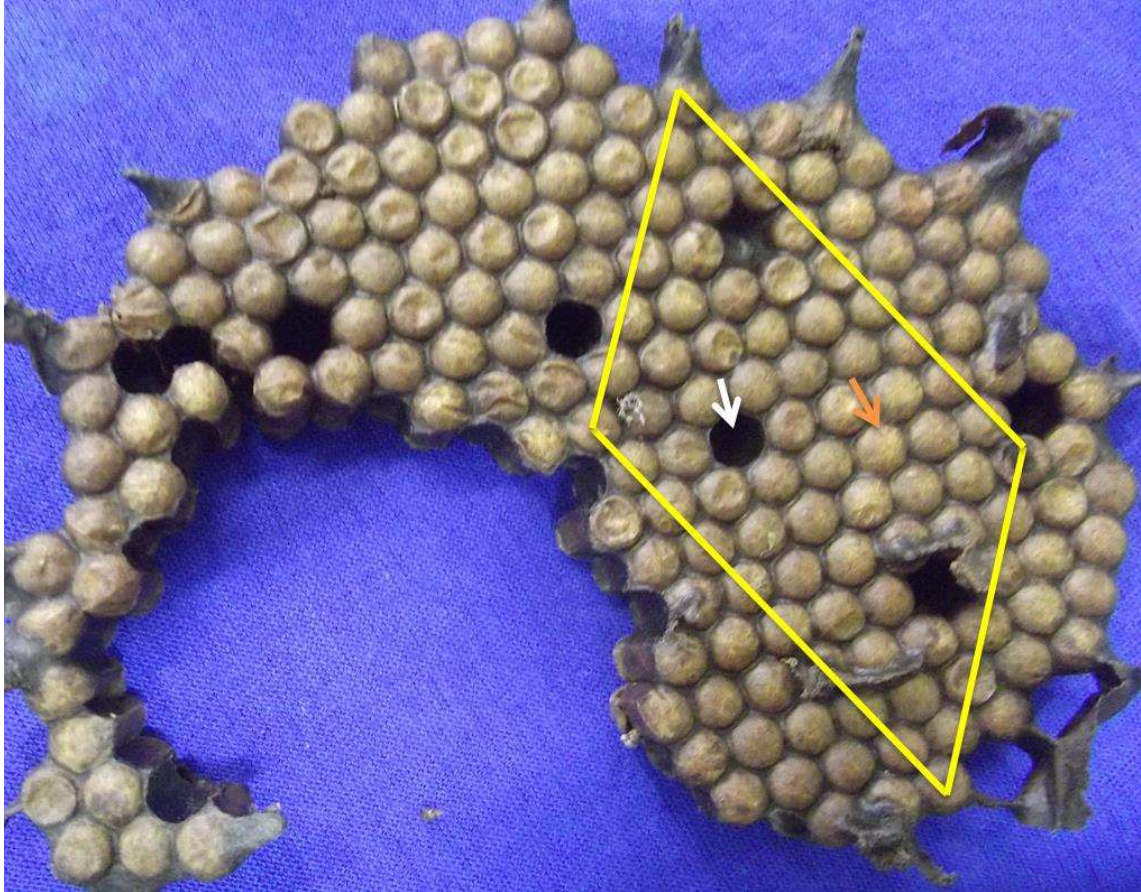
Figura 03 – Favo formado nas duas semanas de confinamento. As setas amarelas indicam a marcação no favo de cria formado nas duas semanas do confinamento.



Fonte: Joyce Teixeira.

Para estimar a taxa de sobrevivência, foi observado percentual de indivíduos mortos (células destruídas) no momento da retirada dos favos de cria, em uma área retangular de 70 células do favo (7 x 10 células) (Figura 04). Para análise estatística foi realizado teste *Fisher's exact test*. Logo após a contagem das células, os favos foram mantidos em placas de petri identificadas, dentro de estufa à 28°C até a emergência dos indivíduos.

Figura 04 - Ilustração do retângulo formado no favo de cria para análise de sobrevivência dos indivíduos imaturos. A seta branca na célula desoperculada indica que o indivíduo está morto e a seta alaranjada indica que indivíduo está vivo.



Fonte: Joyce Teixeira.

Para verificar o tamanho das abelhas, foram realizadas medições da distância intertegular (largura do tórax). A distância intertegular é uma boa medida para inferir tamanho de abelhas e tem sido usada nesta e em outras espécies de Meliponini (e.g. ARAÚJO et al., 2004; VEIGA et al., 2012; MENEZES; VOLLET-NETO; IMPERATRIZ-FONSECA, 2013b). As operárias eram colocadas em material esponjoso e fixadas com um vidro para manter suas estruturas em posição adequada e fixas para a medição. Com uso de câmera fotográfica (Motic) acoplada a lupa foi capturada imagens de 20 abelhas recém-emergidas de cada colônia experimental, totalizando 100 abelhas (controle) e 100 abelhas (tratamento). As medidas foram aferidas nas fotografias por meio do software Motic Image Plus 2.0. A comparação entre os grupos foi feita com teste t no programa Statistica versão 7, considerando nível de significância de 5%.

4.7 EXPERIMENTO 3 – EFEITO DA ALIMENTAÇÃO ARTIFICIAL SOBRE A LONGEVIDADE DOS INDIVÍDUOS ADULTOS.

Para investigar se é afetada a longevidade dos indivíduos adultos que consomem o alimento artificial, foi fornecida alimentação artificial e alimentação natural para operárias recém-emergidas, acompanhando desde a emergência até a morte. As operárias não foram formadas com alimentação artificial, pois o intuito era avaliar o efeito somente na vida adulta.

As amostras foram retiradas de 5 colônias diferentes. De cada colônia foram retirados 40 operárias, 20 consumiram alimento natural e 20 consumiram alimento artificial. O número de indivíduos amostrados foram 100 consumindo alimento natural (controle) e 100 consumindo alimento artificial (tratamento). Cada grupo de 20 operárias foram confinadas em caixas de MDF de 8.2 x 8.2cm, dentro de estufa (Quimis) 28°C desde a emergência até a morte; foram alimentados diariamente com alimento natural ou alimento artificial, água e mel. A análise da curva de sobrevivência foi realizada com o teste estatístico log-rank.

5. RESULTADOS

5.1 COMPARAÇÃO ENTRE A COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO ALIMENTO NATURAL DE *M. FLAVOLINEATA* (PÓLEN) E ALIMENTO ARTIFICIAL À BASE DE SOJA.

As amostras de pólen foram semelhantes entre si (Figura 05) nas análises de umidade (CV=3,34%), proteínas (CV= 7,29%), carboidratos (CV= 6,44%) e pH (CV= 3,82%). Porém apresentaram alta variação nas análises de cinzas (CV= 17,80%), lipídeos (CV= 10,28%) e fibras (CV= 35,74%). O alimento artificial apresentou diferença significativa do alimento natural em todos os parâmetros analisados, com exceção do pH (Tabela 01). As maiores diferenças foram em relação aos teores de umidade, proteína, que apresentaram respectivamente valores de 6,46% e 7,65% a menos que o alimento natural e os teores de carboidratos que foram 14,24% a maiores que o alimento natural.

Tabela 01: Resultados das análises de composição centesimal e pH do alimento natural de *M. flavolineata* (pólen fermentado) e do alimento artificial fermentado. Dados em Média, desvio padrão, valor de p e valor do teste.

Parâmetro analisado	Alimento natural liofilizado	Alimento artificial fermentado liofilizado	Valor de p e do teste estatístico (Mann-Whitney)
Umidade	55,3%±0,34	48,84%±0,40	*0,00/0,000349
Cinzas	1,8%±0,32	1,44%±0,04	*0,00/0,000349
Lipídeos	3,9%±0,40	7,13%±0,26	*0,00/0,000349
Proteínas	20%±1,46	12,35%±0,52	*0,00/0,000346
Fibras	4,18%±1,49	1,16%±0,12	*0,00/0,000349
Carboidratos	14,82%±0,95	29,06%± 0,41	*0,00/0,000349
pH	3,85±0,15	3,90±0,14	35,00000/0,627207

*valores com diferença estatística significativa

5.2 COMPARAÇÃO ENTRE A COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO ALIMENTO ARTIFICIAL À BASE DE SOJA ANTES E DEPOIS DA FERMENTAÇÃO

A fermentação proporcionou um leve aumento na maioria dos parâmetros analisados (Tabela 02). Os principais parâmetros alterados foram a umidade (elevou 5,75%), pH (reduziu 1,95) e os carboidratos (reduziu 8,59%).

