

**DIETAS ENERGÉTICAS E PROTÉICAS PARA
ADULTOS DE *Apis mellifera* Linnaeus, 1758
(Hymenoptera: Apidae)**

DEODORO MAGNO BRIGHENTI

2009

DEODORO MAGNO BRIGHENTI

**DIETAS ENERGÉTICAS E PROTÉICAS PARA ADULTOS
DE *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae)**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Entomologia, área de concentração em Entomologia Agrícola, para obtenção do título de “Doutor”.

Orientador

Prof. César Freire Carvalho

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2009

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Brighenti, Deodoro Magno

Dietas energéticas e protéicas para adultos de *Apis mellifera*
Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae) / Deodoro Magno Brighenti. --
Lavras : UFLA, 2009.

106 p. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2009.

Orientador: César Freire Carvalho.

Bibliografia.

1. Abelha. 2. Limão. 3. Sobrevivência. 4. Tempo Letal. I.
Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 595.799

DIETAS ENERGÉTICAS E PROTÉICAS PARA ADULTOS DE *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae)

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Entomologia, área de concentração em Entomologia Agrícola, para obtenção do título de “Doutor”.

APROVADA em 23 de outubro de 2008

Dra. Brígida Souza	UFLA
Dr. Geraldo Andrade Carvalho	UFLA
Dr. Luiz Carlos de Oliveira Lima	UFLA
Dr. Rogério Antônio Silva	EPAMIG-CTSM
Dr. Wellington Garcia Campos	UFSJ

Prof. César Freire Carvalho
UFLA
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL

Aos meus pais, Francisco Chaves dos Santos e Haydée Brighenti dos Santos,
pelo amor, incentivo e exemplo.

Aos meus irmãos, Alexandre Magno Brighenti, Marcos Magno
Brighenti, Carlos Magno Brighenti e Esther Maria Brighenti por
estarem sempre presentes e compartilharem cada momento.

Ao meu sogro Eurico de Souza Guimarães (*in memoriam*)
e à minha sogra Zélia de Oliveira Guimarães
pelo apoio, carinho e compreensão.

DEDICO

À minha amada Rainha Carla Regina Guimarães Brighenti, companheira, amiga
de todas as horas, essência de todos os momentos e sucesso de minhas vitórias.

Aos nossos zangãozinhos Lucas e Tiago Guimarães Brighenti, que nos dão
sempre força para termos mais paciência.

“Apaixonar-se por Deus é o maior dos romances;
procurá-lo, a maior aventura;
encontrá-lo, a maior de todas as realizações”.

Santo Agostinho

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida, saúde e força para enfrentar os desafios.

À Universidade Federal de Lavras, em especial ao Departamento de Entomologia, pela oportunidade de concretização deste trabalho.

À Fundação de Amparo e Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo financiamento de meus estudos.

Ao professor César Freire Carvalho pelas sugestões, críticas, paciência e ensinamentos durante o curso e principalmente por sua amizade.

Aos professores do Departamento de Entomologia e em especial ao professor Geraldo Andrade Carvalho pela competência e apoio a esse trabalho no Laboratório de Seletividade.

Aos professores de estatística Marcelo Ângelo Cirillo da UFLA e Carla Guimarães Brighenti da UFSJ pelo suporte das análises.

Aos funcionários do Departamento de Entomologia, Fábio Pereira Carriço, Liziane de Oliveira Orlandi, Nazaré de Moura, Elaine Aparecida Louzada, Anderson Vitor de Gouvea, Júlio Augusto Filho, Irene Santos Oliveira e Geraldo Antônio de Jesus pela amizade e ajuda sem medir esforços.

Aos professores Luís Carlos de Oliveira Lima e Carlos José Pimenta do Departamento de Ciência de Alimentos pelo auxílio nos experimentos e concessão do Laboratório/DCA.

Às três “Irmãs” do Departamento de Ciência de Alimentos Constantina Maria Braga Torres, Sandra Mara Lacerda Silva e Creusa Pedroso Amaral Rezende, pelo incentivo, apoio nas análises laboratoriais.

Ao “abelhudo” Stephan Malfitano Carvalho que, mesmo de longe, deu suporte para a conclusão dessa pesquisa.

Ao amigo Gustavo Scofield Oliveira do curso de Graduação/Agronomia pela colaboração nos experimentos.

A todos que, de uma forma ou de outra, contribuíram para a concretização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	i
ABSTRACT	ii
INTRODUÇÃO GERAL.....	01
Referências Bibliográficas.....	04
CAPÍTULO 1. Sobrevivência de <i>Apis mellifera</i> Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae) confinadas e alimentadas com dietas energéticas e protéicas	07
Resumo.....	08
Abstract	09
Introdução	10
Material e Métodos	12
Execução do experimento.....	12
Cálculo das estimativas dos parâmetros avaliados e identidades de modelos	14
Resultados e Discussão.....	17
Dietas compostas por carboidratos	17
Dietas compostas por proteínas	24
Conclusões.....	30
Referências Bibliográficas.....	31
CAPÍTULO 2. Tempo de vida de <i>Apis mellifera</i> Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae) alimentada com dieta acrescida de ácido cítrico e suco de limão	35
Resumo	36
Abstract.....	37
Introdução.....	38
Material e Métodos	40
Resultados e Discussão.....	42

Adição de ácido cítrico na solução aquosa de açúcar cristal a 50%	42
Adição de suco de limão em solução aquosa de açúcar cristal a 50%	50
Conclusões.....	56
Referências Bibliográficas.....	56
CAPÍTULO 3. Inversão da sacarose utilizando ácido cítrico e suco de limão para preparo de dieta energética de <i>Apis mellifera</i> Linnaeus, 1758	61
Resumo	62
Abstract.....	63
Introdução.....	64
Material e Métodos	66
Resultados e Discussão.....	69
Conclusões.....	79
Referências Bibliográficas.....	80
CAPÍTULO 4. Longevidade de <i>Apis mellifera</i> Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae) alimentada com mel e pólen coletado no favo	83
Resumo.....	84
Abstract.....	85
Introdução.....	86
Material e Métodos	89
Obtenção de adultos de <i>Apis mellifera</i>	89
Avaliação da longevidade de <i>Apis mellifera</i>	90
Resultados e Discussão.....	92
Conclusões.....	99
Referências Bibliográficas.....	99
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	105

RESUMO

BRIGHENTI, Deodoro Magno. **Dietas energéticas e proteicas para adultos de *Apis mellifera* Linnaeus 1758 (Hymenoptera: Apidae)**. 2009. 106 p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG.*