Tabela 02: Resultados das análises de composição centesimal e pH do alimento artificial não fermentado e do alimento artificial fermentado, considerando o teor de umidade retirado na liofilização. Dados em Média, desvio padrão, valor do teste e valor de p.

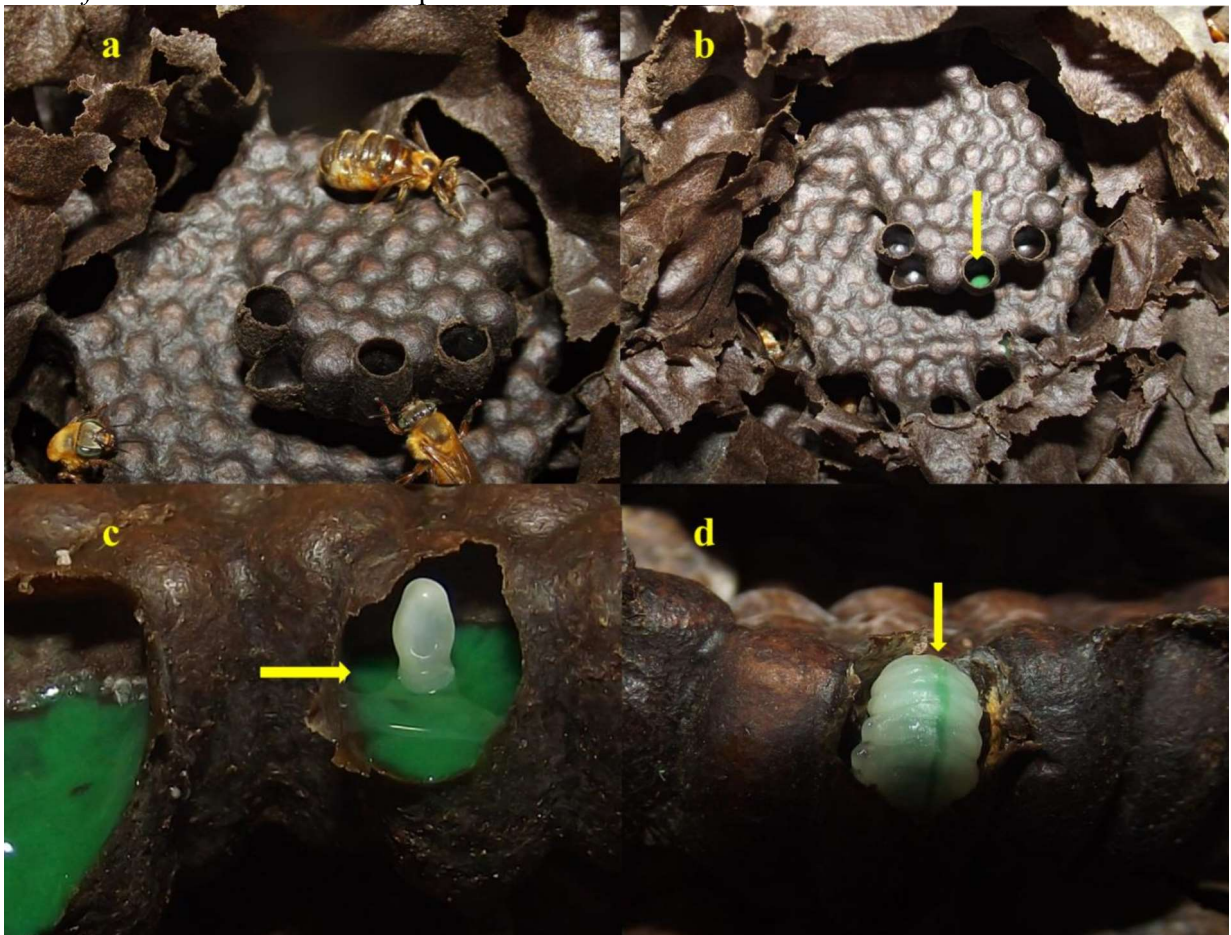
Parâmetro analisado	Alimento artificial não fermentado	Alimento artificial fermentado	Valor de p e do teste estatístico (wilcoxon pareado)
Umidade	46,77%/0,48	48,84%/0,40	*p=0,0039/ W=-45,00
Cinzas	1,95%±0,87	1,44%±0,04	*p=0,0195/ W=-39,00
Lipídeos	6,21%±0,33	7,13%±0,26	*p=0,039/ W=-45,00
Proteínas	11,28%±0,35	12,35%±0,52	*p=0,0039/ W=-45,00
Fibras	1,08%±0,09	1,16%±0,12	p=0,3594/ W=-17,00
Carboidratos	33,28%±0,21	29,06%±0,41	*p=0,0039/ W=45,00
pH	5,85±0,05	3,90±0,14	*p=0,0039/ W=45,00

*valores com diferença estatística significativa

5.3 EFEITO DO ALIMENTO ARTIFICIAL À BASE DE SOJA SOBRE A SOBREVIVÊNCIA DOS INDIVÍDUOS IMATUROS E TAMANHO DOS INDIVÍDUOS RECÊM-EMERGIDOS.

Todas as colônias apresentaram alimento larval de cor verde, nitidamente produzido a partir do alimento oferecido (ver seção 4.6).

Figura 06. Rastreamento dos alimentos desde o aprovisionamento, postura e desenvolvimento do indivíduo. a) Favo de cria sendo formado com o alimento larval a partir dos alimentos experimentais tingidos de verde. b) Célula aprovisionada com alimento larval produzido a partir dos alimentos oferecidos. c) Ovo posto no alimento larval colorido. d) larva de *M. flavolineata* alimentada a partir dos alimentos oferecidos.



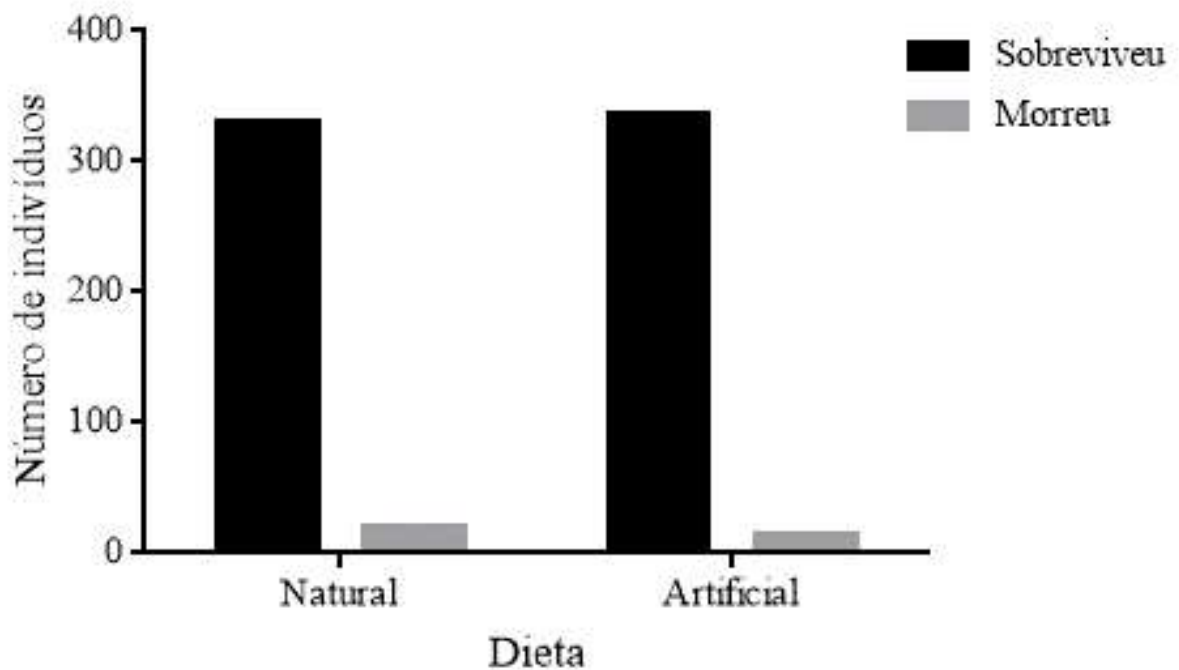
Fonte: Joyce Teixeira

5.3.1 Sobrevivência dos imaturos

A sobrevivência dos indivíduos imaturos não foi afetada pela alimentação artificial à base de soja. Pois uma amostra de 350 indivíduos submetido à esta alimentação, apresentou

número de 336 indivíduos vivos e 14 indivíduos mortos, outra amostra de 350 indivíduos submetidos à alimentação natural apresentou 330 indivíduos vivos e 20 indivíduos mortos (Figura 07), não apresentando diferença estatisticamente significativa ($0,3796/p>0,05$). O valor médio da sobrevivência dos indivíduos imaturos que ingeriram alimento artificial foi de $96\% \pm 2,75$ ($n=350$), enquanto o valor médio da sobrevivência dos indivíduos imaturos que consumiram alimento natural foi de $94,28\% \pm 6,78$ ($n=350$).

Figura 07: Comparação do número de indivíduos imaturos que conseguiram viver até a fase adulta, provisionados a partir do alimento natural (pólen) e do alimento artificial à base de soja.



5.3.2 Tamanho dos indivíduos recém-emergidos

A alimentação artificial não prejudicou o crescimento dos indivíduos (Tabela 03). Eles apresentaram tamanho de 5% a mais que os indivíduos formados a partir da alimentação natural.

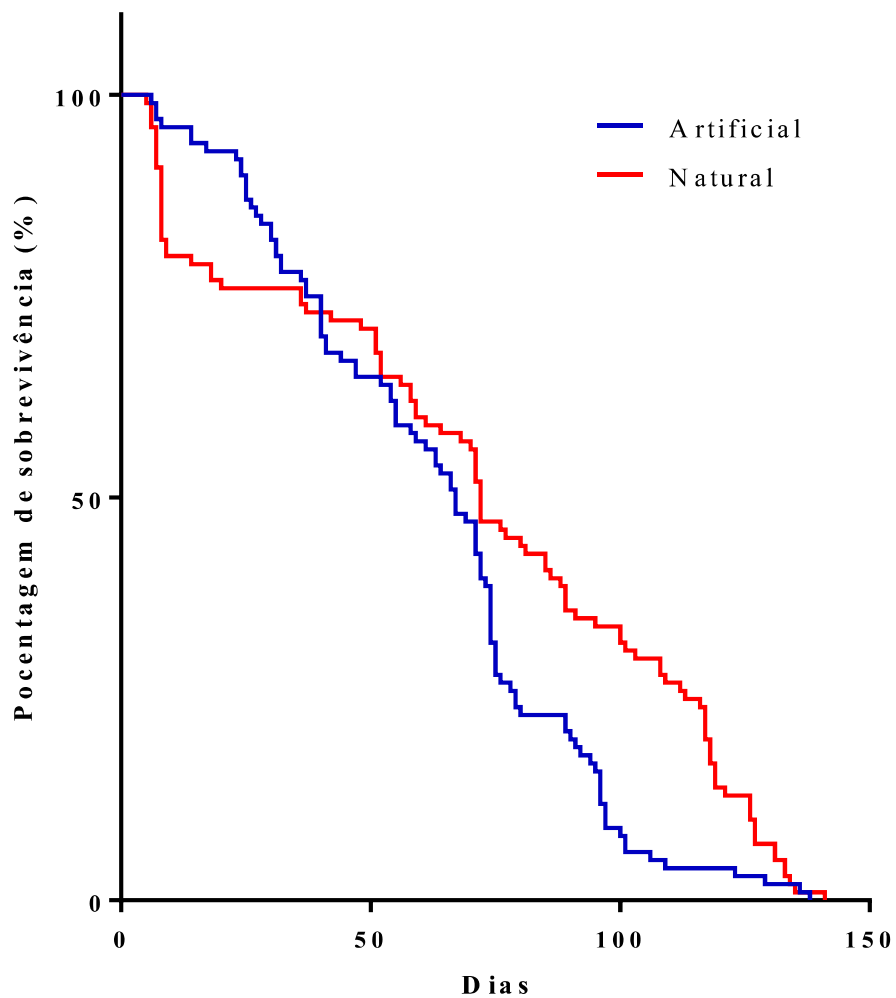
Tabela 03: Comparação estatística do tamanho dos indivíduos alimentados desde ovo até adulto, com a alimentação natural e com a alimentação artificial.

Tratamento	Número de amostras	Média \pm desvio padrão	Valor do teste/p
Alimento natural	100 indivíduos	2,78 \pm 0,13	t=7,61/p<0,0001
Alimento artificial à base de soja	100 indivíduos	2,92 \pm 0,13	

5.3.3 Efeito do alimento sobre a longevidade dos indivíduos adultos

A alimentação artificial à base de soja afetou a longevidade dos indivíduos adultos ($X^2=7,66$; $p<0,05$). Os indivíduos que consumiram o alimento natural apresentaram longevidade média maior (figura 08), cerca de 9 dias a mais que os indivíduos que consumiram o alimento artificial à base de soja. Os indivíduos que ingeriram o alimento natural apresentaram longevidade média de 71 dias \pm 43,56 e os indivíduos que ingeriram alimento artificial, apresentaram longevidade de 62 dias \pm 30,07.

Figura 08. Curvas da longevidade dos indivíduos adultos que consumiram o alimento natural e o alimento artificial à base de soja por 140 dias. Os dados coletados foram analisados pelo teste estatístico log-rank.



6. DISCUSSÃO

As amostras de pólen analisadas apresentaram uma pequena variação entre si, apesar de terem sido coletados em três regiões diferentes (Figura 6). Os parâmetros que variaram mais foram os teores de fibras (CV=35,74%), cinzas (CV=17,80), lipídeos (CV=10,28%) e proteínas (CV=7,29%) que são parâmetros mais relacionados à composição nutricional do pólen originalmente estocado (ZUCOLOTO, 1994; SOUZA et al., 2004). Os parâmetros que variaram menos foram a umidade (CV=3,34%) e o pH (3,82%), que são fatores menos dependentes da origem do pólen e mais relacionadas com a microbiota de cada espécie de abelha (CAMARGO et al., 1992). Essas informações são importantes para o aperfeiçoamento de dietas artificiais no futuro porque indicam que determinados parâmetros podem variar mais, como a quantidade de fibras e cinzas, enquanto outros precisam ser mais padronizados, como a umidade e o pH.

Existem poucas informações na literatura sobre a composição nutricional de pólen de abelhas sem ferrão, o que dificulta a elaboração de dietas artificiais. De uma forma geral, os resultados obtidos pelo presente trabalho estão coerentes com as poucas informações que existem, mas fica claro que não é possível generalizar os dados obtidos para todo o grupo de abelhas sem ferrão. No presente trabalho, o parâmetro umidade, por exemplo, foi determinado em 18,72% para as amostras liofilizadas e estimada em 43,94% para as amostras *in natura*. Estes resultados estão próximos ao encontrado para as espécies do gênero *Melipona* em outros estudos: *M. scutellaris*, 20% para as amostras liofilizadas e 50% *in natura* (FERREIRA, 2012); e amostras *in natura* de pólen das espécies *M. seminigra*, 52,2% (CAMARGO et al., 1992); *M. rufiventris paraenses*, 49,2%; *M. seminigra merrillae*, 46,8% (SOUZA et al., 2004). Porém, abelhas do mesmo gênero ou de outros gêneros, podem apresentar pólen *in natura* com umidade relativamente menor: *M. compressipes manaosensis*, 33,4%, 22,3% e 33% de umidade (SOUZA et al., 2004); *Trigona dallatorreana* 24,1% e *Ptilotrigona lurida* com 13,9% de umidade (CAMARGO et al., 1992). Isso evidencia a importância de se conhecer a composição centesimal do pólen da espécie que se pretende criar para produzir um alimento artificial com teores semelhantes do alimento natural.

No presente trabalho o teor de umidade determinado no alimento artificial foi 6,22% menor que o do pólen. Apesar da diferença no teor de umidade, não foi observado problemas na fermentação do alimento artificial e dificuldades no consumo do alimento pelas abelhas. Portanto, pequenas variações parecem não afetar a fermentação no processo de fabricação ou a aceitação pelas abelhas.