A dieta fornecida a adultos de *Apis mellifera* em confinamento é um fator relevante na sobrevivência desses insetos. Em época de escassez de néctar pode-se fornecer à colméia uma suplementação alimentar com solução de sacarose desdobrada em meio ácido e aquecimento, podendo-se utilizar o ácido cítrico encontrado no suco de limão. Nesta pesquisa avaliou-se a sobrevivência desses insetos confinados e alimentados com dietas energéticas e proteicas e foi também quantificada a inversão da sacarose presente nessas dietas. As pesquisas foram realizadas no laboratório de Biologia de Insetos do Departamento de Entomologia da Universidade Federal de Lavras – UFLA. Os tratamentos com dieta energética foram: mel, açúcar cristal, açúcar cristal + ácido tartárico a 1%, açúcar cristal + suco de limão a 5%, Gludex[®], frutose, pasta Cândi e água. Aquelas para alimentação proteica foram: pólen, germe de trigo, farinha de arroz, farelo de arroz, lêvedo de cerveja, creme de milho, farinha de soja e mel cristalizado. Para avaliar a hidrólise da sacarose em cada dieta utilizou-se ácido cítrico nas concentrações 0,0; 0,1; 0,16; 0,3; 0,5 e 0,7 g e também de 1,0; 5,0; 10,0; 15,0 e 20,0 mL de suco dos limões Galego [*Citrus aurantifolia*], Tahiti [*Citrus latifolia*] e Cravo [*Citrus limonia*]. Foram utilizadas dez repetições para cada tratamento, cada uma composta de dez abelhas. Contou-se o número de abelhas sobreviventes a cada 12h e ajustou-se a curva de sobrevivência segundo o modelo Weibull e calculou-se o TL₁₀, TL₂₀, TL₅₀ e TL₉₉. Constatou-se que, entre as dietas energéticas testadas, açúcar cristal acrescido de suco de limão permite a maior sobrevivência. Entre as dietas proteicas testadas, constatou-se que não há diferença significativa. O limão Galego permitiu a obtenção de 55,65 % de inversão quando foi utilizado 20 mL de suco. Para o limão Cravo foi encontrada a menor porcentagem de inversão. A longevidade das abelhas em laboratório foi obtida quando os insetos recém-emergidos de uma gaiola mantida em câmara climática e alimentados com 1. mel; 2. pólen do favo; 3. pólen do favo + mel e 4. água. A utilização de adultos de idade conhecida permitiu o cálculo de estimativas precisas da longevidade dos insetos em função da dieta usada.

* Orientador: César Freire Carvalho - UFLA.

ABSTRACT

BRIGHENTI, Deodoro Magno. **Energetic and protein diet for adults of *Apis mellifera* Linnaeus 1758 (Hymenoptera: Apidae)**. 2009. 106 p. Thesis (Doutorate in Entomology) – Federal University of Lavras, Lavras-MG.*

The diet fed to adults of *Apis mellifera* in confinement is a relevant factor in the survival of these insects. In times of nectar shortage, a feeding supplementation with a solution of hydrolyzed sucrose through acid and heating can be given to the hive; citric acid found in lemon juice could be used. In this research, the survival of these confined insects fed with energetic and protein diets was evaluated and the inverted sucrose present in these diets was quantified. The research was accomplished at the Insect Biology Laboratory of the Entomology Department of the Federal University of Lavras – UFLA. The treatments with energetic diet were: honey, granulated sugar, granulated sugar + 1% tartaric acid, granulated sugar + 5% lemon juice, Gludex[®], fructose, Candy paste and water. The protein treatments were: pollen, wheat germ, rice flour, rice bran, beer yeast, corn cream, soy flour and crystallized honey as control. To evaluate sucrose hydrolysis in each diet, citric acid at the concentrations 0.0; 0.1; 0.16; 0.3; 0.5 and 0.7 g was utilized and also of 1.0; 5.0; 10.0; 15.0 and 20.0 mL of Galego [*Citrus aurantifolia*], Tahiti [*Citrus latifolia*] and Cravo [*Citrus limonia*] lemon juice. Ten replicates, each one composed of ten bees, were used for each treatment. The number of surviving bees was counted every 12 hours and the survival curve was adjusted according to the Weibull model and LT₁₀, LT₂₀, LT₅₀ and LT₉₉ were calculated. It was found that, among the energetic diets tested, granulated sugar added enriched with lemon juice allows the largest survival. It is demonstrated that there is no significant difference among the tested protein diets. The Galego lemon allowed the obtaining of 55.65 % of inversion when 20 mL of juice was used. The lowest percentage of inversion was found for the Cravo lemon. The bees' longevity in laboratory was obtained of the newly-emerged bees from a cage maintained in a climate chamber and fed with 1. honey; 2. pollen; 3. comb pollen + honey and 4. water. The use of adults of known age allowed precise estimates of the insects' longevity in function of the diets.

* Adviser: César Freire Carvalho - UFLA.

INTRODUÇÃO GERAL

As abelhas *Apis mellifera scutellata* (Lepeletier, 1836), ou simplesmente abelhas africanas, foram introduzidas no Brasil em 1956, onde sofreram um processo de hibridização, principalmente com *Apis mellifera mellifera* Linnaeus, 1758, *Apis mellifera ligustica* (Spinola, 1808), *Apis mellifera caucasica* (Gorbachev, 1916) e *Apis mellifera carnica* (Pollmann, 1879), sendo essas abelhas européias trazidas anteriormente para o Brasil. Desse processo de africanização das abelhas européias surgiu a abelha poli-híbrida africanizada, ou simplesmente abelha africanizada que, segundo Whitfield et al. (2006), apresenta particularidades inerentes ao novo híbrido que não permitem seu agrupamento com nenhuma das subespécies originais. As abelhas africanizadas apresentam características positivas e negativas, destacando-se como positivas a alta produtividade, a capacidade de adaptação e resistência a doenças, e como negativas a defensividade e a tendência migratória. Por essas especificidades, as abelhas africanizadas são responsáveis por inúmeras e relevantes pesquisas, principalmente sobre manejo, melhoramento genético, inseminação instrumental, produção de rainhas, polinização e caracterização da própolis (Soares & De Jong, 1992).

O Brasil é reconhecido pelo seu potencial para a exploração apícola em função da sua extensa área territorial e diversidade de plantas nectaríferas, poliníferas e propoliníferas. Entretanto, as floradas se concentram em períodos curtos de acordo com a região (Marcucci & Bankova, 1999).

O crescimento populacional da *A. mellifera* é dependente, entre outros fatores, da sua dieta alimentar, sendo que os tipos e quantidades de alimentos coletados estão relacionados às necessidades da colônia, bem como à disponibilidade desses no ambiente. Na ausência de floradas, quando a reserva

de alimento na colônia for insuficiente, é aconselhável o fornecimento de alimentação artificial às abelhas para manter as colônias populosas (Nabors, 1996; Cremonez, 2001). O alimento fornecido pode ser energético, protéico ou uma mistura dos dois, dependendo da suplementação necessária, sendo importante observar as características da atratividade, deterioração, custos, disponibilidade no mercado e valor nutricional (Standifer et al., 1977; Stace & Hayter, 1994).

Os testes com adultos de abelhas em laboratório são menos dispendiosos do que os realizados em campo. Podem ser repetidos várias vezes com rapidez de resultados, ao contrário das condições adversas encontradas no meio ambiente, sendo que, neste caso, um dos fatores mais preponderantes é a dependência do fluxo de néctar e pólen que não se encontra disponível ao longo de todo o ano (Kulincevic & Rothebuhler, 1973). No entanto, a alimentação de abelhas em laboratório ainda apresenta dificuldade aos pesquisadores, já que se trata de um inseto social (Southwick, 1992). Faz-se necessário otimizar as condições laboratoriais para que a correta manutenção seja feita, permitindo maior longevidade aos indivíduos para que experimentos realizados com esses, em confinamento, venham corresponder de maneira objetiva aos efeitos esperados em campo (Organisation Europeenne and Mediterranee pour la Protection des Plantes - OEPP, 2006).