O teor de cinzas determinado no alimento natural foi apenas 0,82% maior que o teor determinado no alimento artificial. O teor médio de cinzas encontrado no alimento artificial ($2,46\% \pm 0,06$) é semelhante aos teores de cinzas encontrado em pólen *in natura* de algumas espécies abelhas sem ferrão, que variam de 1,7% à 2,6% de cinzas (FERREIRA, 2012; SOUZA et al., 2004). Em termos quantitativos, o teor de minerais do alimento artificial foi suficiente para promover o desenvolvimento adequado das abelhas, mas ainda é necessário identificar quais minerais e em quais proporções eles se encontram no alimento artificial e natural, para saber se realmente suprem as necessidades das abelhas ou se é necessário acrescentar outros ingredientes na dieta artificial.

O uso de minerais pelas abelhas é relativamente pequeno. Colônias de *Apis mellifera* alimentadas com dietas que possuíam de 0,5-1% de cinzas apresentaram aumento na produção de cria (SOMERVILLE, 2005). Pólen que possuíam valores muito acima de 2% de cinzas causaram declínio na produção de cria e chegava a parar quando a dieta continha 8% de cinzas (SOMERVILLE, 2005). Os teores excessivos de sódio, cloreto de sódio e cálcio, por exemplo, são tóxicos para as mesmas (SOMERVILLE, 2005). Assim podemos inferir que elevados níveis de minerais afeta a produção de cria e o acréscimo de novos ingredientes à dieta artificial precisa ser feito com cautela.

As proteínas também são importantes no desenvolvimento larval e sua concentração é essencial ao crescimento adequado das larvas (CRAILSHEIM et al., 1992). Por exemplo, o desenvolvimento da glândula hipofaríngea é afetado caso as abelhas não consumam níveis suficientes de proteínas nos primeiros dias após a emergência (CRAILSHEIM; STOLBERG, 1989). Consequentemente, a produção de cria é limitada com a falta ou diminuição de proteína no alimento (WINSTON, 2003). As proteínas também desempenham importante função no metabolismo, saúde e longevidade das abelhas adultas (SAGILI; PANKIW, 2007). O pólen é a principal fonte de proteína das abelhas (SOUZA et al., 2004, RODRIGUES, 2003). Portanto, o alimento artificial precisa conter níveis adequados para suprir o requerimento proteico das abelhas. A quantidade de proteína encontrada em pólen de abelhas sem ferrão varia de acordo com a origem botânica, mas também pode ser influenciada por outros fatores, como o processo de fermentação após a estocagem (CAMARGO et al., 1992; MENEZES et al., 2013a). As avaliações disponíveis na literatura encontraram os seguintes valores de proteína em amostras de pólen *in natura*: 19,1% em *M. rufiventris paraensis*; 17,1%; 15,7% e 22% em *M. compressipes manaosensis*; 23,8% em *M. seminigra merrillae*; 19,7% em *M. scutellaris* (SOUZA et al., 2004; FERREIRA, 2012). No presente trabalho, foram encontrados valores compatíveis com a literatura, em média $36,35\% \pm 2,65$ nas amostras

de pólen liofilizadas, que representa em torno de 25% no pólen *in natura*. Já o alimento artificial apresentou em média $21,11\% \pm 0,54$ de proteína nas amostras liofilizadas, que representa em torno de 15% no alimento *in natura*. Ainda que o teor proteico do alimento artificial seja menor que o do natural, não foi observado prejuízos na sobrevivência e tamanho dos imaturos, somente uma pequena redução na longevidade dos indivíduos adultos. Futuros estudos podem, portanto, buscar adicionar outros ingredientes para aumentar a quantidade de proteína no alimento artificial.

Foram mensuradas também os teores de fibra dos alimentos fornecidos para as abelhas. No alimento artificial as fibras são oriundas principalmente do extrato de soja que contém 6%, de acordo com as informações do fabricante (marca mãe terra). No alimento natural, as fibras são originadas a partir da exina dos grãos de pólen, que são geralmente espessas e de difícil digestão (ELTZ et al., 2001). No presente estudo, o pólen liofilizado apresentou teor de 7,60% de fibras, aproximadamente 5,2% no pólen *in natura*, enquanto o alimento artificial liofilizado apresentou teor de 1,98%. O percentual de fibras determinado no alimento natural, foi expressivamente maior que o determinado no alimento artificial, cerca de 5,62% a mais. Contudo, a diferença no teor de fibra presente no alimento artificial não é tão relevante, pois as abelhas não conseguem digerir a maior parte da exina dos grãos de pólen, a maioria é encontrada intacta no excremento (ELTZ et al., 2001). Os valores encontrados estão compatíveis com outros estudos disponíveis na literatura: 2,76% em pólen *in natura* de *Melipona scutellaris* e 4,03%; 3,27% e 3,20% em amostras desidratadas (FERREIRA, 2012); 2,9 a 6,9% em amostras desidratadas de pólen apícola comercial do Paraná (Sampaio, 1991).

O outro parâmetro analisado foi o teor de lipídeos, que são compostos orgânicos, insolúveis em água e solúveis em solventes orgânicos (éter, clorofórmio e acetona). Atuam como transportadores de vitaminas lipossolúveis contêm ácidos graxos essenciais ao organismo (ADOLF LUTZ, 2008) e atuam fornecendo energia para o metabolismo das abelhas. Na fase larval, as abelhas metabolizam e acumulam os ácidos graxos presentes nos lipídeos, usando para o seu crescimento e produção de hormônios. É usado também em todos os outros estágios ao longo da vida adulta, fornecendo energia para realizar as tarefas e nutrientes para desenvolvimentos das glândulas e seus produtos (WINSTON, 2003, PANIZZI; PARRA, 2009). Apesar de não ser considerado o nutriente principal em *Apis mellifera* alguns lipídeos, como o ácido graxo 10-hidro-trans-2-decenóico (10-HDA) e esteróis, especialmente o colesterol 24-metileno, estão respectivamente presentes em 0,25 e 4% no alimento larval (WINSTON, 2003). A ausência destes limita o crescimento normal das

larvas e é essencial à metamorfose (CALLOW; JOHNSTON; SIMPSON, 1959 apud WINSTON, 2003).

Em geral o pólen apresenta teores com ampla variação. Foram encontrados índices em torno de 4 à 6% em pólen desidratado e 2,5% em pólen *in natura* de *M. scutellaris* aproximadamente 3,6% em pólen *in natura* de *M. rufiventris paraensis*, cerca de 1,9 e 9,3% em pólen *in natura* de *M. compressipes manaosensis* e 3,4% em pólen *in natura* de *M. seminigra merrillae* (SOUZA, et al., 2004; FERREIRA, 2012). As amostras de pólen liofilizadas apresentaram média de $7,12\% \pm 0,73$ enquanto que o alimento artificial apresentou $12,20\% \pm 0,46$, cerca de 5% a mais que o alimento natural.

Outro parâmetro que se apresentou em excesso no alimento artificial foram os carboidratos. Os carboidratos fornecem a maior parte da energia necessária para as abelhas realizarem seu metabolismo, atividades dentro e principalmente fora da colônia (NOGUEIRA-NETO, 1997; WINSTON, 2003). Na fase larval, as abelhas armazenam os carboidratos nos corpos gordurosos e usam conforme o necessário. Os carboidratos são usados no desenvolvimento de determinados tecidos e na produção de cera (PANIZZI; PARRA, 2009; WINSTON, 2003). O alimento artificial possui condições de fornecer os níveis de carboidratos suficientes para as abelhas, pois apresentou cerca de 22,81% a mais de carboidratos que o alimento natural. Desta maneira o alimento artificial pode fornecer energia suficiente para as abelhas, mas em dietas futuras pode ser ajustado o nível de carboidratos reduzindo a quantidade de açúcar da receita, para obter um alimento com teor de carboidrato mais próximo do alimento natural.

Tanto o alimento natural, quanto o artificial passam por processos de fermentação e a principal consequência é a redução do valor de pH (SILVA; ZUCOLOTO, 1994). O pH é um índice indicador de neutralidade, basicidade e acidez de um meio, e é alterado de acordo com a concentração de ácidos orgânicos (SOUZA et al., 2010). A redução do pH contribui com a estabilidade e conservação do alimento, evitando a proliferação de alguns microrganismos prejudiciais que não suportam baixos níveis de pH (SOUZA et al., 2010). Os valores de pH dos alimentos analisados neste estudo foram de 3,85 e 3,90. Portanto, não parece ser necessário ajustes no processo de fermentação do alimento artificial, já que foi semelhante ao alimento natural analisado e próximo aos valores de 3,8 à 4,28 determinado em pólen de *M. scutellaris* (FERREIRA, 2012).