Normalmente, os padrões utilizados para manutenção de abelhas africanizadas em condições de laboratório no Brasil, ainda se baseiam em normas sugeridas pela United States Environmental Protection Agency - U.S.EPA (1996) e OEPP (2006), que se fundamentam em abelhas que são adaptadas a outras condições climáticas. Winston (1987) relatou que operárias de abelhas de países tropicais têm menor tempo de vida do que as oriundas de clima temperado.

Para dietas alimentares, a U.S.EPA (1996) preconizou que, em testes toxicológicos, deve ser administrada às abelhas européias, durante os experimentos, uma solução composta por água destilada e açúcar (1:1) fornecida *ad libitum*. Outra opção abordada por Bailey, (1966) e Ibrahim (1982) é a utilização da solução aquosa de açúcar cristal invertido que contém uma mistura de glicose, frutose e sacarose. Essa inversão é obtida através da hidrólise ácida ou enzimática da sacarose. No caso da hidrólise ácida, é aconselhável utilizar um ácido que seja adequado ao uso alimentar, destacando-se o ácido cítrico (Rodrigues et al., 2000).

O ácido cítrico é um componente encontrado em várias frutas cítricas, como o limão, podendo apresentar cerca de 6,0 % no suco da fruta (Holme & Peck, 1998). O Brasil se destaca como o segundo maior produtor de frutos cítricos e o maior exportador de sucos cítricos, sendo o limão uma espécie arbórea encontrada em todo território brasileiro (Pedrão et al., 1999).

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar em laboratório a sobrevivência de adultos de abelhas africanizadas alimentadas com algumas dietas protéicas e energéticas, incluindo o fornecimento de uma solução aquosa de sacarose acrescida de suco de limões, como alternativa à utilização do ácido cítrico para inversão da sacarose em dietas alimentares. Além disso, verificou-se também a longevidade de *A. mellifera* a partir de imagos recém-emergidos e alimentados com mel e pólen obtido do favo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAILEY, L. The effect of acid-hydrolysed sucrose on honeybees. **Journal of Apicultural Research**, England, v. 5, n. 3, p. 127-136, Jun. 1966.

CREMONEZ, T.M. **Influência da nutrição sobre aspectos da fisiologia e nutrição de abelhas *Apis mellifera***. 2001. 87 p. Tese (Doutorado em Entomologia) - Faculdade de Filosofia Ciências e Letras. Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

HOLME, D. J.; PECK, H. **Analytical biochemistry**. Singapore: Longman, 1998. 488 p.

IBRAHIM, S. H. Preference and effect of feeding of some types of sugar on honey bees. **Journal of Pest Science**, Berlin, v. 55, p. 101 – 103, July 1982.

KULINCEVIC, J. M.; ROTHENBUHLER, W.C. Laboratory and field measurements of hoarding behaviour in the honeybee (*Apis mellifera*). **Journal of Apicultural Research**, Ohio, v.12, p.179-182, Oct. 1973.

MARCUCCI, M. C.; BANKOVA, V. S. Chemical composition, plant origin and biological activity of Brazilian propolis. **Current Topics in Phytochemistry**, India, v. 2, p. 116-123, 1999.

NABORS, R.A. Using mixtures of different sugars to feed bees. **American Bee Journal**, Hamilton, IL, v. 135, n.11, p. 785-786, 1996.

ORGANIZATION EUROPEENNE ET MEDITERRANEENNE POUR LA PROTECTION DES PLANTES. Normes OEPP EPPPO standards. Efficacy evolution of plant protection products. Evaluation biologique des produits phytosanitaires. **Bulletin OEPP EPPPO Bulletin**, Paris, v. 36, n. 3, p. 543-545, Dec. 2006.

PEDRÃO, M. R.; BELEIA, A.; MODESTA, R.C. D.; PRUDENCIO-FERREIRA, S. H. Estabilidade físico-química e sensorial do suco de limão Tahiti natural e adoçado, congelado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 19, n. 2, p. 282-286, maio/ago. 1999.

RODRIGUES, M. V. N.; RODRIGUES, R. A. F.; SERRA, G. E.; ANDRIETTA, S. R.; FRANCO, T. T. Produção de xarope de açúcar invertido obtido por hidrólise heterogênea, através de planejamento experimental. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 20, n. 1, p. 2-15, abr. 2000.

SOUTHWICK, E. E. Physiology and social physiology of the honey bee. In: GRAHAM, J.M. (Ed.). **The hive and the honey bee**. Hamilyon, IL: DADANT & SONS, 1992. 1324 p.

SOARES, A.E.E.; DE JONG, D. **Pesquisas com abelhas no Brasil**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1992. 680 p.

STACE, P.; HAYTER, J. Palatability of five protein feedstuffs by honey bees (*Apis mellifera*). **Australian Beekeeper**, Australia, 96, n. 1, p. 23 - 25, 1994.

STANDIFER, L. N.; MOELLER, F. E.; KAUFFELD, N. M.; HERBERT JÚNIOR, E. W.; SHIMANUKI, H. Supplemental feeding of honey bee colonies. **Agriculture Information Bulletin**, Washington, DC, n. 413, 1977.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Ecological effects test guidelines. OPPTS 850.3020 Honey bee acute contact toxicity. EPA, Washington, DC, n. 712, Apr. 1996.

WHITFIELD, C. W.; BEHURA, S. K.; BERLOCHER, S. H.; CLARK, A. G.; JOHNSTON, J. S.; SHEPPARD, W. S.; SMITH, D. R.; SUAREZ, A. V.; WEAVER, D.; TSUTSUI, N.D. Thrice out of Africa: ancient and recent expansions of the honey bee, *Apis mellifera*. **Science**, v. 314, n. 5799, p. 642-645, Oct. 2006.

WINSTON, M. L. **The biology of the honey bee**. London: Harvard University, 1987. 281 p.

CAPÍTULO 1

**SOBREVIVÊNCIA DE *Apis mellifera* Linnaeus, 1758
(Hymenoptera: Apidae) CONFINADAS E ALIMENTADAS
COM DIETAS ENERGÉTICAS E PROTÉICAS**

RESUMO

BRIGHENTI, Deodoro Magno. Sobrevivência de *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae) confinadas e alimentadas com dietas energéticas e proteicas. In: _____. **Dietas energéticas e proteicas para adultos de *Apis mellifera* Linnaeus 1758 (Hymenoptera: Apidae)**. 2009. cap. 1, p. 07 - 34. Tese(Doutorado em Entomologia)–Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG.