O processo de fermentação ajuda na aceitação do alimento pelas abelhas (ZUCOLOTO, 1975; CAMARGO, 1976; PIRES; CONTRERA; VENTURIERI, 2009), mas não era conhecido o seu efeito sobre a composição nutricional do alimento. A fermentação

não alterou de forma consistente alguns elementos do alimento; ocorreram discretos aumentos de 1,32% de lipídeos, 0,08% de cinzas, 1,35% de proteínas e 0,08% de fibras. Os maiores efeitos foram na redução de 8,59% de carboidratos e 1,95 no valor do pH.

O alimento artificial analisado neste estudo apresentou algumas diferenças nutricionais quando comparado com o alimento natural. Porém não afetou a sobrevivência e tamanho dos imaturos. As crias apresentaram altas e semelhantes taxas de sobrevivência, cerca de 94,28% e 96% quando foram respectivamente submetidas a alimentação natural e artificial. Em condições críticas de disponibilidade de alimento a taxa de sobrevivência varia de 50 à 68%, e em situações normais, a sobrevivência das crias é alta, cerca de 80 à 97% (WINSTON, 2003).

A sobrevivência dos indivíduos e o crescimento da colônia dependem de diversos fatores como a quantidade e qualidade dos alimentos ofertados (ROUBIK, 1989; GENISSEL et al., 2002; BRODSCHNEIDER; CRAILSHEIM, 2010). A alimentação pode atrasar o desenvolvimento dos imaturos, afetar o desenvolvimento glandular e a longevidade dos adultos (WINSTON, 2003). Em *Apis mellifera* ocorre efeito em sua fisiologia quando existe grande variação na composição físico-química do alimento (CREMONEZ; JONG; BITONDI, 1998). Genissel et al. (2002) observou que em *Bombus* a qualidade do alimento das crias afeta o desenvolvimento larval. Portanto é de suma importância a qualidade e quantidade de alimento proteico estocado nas colônias, para que a quantidade de alimento larval depositado nas células seja suficiente para um bom desenvolvimento e sobrevivência das crias.

As proporções de pólen no alimento larval variam de acordo com a espécie. Em *M. marginata* a proporção de pólen é de 50% (RENSI, 2006), em *M. scutellaris* é de 31% de pólen (MENEZES et al., 2007) e em *Scaptotrigona depilis* é 16,7% de pólen (MENEZES, 2010). Na fase imatura, para se desenvolver normalmente as abelhas *Apis mellifera* precisam de aproximadamente 125 à 145mg de pólen com cerca de 30mg (20-25%) de proteína (WINSTON, 2003, SOMERVILLE, 2005), 142mg de mel com cerca de 59,4mg (41,83%) de carboidratos (RORTAIS et al., 2005) e entre outros nutrientes, como os lipídeos que fornecem os esteróis.

A qualidade e quantidade de alimento provisionado nas células de cria interferem no tamanho dos indivíduos produzidos. O tamanho corporal das operárias varia de acordo com as condições climáticas, quantidade de alimento armazenado no interior da colônia e competição de alimento com outras colônias. Segundo Menezes (2010) no período de baixa florada (inverno no Estado de São Paulo), as colônias observadas apresentaram variação na quantidade de alimento larval provisionado. A reação das colônias aos períodos de pouca

florada está relacionada com suas condições (se estão fortes ou se estão fracas) (RAMALHO, IMPERATRIZ-FONSECA, GIANNINI, 1998).

As colônias resistem melhor a este período quando são fortes e possuem mais alimento armazenado, assim os ovos são aprovisionados com maior quantidade de alimento larval, produzindo indivíduos maiores (RAMALHO, IMPERATRIZ-FONSECA, GIANNINI, 1998). Este mesmo autor, também observou que colônias fracas reduzem a quantidade de alimento larval nas células de cria, mas produzem em média o mesmo número de operárias que as colônias fortes.

Nas colônias fracas, as crias de *Melipona quadrifasciata* e *Plebeia remota*, nascem com tamanho menor do que as crias das colônias fortes. Em *Nannotrigona perilampoides*, foi observado um menor tamanho nas operárias produzidas em períodos de escassez de alimento (QUEZADA-EUÁN et al., 2011). As operárias de *M. flavolineata* possuem menor tamanho quando são produzidas no período chuvoso com baixa florada e pouco pólen armazenado no interior da colônia, em condições inversas as operárias são produzidas em tamanhos normais (VEIGA et al., 2012).

No presente trabalho não foi mensurada a quantidade de alimento das células de cria para saber se houve diferença na quantidade de alimento larval aprovisionado. Porém, foi fornecido para as colônias volume igual de alimento proteico (natural e artificial à base de soja). Além de não ter sido encontrado efeitos prejudiciais nos experimentos com alimentação controlada, as abelhas que consumiram a dieta artificial foram maiores que as que ingeriram pólen natural, possivelmente devido o excesso de lipídeos e de carboidratos. De forma coerente com o presente trabalho, Costa e Venturieri (2009) verificaram que as abelhas jovens que consumiram o alimento artificial apresentaram glândulas hipofaríngeas e ovários maiores que as abelhas submetidas à alimentação natural. Portanto, o efeito do excesso de lipídeos e de carboidratos precisa ser avaliado com cautela e de forma mais específica em futuros estudos para verificar se há necessidade de aprimorar a dieta artificial ou até mesmo para saber se elas são beneficiadas por ele.

A qualidade do alimento também determina a longevidade das abelhas (AMDAM; OMHOLT 2002), junto aos fatores genéticos, morfológicos, fisiológicos, comportamentais (BIESMEIJER; TÓTH, 1998; AMDAM; OMHOLT, 2002), fatores sazonais (disponibilidade de alimento) e a espécie (WINSTON, 2003). São poucos os estudos referentes à longevidade das abelhas sem ferrão (HALCROFT; HAIGH; SPOONER-HART, 2013), mas a grande maioria das espécies vivem em média 50 dias (CAREY, 2001). Simões e Bego (1991) descrevendo a longevidade de operárias de *Scaptotrigona postica*, observaram que elas

viveram em média 60 dias, mas possuíram longevidades diferentes dentro da mesma colônia. Em *M. beecheii*, a longevidade observada foi de 51 dias (BIESMEYER; TÓTH, 1998). A longevidade observada em *M. subnitida* foi de 36 dias (PINHEIRO et al., 2009). Em *M. Fasciculata*, Gomes; Menezes; Contrera (2014) observaram longevidade máxima de 80 dias e longevidade mínima de 17 dias e média de 48 dias. Enquanto que Pires, Venturieri e Contrera (2009) estudando a mesma espécie, observaram longevidade média de 37 dias.

A sazonalidade do período de floração e disponibilidade de recursos alimentares é um dos fatores que limitam a sobrevivência das abelhas. O pólen é rico em proteínas, que exercem papel fundamental na fisiologia e morfologia das abelhas (SOMERVILLE, 2005). A proteína fornecida no alimento atua diretamente na produção das crias, no desenvolvimento das larvas, e reflete na longevidade quando se tornam adultos (BRODSCHNEIDER; CRAILSHEIM, 2010). Segundo Somerville (2000) as abelhas que possuem maiores níveis de proteína no corpo vivem mais que as abelhas que possuem menores níveis.

No presente estudo o nível de proteína da alimentação natural foi maior que o da alimentação artificial e a longevidade média de operárias de *M. flavolineata* subsidiadas com alimento natural foi de 71 dias e, 62 dias quando eram submetidas à alimentação artificial. Neste estudo, a alimentação artificial à base de extrato de soja reduziu a longevidade das abelhas. Diferente do ocorrido no estudo de Pires, Venturieri e Contrera (2009), que as operárias de *M. fasciculata* apresentaram maior longevidade quando eram subsidiadas com alimento artificial à base de extrato de soja 46 dias e 37 dias quando consumiam alimento natural.

Em *Scaptotrigona sp.*, o resultado foi semelhante ao ocorrido em *M. flavolineata*, pois a longevidade das operárias reduziram ao serem submetidas à alimentação artificial à base de extrato de soja. A média da longevidade de *Scaptotrigona sp.* foi de 68 dias quando consumiram o alimento natural e 61 dias quando consumiram o alimento artificial (LEÃO, dados não publicados). Pode existir uma redução na longevidade das operárias, como ocorreu nestas pesquisas, as abelhas que consumiram o alimento artificial viveram em média 9 dias a menos em *M. flavolineata* e 7 dias a menos em *Scaptotrigona sp.* A longevidade das operárias que consumiram o alimento artificial pode ter sido afetada pelas diferenças na composição do alimento artificial em relação ao alimento natural ou pela carência de determinados elementos não analisados nesse estudo, como vitaminas ou outros minerais.