A criação e manutenção de adultos de abelhas africanizadas *Apis mellifera* Linnaeus em laboratório é uma necessidade atual, principalmente devido ao aumento da utilização desses insetos em pesquisas relacionadas a diversas áreas, tais como biologia, comportamento, nutrição, estudos toxicológicos etc. Contudo, com abelhas encontradas na região Neotropical, as pesquisas científicas são escassas. Assim, avaliou-se a sobrevivência de adultos de *A. mellifera* alimentados com dietas energéticas e proteicas, confinados em laboratório a $28 \pm 2^\circ\text{C}$, UR 70 ± 10 e fotofase de 12 horas. As dietas contendo carboidratos foram: mel, açúcar cristal, açúcar cristal + ácido tartárico a 1%, açúcar cristal + suco de limão [*Citrus limonia* (L.) Osbeck] a 5%, Gludex[®] e frutose, todos em soluções aquosas a 50%. Além desses compostos utilizou-se também a pasta Cândi e água. Para as dietas proteicas, foram empregados: pólen, germe de trigo, farinha de arroz, farelo de arroz, lêvedo de cerveja, creme de milho, farinha de soja e mel cristalizado como testemunha. Foram utilizadas dez repetições para cada tratamento, cada uma composta de dez abelhas. Contou-se o número de abelhas sobreviventes a cada 12 horas até completar 240 horas ajustando-se a curva de sobrevivência pelo modelo Weibull e calculando-se o TL₁₀, TL₂₀, TL₅₀ e TL₉₉. Constatou-se que, entre as dietas energéticas testadas, aquela composta de solução aquosa de açúcar cristal acrescida de suco de limão Cravo permitiu a maior longevidade, com aproximadamente 210 horas. Entre as dietas proteicas testadas, verificou-se que não houve diferença significativa, constatando uma sobrevivência média para o TL₅₀ de apenas 26,44 horas.

Palavras-chave: abelha, mortalidade, tempo letal, dieta, longevidade.

ABSTRACT

BRIGHENTI, Deodoro Magno. Survival of confined *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae) fed with energetic and protein diet. In: _____.
Energetic and protein diet for adults of *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae). 2009. cap. 1, p. 07 - 34. Thesis (Doctorate in Entomology) – Federal University of Lavras, Lavras-MG.

The creation and maintenance of adults of africanized *Apis mellifera* Linnaeus in laboratory is a current need, mainly due to the increase of the use of those insects in researches related to several knowledge fields, such as biology, behavior, nutrition, toxicological studies etc. However, for the bees found in neotropical areas, scientific researches are scarce. The survival of laboratory confined *A. mellifera* adults fed with energetic and protein diets was evaluated. The diets containing carbohydrates were: honey, granulated sugar, granulated sugar + 1% tartaric acid, granulated sugar + 5% lemon juice [*Citrus limonia* (L.) Osbeck], Gludex and fructose, diluted in water 50%, Candy grazes and water (control) were used. The protein diet treatments were: pollen, wheat germ, rice flour, rice bran, beer yeast, corn cream, soy flour and crystallized honey (control). Ten replicates each one composed of ten bees were used in each treatment. The number of surviving bees was counted every 12 hours until reaching 240 hours. The survival curves were adjusted by the Weibull model and LT_{10} , LT_{20} , LT_{50} and LT_{99} were calculated. It was found that, among the energetic diets tested, the addition of lemon juice to granulated sugar diet allowed the longest longevity, reaching, approximately, 210 hours. It was demonstrated that there is no significant difference among the tested protein diets, with LT_{50} of only 26.44 hours.

Key words: bee, mortality, lethal time, diet, longevity.

INTRODUÇÃO

O estudo sobre a sobrevivência de adultos de abelhas *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 constitui uma análise complexa, e que envolve diversos fatores, entre os quais, a alimentação que tem fundamental importância para esse inseto durante a fase adulta (Winston, 1987; Schmidt et al., 1987; Herbert Júnior, 1992; Brighenti et al., 2007). É comum, em condições naturais, a migração dos enxames, em função da falta de alimento, para locais onde esses recursos são abundantes. Pode-se corrigir ou minimizar esse fator fazendo a suplementação alimentar da colônia, permitindo melhores condições de sobrevivência e impedindo que as abelhas abandonem a colméia.

Haydak (1970) e Manning (2001) relataram sobre a necessidade de se conhecer e avaliar a composição nutricional adequada de uma dieta, a qual poderá influenciar a longevidade das abelhas. Para se obter essas informações, são necessários testes laboratoriais envolvendo o confinamento das abelhas, onde poderá ser avaliada como alimento uma dieta composta de carboidratos, proteínas, lipídios, vitaminas e minerais (Knox et al., 1971; Dietz, 1975; Johansson & Johansson, 1977; Zakaria, 2007).

Em condições naturais, a fonte protéica utilizada pelas abelhas é o pólen e a energética é o néctar, oriundos de diversos vegetais. O pólen, além de ser a fonte nitrogenada, é um produto rico em lipídios, vitaminas e minerais (Herbert Júnior, 1992; Schmidt et al., 1995).

Em períodos de escassez de néctar e/ou pólen, pode ocorrer a diminuição da oviposição e a redução da densidade populacional de adultos, ou mesmo a perda da colônia. A falta de pólen poderá também induzir ao canibalismo das larvas, comportamento incomum nesse grupo de insetos, sendo essas utilizadas como fonte de proteína para sobrevivência da colônia até a

normalização das condições ambientais (Winston, 1987, Schmick & Crailsheim, 2001; Pereira, et al., 2006). Crailsheim (1990) relatou que abelhas, alimentadas com dietas deficientes em proteína, apresentavam redução no tamanho das glândulas hipofaríngeas e, conseqüentemente, menor produção de geléia real.

A suplementação alimentar mais utilizada para as abelhas em condições naturais é formada por uma mistura de água e açúcar (Shuel, 1975; White, 1975). Sabe-se que esse inseto não utiliza a sacarose diretamente na sua alimentação (Herbert Júnior, 1992) sendo necessário o seu desdobramento em glicose e frutose por meio de enzimas. Assim, a alimentação artificial pode ser feita oferecendo o denominado “açúcar invertido”, que é obtido por meio da hidrólise da sacarose em meio ácido, formando uma mistura de glicose e frutose (Guy, 1992). Segundo Barker (1977), o emprego desse alimento fará com que ocorra um menor desgaste metabólico inerente ao inseto pela necessidade de transformação da sacarose e, possivelmente, como conseqüência, maior longevidade dos adultos de *A. mellifera*.

A necessidade de se preparar uma dieta adequada para abelhas mantidas em confinamento é plenamente justificável, pois, além da utilização em laboratório, poderá ser utilizada como fonte alimentar das colônias durante o período de escassez de néctar e pólen.

Assim, levando-se em consideração a importância que representa a alimentação de adultos de *A. mellifera* mantidas em confinamento, este trabalho foi realizado com o objetivo de se avaliar e comparar o tempo de vida desses insetos quando alimentados com dietas compostas por carboidratos e proteínas em condições de laboratório.

MATERIAL E MÉTODOS

Execução do experimento

Para avaliar e comparar a sobrevivência de operárias de abelhas alimentadas com dietas energéticas e protéicas foram utilizados adultos provenientes do ninho de uma colônia selecionada no Apiário Central da Universidade Federal de Lavras – UFLA. Os critérios utilizados para a seleção da colônia foram os seguintes: histórico da produção de mel, ausência de doenças e parasitas, alta densidade populacional e contendo todos os quadros de ninhos e uma melgueira. Normalmente, as abelhas localizadas no ninho são aquelas mais jovens, com idade em média de 12 dias, que ainda não desempenharam atividades de forrageamento (Winston, 1987). Em laboratório foram anestesiados com dióxido de carbono por 120 segundos e separados grupos de dez indivíduos. Logo após, foram colocados em gaiolas de PVC de 15 cm de altura por 10 cm de diâmetro, com a parte superior revestida com filó e a inferior com organza e mantidas em uma sala climatizada a 28 ± 2 °C, UR $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

Foram feitos dois ensaios, sendo o primeiro destinado a conhecer o efeito de dietas compostas essencialmente por carboidratos na sobrevivência de abelhas. Foram utilizados os tratamentos: 1. mel; 2. açúcar cristal comercial; 3. açúcar cristal + 1% de ácido tartárico; 4. açúcar cristal + 5% de suco de limão cravo (*Citrus limonia* Osbeck); 5. Gludex® (açúcar invertido comercial) e 6. frutose comercial, todos diluídos em água a 50%. O tratamento 7, pasta Cândi, foi preparada de açúcar de confeitiro acrescido de mel, o tratamento 8, água destilada, foi usado como testemunha. O delineamento foi inteiramente casualizado com dez repetições. Para facilitar a dissolução da sacarose, os tratamentos 2, 3 e 4 foram submetidos ao aquecimento até a ebulição e

posteriormente resfriados à temperatura ambiente. Os alimentos na forma líquida foram fornecidos às abelhas por meio de um rolo de algodão dentário inserido através de um orifício na tampa plástica de um frasco de vidro de 20 mL e mantido no fundo de cada gaiola de confinamento. A pasta Cândi foi fornecida colocando uma porção em uma tampa plástica de 5 mm de altura por 4 cm de diâmetro e mantida no interior da gaiola. A água foi fornecida por meio de um chumaço de algodão colocado sobre o tecido de vedação de cada gaiola e umedecido diariamente. Foi avaliada a sobrevivência de adultos *A. mellifera* a cada 12 horas, contada a partir da montagem do experimento até a mortalidade total.

O segundo ensaio foi conduzido para avaliar o efeito de dietas compostas essencialmente por proteínas na sobrevivência de abelhas. Empregaram-se os seguintes tratamentos: 1. pólen apícola recolhido de coletor adaptado ao alvado da colméia, cujo teor protéico foi de 14,7 %, determinado no Laboratório de Bromatologia do Departamento de Ciência dos Alimentos da UFLA; 2. germe de trigo (22,0 %); 3. farinha de arroz (16,0 %); 4. farelo de arroz (14,0 %); 5. lêvedo de cerveja (41,0 %); 6. creme de milho (8,0 %); 7. farinha de soja (45,0 %) e 8. mel cristalizado como testemunha. Para os tratamentos 2 a 7, os teores de proteína foram fornecidos pelos fabricantes.

Os tratamentos, com exceção do 8, foram diluídos na proporção de três partes de alimento protéico para uma de mel, obtendo-se uma consistência pastosa. A dieta foi fornecida às abelhas usando-se uma tampa plástica de 0,5 cm de altura x 4 cm de diâmetro contendo o alimento e colocada no interior de cada gaiola e água fornecida como no primeiro ensaio. A sobrevivência das abelhas foi avaliada a cada 12 horas, até a mortalidade total.

Cálculo das estimativas dos parâmetros avaliados e identidade de modelos

Em estudos entomológicos que envolvem uma resposta temporal, os insetos são acompanhados em coletas periódicas de dados e sabe-se apenas que a ocorrência de interesse, a morte, ocorreu em um certo intervalo de tempo. Pelo fato de não se conhecer exatamente o momento da morte (T), e que ele pertence a um determinado intervalo, isto é, $T \in (I, S]$, em que I é o limite inferior, ou tempo de coleta anterior e S é o limite superior, ou tempo de coleta posterior, esses dados são denominados por sobrevivência intervalar ou, usualmente, dados de censura intervalar (Colosimo & Giolo, 2006). Para a análise do tempo de sobrevivência na presença de dados com censura intervalar, fez-se o ajustamento das curvas por meio da distribuição de Weibull, conforme Sgrillo (1982), Moncharmont et al. (2003) e Guimarães et al. (2004).

Após a obtenção do ajuste, o efeito de cada dieta foi analisado pela estimação de máxima verossimilhança dos parâmetros da função de sobrevivência $S(t)$ de acordo com o modelo ajustado de Weibull dado por:

$$S(t) = e^{-\left(\frac{t}{\alpha_i}\right)^{\beta_i}}$$

em que $t > 0$ é o tempo de vida observado, $\alpha_i > 0$ o parâmetro de escala estimado em horas e $\beta_i > 0$ é o parâmetro de forma (sem unidade de medida). Realizaram-se as estimativas ajustando uma distribuição para cada dieta, sendo i , $i = 1, \dots, 8$, para a dieta energética ou $i = 1, \dots, 8$ para a dieta protéica. Assim, foi possível obter-se as estimativas dos parâmetros de forma e escala em cada tratamento para construir a respectiva curva de sobrevivência e analisá-las, considerando-se que:

(a) o parâmetro de escala α corresponde ao intervalo de tempo no qual ocorrem 63,2% das mortes, restando, portanto, 36,8% de insetos vivos.

(b) o parâmetro de forma β indica a forma da curva e a característica das mortes. Se $\beta < 1$, diz-se que ocorreram mortes precocemente, se $\beta = 1$ as mortes são aleatórias e se $\beta > 1$ as mortes dos insetos ocorreram por danos causados pelo tratamento e/ou tempo (Lawless, 1982).

Após os ajustes das curvas de sobrevivência, realizaram-se comparações por meio da identidade de modelos (Draper & Smith, 1988). Esse procedimento, aplicado a um determinado conjunto de curvas, permite que os parâmetros ajustados a cada uma das curvas obtidas para as diferentes dietas fossem comparados simultaneamente. A vantagem desse método é que, caso os resultados não sejam significativos, isto é, os coeficientes sejam estatisticamente iguais, pode-se reduzir o número de curvas a serem avaliadas (Lawless, 1982). As hipóteses para o teste de identidade de modelos são descritas na Tabela 1.

A estatística do teste de comparação das curvas foi obtida por meio da razão de verossimilhanças entre o modelo completo H_1 , isto é, aquele com todos os parâmetros e o modelo de pesquisa, em que se emprega um número reduzido de parâmetros H_0 (Tabela 1) (Nelson, 1982).

TABELA 1 – Hipóteses testadas na comparação de parâmetros de forma e escala no modelo ajustado dado por $S(t) = \exp\left[-\left(\frac{t}{\alpha_i}\right)^{\beta_i}\right]$.