7. CONCLUSÃO

A alimentação artificial estudada possui composição nutricional diferente à do pólen. Mas a diferença não é um fator que limitou a sobrevivência e crescimento dos indivíduos imaturos, ela apenas reduziu 9 dias a longevidade das operárias adultas de *M. flavolineata*. Recomenda-se pequenos ajustes nos ingredientes para próximas fabricações do alimento artificial, como a redução de açúcar e adição de ingredientes com elevado teor de proteínas.

REFERÊNCIAS

AMDAM, G.V.; OMHOLT, S.W.; The regulatory anatomy of honeybee lifespan. **Journal of Theoretical Biology**, v.216, p.209-228, 2002.

ARAÚJO, E.D.; COSTA, M.; CHAUD-NETTO, J.; FOWLER, H.G.; Body size and flight distance in stingless bees (Hymenoptera: Meliponini): Inference of flight range and possible ecological implications. **Brazilian Journal Biology**, v.64 (3B), p.563-568. 2004.

ALVES, D. A.; MENEZES, C.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L.; WENSELEERS, T. First discovery of a rare polygyne colony in the stingless bee *Melipona quadrifasciata* (Apidae, Meliponini). **Apidologie**, v.42, p.211-213. DOI: 10.1051/apido/2010053. 2010.

BARKER, R.J.; LEHNER, Y. Acceptance and sustenance value of naturally occurring sugars fed to newly emerged adult workers of honey bees (*Apis mellifera* L). **Journal of Experimental Zoology**, v.187, n.2, p.277-285. 1974.

BIESMEIJER, J. C.; TÓTH, E. Individual foraging, activity level and longevity in the stingless bee *Melipona beecheii* in Costa Rica (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). **Insect Sociology**, v.45, p.427-443. 1998.

BRASIL. Resolução RDC nº. 360, de 23 de dezembro de 2003. Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 26 dez. 2003.

BRODSCHNEIDER, Robert; CRAILSHEIM, Karl. Nutrition and health in honey bees. **Apidologie**, v.41, n.3, p.278-294. DOI: 10.1051/apido/2010012. 2010.

BRAND, Haroldo. O pólen coletado pelas abelhas sem ferrão (*Anthophila*, Meliponinae), Nota (Short communication); **Acta Biológica Paranaense**, Curitiba, v.40 (3-4), p.129-133. 2011.

CRUZ-LANDIM, C.; AKAHIRA, Y. Influencia da alimentação no desenvolvimento de algumas glândulas de *Trigona (Scaptotrigona) postica* Latreille (Hymenoptera: Apoidea). **Papéis Avulsos de Zoologia**, São Paulo, v.19, p.63-78. 1966.

CAMARGO, C.A. Dieta semiartificial para abelhas da subfamília *meliponinae* (Hymenoptera, Apidae). **Ciência e Cultura**, v.28, n.4, p.430-431. 1976.

CRAILSHEIM, K.; STOLBERG, E. Influence of diet, age and colony condition upon intestinal proteolytic activity and size of the hypopharyngeal glands in the honey bee (*Apis mellifera*). **Journal Insect Physiology**, v.35, n.8, p.595-602. 1989.

CAMARGO, J.M.F.; POSEY, D.A. Knowledge of the Kayapo on stingless social bees. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi, Série Zoologia**, v.6, n.1, p.17-42, 1990.

CAMARGO, J.M.F.; GARCIA, M.V.B.; JUNIOR E.R.Q.; CASTRILLON, A. Notas previas sobre a bionomia de *Ptilotrigona lurida* (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae): associação de leveduras em pólen estocado. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi**, v.8, p.391-395. 1992.

CRAILSHEIM, K.; SCHNEIDER, L.H.W.; HRASSNIGG, N.; BÜHLMANN, G.; BROSCHE, U. Pollen consumption and utilization in worker honey bee (*Apis mellifera carnica*): dependence on individual age and function. **Journal Insect Physiology**, v.38, p.409-419. 1992.

CRAILSHEIM, K.; HRASSNIGG, N.; LORENZ, W.; LASS A. Protein consumption and distribution in a honeybee colony (*Apis mellifera carnica* Pollm.), **Apidologie**, v.24, p.509-511. 1993.

CREMONEZ, T.M.; JONG, D.; BITONDI, M.M.G. Quantification of hemolymph proteins as a fast testing protein diets for honey bees (Hymenoptera: Apidae). **Journal of Economic Entomology**, v.91, p.1284-1289. 1998.

CAREY J.R. Demographic mechanisms for the evolution of long life in social insects. **Exp. Gerontol**, v.36, p.713-722. 2001.

CALLOW, R.K.; JOHNSTON, N.C.; SIMPSON, J. 10-hydroxy-2-decenoic acid in the honey bee (*Apis mellifera*). **Experientia**. 1959 apud WINSTON, M.L. A biologia da abelha. Tradução de OSOWSKI, C.A. Porto Alegre, **Magister**. 2003.

CASTRO, M.S.; KOEDAM, D.; CONTRERA, F.A.L.; VENTURIERI, G.C.; PARRA, G.N.; MALAGODI-BRAGA, K.S.; CAMPOS, L.A.O.; VIANA, M.; CORTOPASSI-LAURINO, M.; NOGUEIRA-NETO, P.; PERUQUETTI, R.C.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. Bee management for pollination purposes: Stingless bees. In: Bees as pollinators in Brazil: assessing the status and suggesting best practices (Imperatriz-Fonseca, V.L.; Saraiva, A.M.; De Jong D., eds.). **Holos Editora**, Ribeirão Preto, p.75-88. 2006.

CORTOPASSI-LAURINO, M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L.; ROUBIK, D.W.; DOLLIN A.; HEARD, T.; AGUILAR, I.; VENTURIERI, V.C.; EARDLEY, C.; NOGUEIRA-NETO, P. Global meliponiculture: challenges and opportunities. **Apidologie**, v.37, p.275-292. 2006.

COSTA, L.; VENTURIERI, G. C. Diet impacts on *Melipona flavolineata* workers (Apidae, Meliponini). **Journal of Apicultural Research**, v.48 (1), p. 38 – 45. 2009.

CRUZ- LANDIM, C. Abelha – morfologia e função dos sistemas. **Unesp**. 2009.

CAMARGO, J.M.F., PEDRO, S.R.M. Meliponini Lepeletier, 1836, in MOURE, J.S., URBAN, D., MELO, G.A.R. (Orgs), Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the **Neotropical Region**, 2013 – versão online, disponível In: <http://www.moure.cria.org.br/catalogue>, acessado em Jan/2015.

DIAS, A.M.; FILGUEIRA, M.A.; OLIVEIRA, F.L.; COSTA, E.M.; DIAS, V.H.P. Influência da alimentação artificial protéica no desenvolvimento de abelhas jandaira *Melipona subnitida* ducke) (apidae: meliponinae). **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável, Grupo Verde de Agricultura Alternativa (Gvaa)**, v.5, n.1, p.196-206. Issn 1981-8203, 2010.

ELTZ, T.; BRÜHL, C.A.; VAN DER KAARS, S.; LINSENMAIR, K.E. Assessing stingless bee pollen diet by analysis of garbage pellets: a new method. **Apidologie**, v.32, p.341–353, 2001.

ELTZ, T.; BRÜHL, C. A.; GÖRKE, C. Collection of mold (*Rhizopus* sp.) spores in lieu of pollen by the stingless bee *Trigona collina*. **Insectes sociaux**, v.49, p.28-30. 2002.

FERNANDES-DA-SILVA, P.G.; ZUCOLOTO, F.S. A semi-artificial diet for *Scaptotrigona depilis*. **Journal of Apicultural Research**, v.29, n.4, p.233-235. 1990.

FREITAS, Breno Magalhães. Conhecendo as abelhas. Centro de Ciências Agrárias - Departamento de Zootecnia. Universidade Federal do Ceará. 2003.