Teste	Parâmetros	Hipóteses H_0	Razão de verossimilhanças
(a)	Escala e forma iguais	$\alpha_1 = \dots = \alpha_8 = \alpha$ e $\beta_1 = \dots = \beta_8 = \beta$	$\frac{L(\alpha, \beta; S(t))}{L(\alpha_1, \dots, \alpha_8, \beta_1, \dots, \beta_8; S(t))}$
(b)	Escala iguais	$\alpha_1 = \dots = \alpha_8 = \alpha$	$\frac{L(\alpha, \beta_1, \dots, \beta_8; S(t))}{L(\alpha_1, \dots, \alpha_8, \beta_1, \dots, \beta_8; S(t))}$
(c)	Forma iguais	$\beta_1 = \dots = \beta_8 = \beta$	$\frac{L(\alpha_1, \dots, \alpha_8, \beta; S(t))}{L(\alpha_1, \dots, \alpha_8, \beta_1, \dots, \beta_8; S(t))}$

As curvas foram comparadas utilizando-se o teste da razão de verossimilhanças (TRV), que utiliza a comparação dos valores do logaritmo da função de verossimilhança maximizada sem restrição H_1 e sob H_0 , ou seja, a comparação de $\log L(\hat{\theta}_1)$ e $\log L(\hat{\theta}_0)$ (Nelson, 1982). A estatística para esse teste é dada por:

$$TRV = -2 \log \left[\frac{H_0}{H_1} \right] = -2 \log \left[\frac{L(\hat{\theta}_0)}{L(\hat{\theta}_1)} \right] = 2 \left[\log L(\hat{\theta}_1) - \log L(\hat{\theta}_0) \right],$$

que, sob $H_0: \theta = \theta_0$, segue aproximadamente uma distribuição qui-quadrado com p graus de liberdade, onde p é a diferença do número de parâmetros dos modelos sendo comparados, isto é, modelo da hipótese H_1 que é aquele sem restrição (neste caso $p = 16$) e o modelo da hipótese H_0 em que se emprega um número reduzido de parâmetros (para o teste (a), $p = 2$ quando testa-se os parâmetros de escala e forma iguais entre todas as dietas e para os testes (b) e (c) $p = 9$ quando testa-se a igualdade apenas entre um dos parâmetros). A hipótese H_0 é rejeitada, a 5% de significância, se o valor observado para o TRV for maior que o valor tabelado para a distribuição χ^2 , isto é, $TRV > \chi^2_{p;0,95}$ (Colosimo & Giolo, 2006).

Avaliou-se também o tempo letal (TL) para adultos *A. mellifera* até a mortalidade de 10% (TL₁₀), 20% (TL₂₀), 50% (TL₅₀) e para o tempo de extinção da população (TL₉₉) com os insetos mantidos em cada dieta.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dietas compostas por carboidratos

Observou-se que em função da dieta utilizada, há uma variação considerável no tempo médio de vida de *A. mellifera*. O maior tempo de vida foi observado quando as abelhas foram alimentadas com açúcar cristal contendo suco de limão cravo, em que constatou-se, ao final de 240 horas, uma sobrevivência média de 196,59 horas, seguido dos resultados quando os adultos alimentaram-se de pasta Cândi, sendo obtida sobrevivência de 185,01 horas, evidenciando tratar-se de dois alimentos que podem ser considerados os mais adequados entre os testados para a manutenção dos insetos em condições de laboratório, especialmente para insetos coletados no ninho de uma colméia (Tabela 2).

Os resultados obtidos com as abelhas africanizadas coincidiram com aqueles mencionados por Herbert Junior & Shimanuki (1978) que constataram que adultos de *A. mellifera* sobreviveram por um período maior quando alimentados com dietas contendo sacarose. Esses resultados também podem ser comparados com as recomendações do United States Environmental Protection Agency – U.S. EPA (1996) nos E.U.A. e Organization for Economic Co-operation and Development - OECD (1998) na Europa, sobre a alimentação de adultos de *A. mellifera* em laboratório, em que se deve empregar uma dieta que contenha uma solução aquosa de sacarose a 50%.

TABELA 2 – Tempo médio de vida (\pm EP) em horas e porcentagem de mortalidade (\pm EP) de adultos *Apis mellifera* alimentados com dietas energéticas após 240 horas. Temperatura 28 ± 2 °C, UR $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

Tratamentos	Tempo médio de vida (h)	Mortalidade (%) após 240 horas
1 - mel	162,50 \pm 5,96	87,0 \pm 2,91
2 - açúcar cristal	145,51 \pm 7,76	81,0 \pm 3,48
3 - açúcar cristal + ácido tartárico	167,86 \pm 7,19	81,0 \pm 4,82
4 - açúcar cristal + suco de limão	196,59 \pm 8,92	63,0 \pm 2,13
5 - Gludex [®]	119,61 \pm 4,59	96,0 \pm 2,21
6 - frutose	141,25 \pm 6,92	83,0 \pm 4,67
7 - pasta Cândi	185,01 \pm 7,59	70,0 \pm 7,30
8 - água destilada	22,92 \pm 4,25	100,0 \pm 0,0

A adição de outros compostos químicos à solução aquosa de sacarose também foi citada como deletéria por Piskovoi et al. (1964), ao utilizarem uma solução aquosa de sacarose contendo 0,125 % de cloreto de sódio. Constataram que esse acréscimo foi suficiente para interferir no metabolismo do adulto, causando diarreia e redução na sobrevivência dos adultos de *Apis mellifera caucasica* (Gorbachev, 1916).

Para a mortalidade após 240 horas, foi encontrado um comportamento semelhante ao tempo médio de vida. Assim, as menores porcentagens foram detectadas para insetos alimentados com açúcar cristal acrescido de suco de limão cravo a 5% e pasta Cândi como alimento dos adultos de abelhas africanizadas. Para os tratamentos onde se utilizou mel, açúcar cristal, açúcar cristal + ácido tartárico e frutose, respectivamente, tratamentos 1; 2; 3 e 6, a

mortalidade média dos adultos foi de 81,0 a 87,0 %. Quanto ao tratamento número 5, Gludex[®], a mortalidade média foi de 96,0 % e a longevidade de 119,61 horas (Tabela 2).

Os dados foram ajustados através da distribuição de Weibull conforme Moncharmont et al. (2003), por meio do cálculo das estimativas de máxima verossimilhança para os parâmetros de forma (β) e escala (α), obtendo a curva de sobrevivência dos adultos mantidos nas respectivas dietas ao longo de todo o tempo (Tabela 3).

TABELA 3 - Estimativas de máxima verossimilhança dos parâmetros de forma ($\hat{\beta}_i$) e escala ($\hat{\alpha}_i$) da distribuição de Weibull para adultos de *Apis mellifera* alimentados com dietas compostas por carboidratos.

Tratamentos	Parâmetros	
	Forma ($\hat{\beta}_i$)	Escala ($\hat{\alpha}_i$) (horas)
1 - mel	2,44	179,85
2 - açúcar cristal	1,59	179,01
3 - açúcar cristal + ácido tartárico	2,09	185,44
4 - açúcar cristal + suco de limão	2,32	224,43
5 - Gludex [®]	2,30	127,61
6 - frutose	1,90	155,35
7 - pasta Cândi	2,83	205,87
8 - água destilada	1,97	20,48

Com os parâmetros estimados construíram-se as curvas de sobrevivências para cada tratamento (Figura 1).