FREITAS, G.S.; SANTANA, W.C.; AKATSU, I.P.; SOARES, A.E.E. Abelhas para melhor idade: Curso de meliponíneos, alfabetização técnica para a conservação. **Bioscience Journal**, v.23, p.82-88. 2007.

FERREIRA, R.C. Avaliação das características físico-químicas e microbiológicas do pólen da *Melipona scutellaris* Latreille submetido a diferentes processos de desidratação. Dissertação

de mestrado. Pós-graduação em Ciência de alimentos, Faculdade de Farmácia, Universidade federal da Bahia. 2012.

FOLEY, K.; FAZIO, G.; JENSEN, A.B.; HUGHES, W.OH. Nutritional limitation and resistance to opportunistic *Aspergillus* parasites in honey bee larvae. **Journal of Invertebrate Pathology, Elsevier**, v.111, n.1, p.68-73. 2012.

GILLIAM, M., ROUBIK, D. E LORENZ, B. Microorganisms associated with pollen, honey and brood provision in the nest of a stingless bee, *Melipona fasciata*. **Apidologie**, v.21 p.89-97, 1990.

GENISSEL, A.; AUPINEL, P.; BRESSAC, C.; TASEI, J.N.; CHEVRIER, C. Influence of pollen origin on performance of *Bombus terrestris* micro-colonies. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.104, p.329–336. 2002.

GOMES, R.L.C.; MENEZES, C.; CONTRERA, F.A.L. Worker longevity in an Amazonian *Melipona* (Apidae, Meliponini) species: effects of season and age at foraging onset. **Apidologie (Celle)**, v.45, p.1, 2014.

HARTFELDER, K.; ENGELS, W.; The composition of larval food in stingless bees: evaluating nutritional balance by chemosystematic methods. **Insectes Sociaux**, v.36, p.1-14. 1989.

HEARD, T.A. The role of stingless bees in crop pollination. **Annual Review of Entomology**, v.44, p.183-206. 1999.

HALCROFT, M.; HAIGH, A.M.; SPOONER-HART, R. Ontogenic time and worker longevity in the Australian stingless bee, *Austroplebeia australis*. **Insect Sociology**, v.60, n.2, p.259-264. doi: 10.1007/s00040-013-0291-9 (in press). 2013.

Instituto Adolfo Lutz. ZENEBON, O.; PASCUET, N.S.; TIGLEA, P. Métodos físico-químicos para análise de alimentos/coordenadores -- São Paulo, 2008. 1020. p.

KERR, W.E.; PETRERRE JR, M.; DINIZ FILHO, J.A.F. Informacoes biologicas e estimativa do tamanho ideal da colmeia para a abelha tiuba do Maranhao (*Melipona compressipes fasciculata* Smith – Hymenoptera, Apidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, v.18, n.1, p.45-52. 2001.

KLEINERT, A.M.P.; RAMALHO, M.; CORTOPASSI-LAURINO, M.; RIBEIRO, M.F.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. Abelhas sociais (Bombini, Apini, Meliponini). In: PANIZZI, A.R.; PARRA, J.R.P. Bioecologia e nutrição de insetos: Base para o manejo integrado de pragas. **Embrapa**, Brasília-DF. 2009.

MICHENER, C. D.; *The Social Behavior of the Bees: A Comparative Study*. Cambridge, MA: **Harvard University Press**, 1974.

MATEUS, S.; NOLL, F.B. Predatory behavior in a necrophagous bee *Trigona hypogea* (Hymenoptera; Apidae, Meliponini). **Naturwissenschaften**, v.91, p.94–96. 2004.

MARCHINI, L.C. SODRÉ, G.S. MORETI, A.C.C.C. *Produtos Apícolas: Legislação Brasileira*. 1° ed. **Ribeirão Preto: A.S. Pinto**, p.130, 2005.

MURADIAN, L. B. A.; PAMPLONA, L. C.; COIMBRA, S.; BARTH, O. M. Chemical composition and botanical evaluation of dried bee pollen pellets. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.18, n.1, p.105-111, 2005.

MENEZES, C.; BONETTI, A. M.; AMARAL, I. M. R.; KERR, W. E.; Alimentação larval de *Melipona* (Hymenoptera, Apidae): estudo individual das células de cria. **Bioscience Journal**, v.23, p.70-75. 2007.

MICHENER, C.D. *The Bees of the World*. Baltimore. **Johns Hopkins University Press**, 2007.

MAGALHÃES, T.L.; VENTURIERI, G.C. Aspectos econômicos da criação de abelhas indígenas sem ferrão (Aidae: Meliponini) no nordeste paraense. **Embrapa Amazônia Oriental**, Belém, PA, p. 362010.

MENEZES, C. A produção de rainhas e a multiplicação de colônias em *Scaptotrigona aff. depilis* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). Tese. Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto/USP, 2010.

MENEZES, C.; VOLET-NETO, A.; CONTRERA, F.A.L.; VENTURIERI, G.C.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. The role of useful microorganisms to Stingless Bees and Stingless Beekeeping. In: Vit, P., Pedro, S. R. M. & Roubik, D. W. (Eds.) *Pot-Honey: a legacy of stingless bees*. **Springer New York Heidelberg Dordrecht London**, 2013 (a). p.153-172.

MENEZES, C.; VOLLET-NETO, A.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. An advance in the in vitro rearing of stingless bee queens. **Apidologie**, v.44, n.5, p.491-500. Doi: 10.1007/s13592-013-0197-6. 2013 (b).

MICHENER, C.D. The Meliponini, In: VIT, P.; PEDRO, S.R.M.; ROUBIK, D.W. *Pot-Honey: a legacy of stingless bees*. **Springer New York Heidelberg Dordrecht London**, p.03-18. 2013.

NOGUEIRA-NETO, P. A criação de abelhas indígenas sem ferrão. **Chácaras e Quintais**, São Paulo. 1953.

NOLL, F.B. Foraging Behavior on Carcasses in the Necrophagic Bee *Trigona hypogea* (Hymenoptera: Apidae). **Journal of Insect Behavior**, v.10, n.3. p.463-467. 1997.

NOGUEIRA-NETO, P. Vida e Criação de Abelhas Indígenas Sem Ferrão. **Editora Nogueirapis**, São Paulo, p,446 1997.

NUNES-SILVA, P.; HNRCIR, M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. A polinização por vibração. **Oecologia Australis**, v.14(1), p.140-151. 2010.

OLIVEIRA, P.S.; MULLER, R.C.S.; DANTAS, K.G.F.; ALVES, C.N. Ácidos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante em méis de *Melipona fasciculata*, *M. flavolineata* (apidae, meliponini) e *Apis mellifera* (apidae, apini) da Amazônia. **Química nova**, v.35, n.9, p.1728-1732. 2012.

PENEDO, M.C.T; TESTA, P.R.; ZUCOLOTO, F.S. Valor nutritivo do geval e do levedo de cerveja em diferentes misturas com polen para *Scaptotrigona* (*Scaptotrigona*) *postica* (Hymenoptera, Apidae). **Ciência e Cultura**, v.28, n.5, p.536-538. 1976.

PERUQUETTI, R.C. Contribuição ao estudo dos microrganismos e artrópodes associados às abelhas sem ferrão (hymenoptera: apidae). **Available at: <ftp://www.ufv.br/DBG/Apiario/inquilinos.pdf>**. 2000.

PEREIRA, F.M.; FREITAS, B.M.; NETO, J.M.V.; LOPES, M.T.R.; BARBOSA, A.L.; CAMARGO, R.C.R. Desenvolvimento de colônias de abelhas com diferentes alimentos proteicos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, p.1-7. 2006.

PEEL, M.C.; FINLAYSON, B.L.; MCMAHON, T.A. Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. **Hydr. Earth Systems Sciences**, v.4, p.439-473. 2007.

PANIZZI, A.R.; PARRA, J.R.P. Bioecologia e nutrição de insetos: Base para o manejo integrado de pragas. **Embrapa**, Brasília-DF. 2009.

PIRES, N. V. C. R.; VENTURIERI, G. C.; CONTRERA, F. A. L. Elaboração de uma dieta artificial protéica para *Melipona fasciculata*. **Embrapa Amazônia Oriental, (Documentos / Embrapa Amazônia Oriental, ISSN 1983-0513; 363), 2009. 23 p.**

PINHEIRO, E.B.; MARACAJÁ, P.B.; MESQUITA, L.X.; SOTO-BLANCO, B. OLIVEIRA-FILHO, R. B. Efeito de diferentes alimentos sobre a longevidade de operárias de abelha Jandaíra em ambiente controlado. **Revista verde de Agroecologia e desenvolvimento sustentável (GVAA)**, ISSN 1981- 8203. Mossoró – RN, v.4. n.3, p.50-56. 2009.