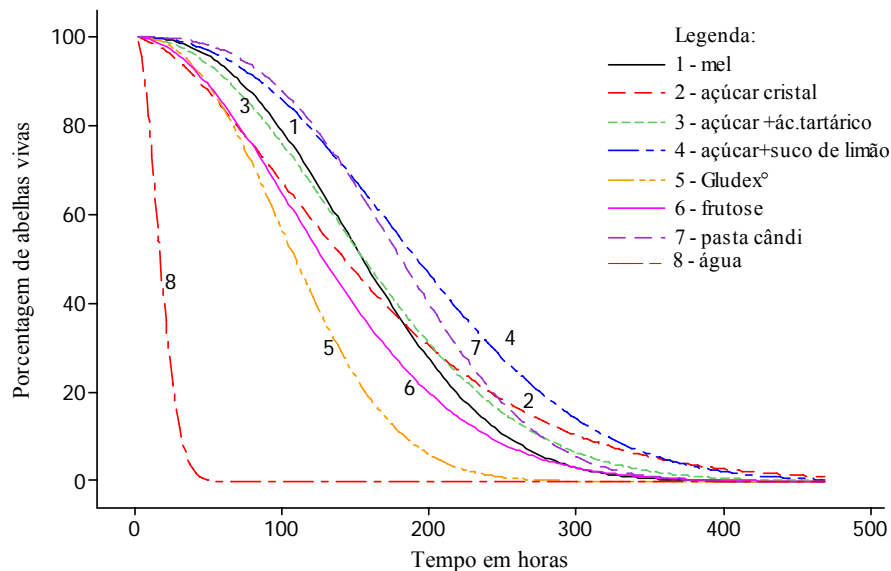


FIGURA 1 – Curvas de sobrevivência de *Apis mellifera* ajustadas segundo o modelo de Weibull em função da alimentação com dietas compostas por carboidratos. Temperatura de $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$, UR $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

A igualdade entre os modelos apresentados pode ser realizada pelo teste χ^2 . Assim, reportando as hipóteses estabelecidas (Tabela 1), realizou-se esse teste para verificar se os parâmetros de escala (α) e/ou forma (β) são iguais. Se ambos forem iguais para um determinado número de curvas correspondentes a diferentes dietas, significa que foi observado o mesmo tipo de efeito quando utilizados esses alimentos, podendo as curvas serem agrupadas. Se ocorrer semelhança em apenas um dos parâmetros (forma ou escala) ou em nenhum deles, as curvas não podem ser agrupadas. Foram encontrados para esses testes os valores correspondentes na distribuição qui-quadrado (χ^2) (Tabela 4). Os valores-p estabelecidos pela comparação dos χ^2 calculados e aqueles tabelados

com os respectivos graus de liberdade, levam a rejeição de todas as hipóteses nulas propostas (Tabela 1). Pode-se afirmar que há diferenças significativas quanto aos parâmetros avaliados (Tabela 4), sendo que a mortalidade das abelhas *A. mellifera* ao longo do tempo foi influenciada pela dieta oferecida.

TABELA 4 – Teste de χ^2 para comparação das curvas quanto aos parâmetros de forma e escala para a sobrevivência de *Apis mellifera* alimentadas com dietas compostas por carboidratos.

Parâmetros	χ^2	Graus de liberdade	Valor-p
Escala e forma iguais	168,95	14	0,0001
Escala igual	115,54	7	0,0001
Forma igual	35,317	7	0,0001

Empregando-se o teste da razão de verossimilhança (TRV) para os parâmetros de forma (β) e escala (α) e as hipóteses a serem testadas quanto à sobrevivência dos adultos alimentados com diversas dietas, observou-se que não foi possível ajustar em um único modelo, o tempo de vida das abelhas. Assim, procedeu-se com as comparações múltiplas, utilizando os intervalos de confiança com nível de significância a 5%.

Quanto ao parâmetro β , que indica a forma da curva e a característica das mortes, nota-se que todos foram maiores que 1 (Tabela 3), indicando que as curvas de sobrevivência têm formato sigmóide e em todos os tratamentos as mortes ocorreram por danos causados pelo tempo. Constatou-se que a hipótese $H_0: \beta_1 = \dots = \beta_8 = \beta$ deve ser rejeitada, obtendo-se diferença significativa entre os parâmetros de forma dos tratamentos, podendo-se agrupar os parâmetros dos seguintes tratamentos em quatro grupos, sendo: (i) 1, 4 e 5; (ii) 3, 6 e 8; (iii) 2 e (iv) 7.

Constatou-se que as curvas de sobrevivência apresentaram formato semelhante, havendo distinção acentuada apenas para aquela relacionada ao tempo de vida dos adultos mantidos apenas com água destilada, onde a sobrevivência é comprometida, evidenciando a necessidade que o adulto de abelha tem em receber um alimento energético para apresentar maior tempo de vida quando mantido em confinamento (Figura 1).

Avaliando-se os parâmetros de escala α a hipótese, $H_0: \alpha_1 = \dots \alpha_8 = \alpha$ deve ser rejeitada. Foi verificado que houve diferença significativa entre os tratamentos. Observou-se uma maior estimativa (224,43 horas) para o tratamento de açúcar cristal + suco de limão, sendo esse o tempo necessário para ocorrência de 63,2% das mortes (Tabela 3). Pelo teste de qui-quadrado observou-se diferença significativa a 5% entre as estimativas do parâmetro de escala podendo-se agrupar os parâmetros em cinco grupos distintos, correspondendo aos tratamentos: (i) 1, 2 e 3; (ii) 4 e 7; (iii) 5; (iv) 6; (v) 8.

Pela análise dos dois parâmetros da distribuição de Weibull (Tabela 3), considerando-se os testes de igualdade de modelos, pode-se afirmar que não é possível agrupar as curvas de sobrevivência, uma vez que não há igualdade entre os parâmetros de escala e forma para os mesmos tratamentos.

Ocorreu interseção entre as curvas em diferentes tempos. Houve destaque para as curvas que representam os tempos de vida dos insetos que alimentaram-se de solução aquosa de açúcar cristal + suco de limão e pasta Cândi, tratamentos 4 e 7, respectivamente, cuja sobrevivência foi superior em relação aos demais em quase todo o tempo estimado até a extinção da população. Ocorreu predominância da curva de sobrevivência do tratamento 4, que ficou acima das demais curvas, a partir de 139,01 horas, sendo superada apenas pela curva do tratamento 7 no período inicial. Pode-se inferir que esses dois tratamentos têm um comportamento semelhante até aproximadamente 5,8 dias e a partir desse período, os insetos do tratamento 4 apresentaram maior

sobrevivência. Aqueles do tratamento 7 apresentaram um declínio acentuado na sobrevivência dos indivíduos a partir de 139,01 horas (Figura 1). Esse fato evidencia que a alimentação com pasta Cândi deve ser oferecida apenas para ensaios com duração inferior a seis dias. A solução aquosa de açúcar cristal + limão pode ser utilizada para ensaios em que é necessário fazer a avaliação ou manutenção dos insetos por um período mais longo.