POTTS, S.G.; BIESMEIJER, J.C.; KREMEN, C.; NEUMANN, P.; SCHWEIGER, O.; KUNIN, W.E. Global pollinator declines: Trends, impacts and drivers. *Trends in Ecology & Evolution.*, v.25, p.345–353. 2010.

QUEZADA-EUÁN, J.J.G., LÓPEZ-VELASCO, A., PÉREZ-BALAM, J., MOO-VALLE, H., VELAZQUEZ-MADRAZO, A., PAXTON, R.J. Body size differs in workers produced across time and is associated with variation in the quantity and composition of larval food in *Nannotrigona perilampoides* (Hymenoptera, Meliponini). **Insect Sociology**, v.58, p.31-38. 2011.

ROUBIK, D. W.; Ecology and natural history of tropical bees. **Cambridge University Press**. New York, 1989. 514 p.

RAMALHO, M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L.; GIANNINI, T.C. Within-colony size variation of foragers and pollen load capacity in the stingless bee *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lepeletier (Apidae, Hymenoptera). **Apidologie**, v.29, p.221-228, 1998.

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

RAAD, R.S. Alimentação dos enxames com uso de ração proteica seca Coapivac e líquida estimulante. **Coapivac**, Rio de Janeiro. 2002. 7p.

RODRIGUES, R.S.; GOZZO, A.M.; MORETTI, R.H. Comportamento reológico de extratos de grão, farinha integral e isolado proteico de soja. **B. CEPPA**, Curitiba, v.21, n.2, p.367-378. 2003.

RORTAIS A.; ARNOLD G.; HALM M.P.; TOUFFET-BRIENS F. Modes of honeybees exposure to systemic insecticides: estimated amounts of contaminated pollen and nectar consumed by different categories of bees, **Apidologie** v.36, p.71–83, 2005.

RENSI, C.; Fluxo temporal de pólen em *Melipona marginata* Lepeletier (Apidae, Meliponini) em estações distintas. Dissertação. **Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo**. 2006.

SAKAGAMI, S.F.; ZUCCHI, R. Oviposition process in a stingless bee, *Trigona* (Scaptotri-

gona) postica Latreille (Hymenoptera). **Studia Entomologica**, v.6, p.497–510. 1963.

SAMPAIO, E. A. B. Caracterização do pólen apícola processado, comercial e armazenado na colmeia (pão das abelhas) de algumas localidades do Paraná. Curitiba. 118p. (Dissertação Mestrado) - Universidade Federal do Paraná. 1991.

SIMÕES, D.; BEGO, L.R. Division of labor, average life span and life table in *Nannotrigona* (*Scaptotrigona*) postica Latreille (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). **Naturalia** v.16, p.81-97. 1991.

SCHMIDT, J.O.; BUCHMANN, S.L. Other products of hive. In: GRAHAM, J.M.; AMGROSE, J.T.; LANGSTROTH, L.L. (eds). *The Hive and the honey bee: a new book on beekeeping which contines the tradition of “ Langstroth on the hive and the honeybee”*. **Hamilton: Dadant**, 1992. 928-977 p.

SILVA, P.G.F.; ZUCOLOTO, F.S. Influência de microrganismos no valor nutritivo do pólen para *Scaptotrigona depilis*, Moure (Hymenoptera, Apidae). In: 1º Encontro sobre abelhas em Ribeirão Preto. **Ribeirão Preto – SP. Anais**. 1994. p.232-242.

SOMERVILLE, D. Honey bee nutrition and supplementary feeding, Agnote DAI/178, NSW. **Agriculture**, 2000.

SILVEIRA, F.A.; MELO, G.A.R.; ALMEIDA, E.A.B. Abelhas brasileiras: sistemática e identificação. **Min. Meio Ambiente/Fund. Araucaria**. Belo Horizonte, MG, 2002. 253 p.

SOUZA, R.C.S., YUYAMA, L.K.O., AGUIAR, J.P.L., OLIVEIRA, F. P. M. Valor nutricional do mel e pólen de abelhas sem ferrão da região amazônica. **Acta Amazonica**, Manaus, v.34(2), p.333–336. 2004.

SOMERVILLE, D. Fat bees skinny bees - a manual on honey bee nutrition for beekeepers. Australian Government. **Rural Industries Research and Development Corporation**. 2005. 150 p.

SLAA, E.J.; SÁNCHEZ-CHAVES, L.A.; MALAGODI-BRAGA, K.S.; HOFSTEDÉ, F.E. Stingless bees in applied pollination: practice and perspectives. **Apidologie**, v.37, p.293-315. 2006.

SAGILI, R.R., PANKIW, T., Effects of protein-constrained brood food on honey bee (*Apis mellifera* L.) pollen foraging and colony growth. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v.61, p.1471–1478. 2007.

SÁ, N.P.; PRATO, M. Conhecendo as abelhas: um projeto de ensino. *Bioscience Journal*, v.23, p.107-110. 2007.

SOUZA, L.M. ; CORREIA, K.C. ; SANTOS, A.M.G. ; BARRETO, L.P. ; BEZERRA NETO, E. . Comparação de metodologias de análise de pH e acidez total titulável em polpa de melão. In: **X Jornada de Ensino Pesquisa e Extensão**, Recife. 2010.

VELTHUIS, H.H.W. The historical background of the domestication of the Bumblebee, *Bombus terrestris*, and its introduction in agriculture. In: *Pollinating Bees -The Conservation Link Between Agriculture and Nature* (Kevan, P.; Imperatriz- Fonseca, V.L., eds.). **Ministério do Meio Ambiente**, Brasília, 2002. 177-184 p.

VELTHUIS, H.H.W.; VAN DOORN, A. A century of advances in bumblebee domestication and the economic and environmental aspects of its commercialization for pollination. *Apidologie*, v.37, p.1-31. 2006.

VEIGA, J.C.; MENEZES, C.; VENTURIERI, G.C., CONTRERA, F.A.L. The bigger, the smaller: relationship between body size and food stores in the stingless bee *Melipona flavolineata*. *Apidologie*, v.44, n.3, p.324-333. DOI (10.1007/s13592-012-0183-4), 2012.

YAMAMOTO, D. Y.; AKATSU, I. P.; SOARES, A. E. E. Quantificação da produção do mel de *Scaptotrigona aff. depilis* (Hymenoptera, Apidae, Apinae) do município de Luiz Antônio, São Paulo, Brasil. **Bioscience Journal**. Uberlândia, v.23, suplemento 1, p.89-93. 2007.

WINSTON, M.L. A biologia da abelha. Tradução de OSOWSKI, C.A. Porto Alegre, **Magister**. 2003.

ZUCOLOTO, F.S. Aspectos gerais da nutrição de insetos, com especial referência em abelhas. In: **ENCONTRO SOBRE ABELHAS**, 1., 1994, Ribeirão Preto. Anais. Ribeirão Preto, SP: Universidade de São Paulo, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, 1994. 27-37 p.

ZUCOLOTO, F.S. Valor nutritivo de polens usados por diferentes espécies de abelhas para *Nannotrigona* (*Scaptotrigona*) *postica* (Hymenoptera, Apoidea). **Revista Brasileira de Biologia**, v.35, n.1, p.77-82. 1975.

ZUCOLOTO, F. S. Nutritive-value of some pollen substitutes for *Nannotrigona* (*scaptotrigona*)-*postica*. **Journal of Apicultural Research**, v.16, p.59-61. 1977.

ZERBO, A. C.; SILVA DE MORAES; R. L. M. Avaliação do tipo de digestão e do grau de aproveitamento dos grãos de pólen ingeridos por larvas e adultos de *Trigona spinipes* (Hymenoptera: Apidae, Meliponinae). **Anais II Encontro sobre abelhas**. Ribeirão Preto, SP, Brazil, 1996. 281 p.

ZERBO, A. C.; SILVA DE MORAES, R.L.M.; BROCHETTO-BRAGA, M.R. Protein requirements in larvae and adults of *Scaptotrigona postica* (Hymenoptera: Apidae, Meliponinae): midgut proteolytic activity and pollen digestion. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, v.129, p.139-147. 2001.