Ao ser empregada solução aquosa de mel a 50%, foi constatado que aproximadamente no quinto dia iniciou-se o processo de fermentação da solução. Esse fato contribuiu para a redução da sobrevivência dos adultos, uma vez que iniciado esse processo, e comparativamente com outras dietas, os insetos afastavam-se do local contendo o alimento, influenciando sobre o tempo de vida dos indivíduos. A partir desse período observou-se uma redução significativa na sobrevivência do adulto (Figura 1). É importante ressaltar que não é adequada a substituição da dieta durante o ensaio, devido à dificuldade de montagem e acompanhamento. A opção nesse caso é utilizar o mel sem a diluição em água, diminuindo o teor de umidade, dificultando a fermentação.

Para os tempos letais estimados para mortalidade de 10% da população (TL_{10}) de *A. mellifera* alimentadas com dietas compostas essencialmente de carboidratos, houve semelhança entre os tratamentos 1; 4 e 7, indicando que com a utilização de uma dessas dietas, haverá mortalidade de 10% da população em aproximadamente 86 horas. Para os demais tempos letais calculados, o tratamento solução aquosa de açúcar cristal + suco de limão Cravo foi sempre superior, como demonstrado pela curva de sobrevivência. Para o tempo de extinção da população (TL_{99}) o valor estimado supera 421 horas, indicando que a duração de um experimento utilizando essa dieta para o tratamento testemunha superará os 17 dias (Tabela 5).

Foi também evidente o efeito deletério quando as abelhas foram alimentadas com a dieta Gludex[®]. Esse é um composto comercial onde a

sacarose é invertida. Contudo, e comparativamente aos demais tratamentos, foi aquele onde houve a menor sobrevivência. Para TL₉₉, foi constatado um tempo médio de vida de apenas 227,86 horas (Tabela 5).

TABELA 5 – Tempo letal (TL ± EP) de *Apis mellifera*, em horas, alimentadas com dietas compostas de carboidratos. Temperatura de 28 ± 2°C, UR 70 ± 10% e fotofase de 12 horas.

Tratamentos	Tempo Letal em horas			
	10%	20%	50%	99%
1 - mel	86,39 ± 5,85	110,74 ± 6,09	161,15 ± 6,30	301,57 ± 10,98
2 - açúcar cristal	55,10 ± 5,83	79,32 ± 6,74	137,45 ± 8,12	344,74 ± 20,19
3 - açúcar + 1% de ácido tartárico	77,50 ± 6,49	104,36 ± 7,06	163,57 ± 7,68	346,56 ± 14,48
4 - açúcar + 5% de suco limão	86,23 ± 8,77	118,16 ± 9,25	190,17 ± 9,50	421,13 ± 25,81
5 - Gludex®	61,49 ± 4,13	79,76 ± 4,41	118,16 ± 4,81	227,86 ± 8,63
6 - frutose	56,76 ± 5,49	80,11 ± 6,22	134,80 ± 7,28	321,56 ± 17,17
7 - pasta Cãndi	87,88 ± 8,41	117,19 ± 8,51	180,98 ± 8,11	374,09 ± 22,50
8 - água	3,44 ± 3,01	6,58 ± 4,78	17,56 ± 6,34	90,42 ± 9,15

Dietas compostas por proteínas

Na avaliação do efeito das dietas protéicas sobre o tempo médio de vida de adultos de *A. mellifera*, observou-se que não ocorreram diferenças significativas entre as dietas testadas. Quando foram alimentadas somente com mel cristalizado, o tempo médio de vida foi de 89,4 horas, enquanto a média de sobrevivência utilizando todas as dietas protéicas testadas foi de 28,82 horas (Tabela 6).

TABELA 6 – Tempo médio de vida (\pm EP) em horas e porcentagem de mortalidade (\pm EP) de *Apis mellifera* alimentada dietas protéicas e mel após 72 horas. Temperatura 28 ± 2 °C, UR $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

Tratamentos	Tempo médio de vida (h)	Mortalidade (%) após 72 horas
1 - pólen	$27,80 \pm 1,03$	$100,0 \pm 0,0$
2 - germe de trigo	$23,79 \pm 1,08$	$100,0 \pm 0,0$
3 - farinha de arroz	$28,03 \pm 1,76$	$97,0 \pm 1,53$
4 - farelo de arroz	$30,30 \pm 2,04$	$93,0 \pm 3,96$
5 - lêvedo de cerveja	$33,88 \pm 1,46$	$98,0 \pm 1,33$
6 - creme de milho	$28,37 \pm 1,52$	$97,0 \pm 3,00$
7 - farinha de soja	$29,57 \pm 2,19$	$93,0 \pm 3,00$
8 - mel cristalizado (Testemunha)	$89,40 \pm 5,83$	$19,0 \pm 4,07$

Esses resultados encontram-se de acordo com aqueles de Haydak (1970) e Crailsheim (1990), os quais afirmaram que as abelhas adultas necessitam somente de carboidratos para o suprimento de energia, e toda proteína necessária para suas atividades vitais é obtida durante o metabolismo larval, acumulado nessa fase e utilizada pelo adulto. Winston (1987) também afirmou que o pólen não substitui o mel como fonte de energia e os adultos de *A. mellifera* morrem em poucos dias se não dispuserem de uma fonte energética. Convém ressaltar que, nessa pesquisa, apesar da diluição das dietas protéicas em mel, essa fonte de carboidratos possivelmente não foi disponibilizada em quantidade suficiente para suprir as necessidades energéticas. Assim, os resultados obtidos nesse

segundo ensaio, confirmam a redução da sobrevivência das abelhas mantidas com as dietas protéicas mesmo tendo sido adicionado o mel em todos os tratamentos para obtenção de consistência pastosa. Ressalta-se também que o tratamento 8, utilizado como testemunha, obteve uma estimativa de tempo médio de vida inferior àquela obtida no primeiro ensaio com dietas energéticas. Isso está associado principalmente ao fato de que o tempo de acompanhamento dos ensaios foi diferente, o primeiro com duração de 240 horas e o segundo com 72 horas, uma vez que decorrido esse período, praticamente a totalidade dos adultos mantidos com dietas protéicas apresentaram mortalidade de 100 %, não sendo necessário continuar o ensaio apenas para avaliação da testemunha, lembrando que este não era o objetivo principal deste ensaio. Outro fator que dificulta a comparação entre os tratamentos em questão, é que no primeiro ensaio tratava-se de dieta com solução aquosa de mel e neste caso utiliza-se o mel cristalizado, sem diluição.

Constatou-se também que mesmo sendo empregados alimentos cujos teores em proteína é variável, por exemplo, creme de milho com 8,0 % ou farinha de soja com 45,0 %, a mortalidade foi superior a 93,0 % em todos os tratamentos (Tabela 6). Couto & Couto (2006) relataram que as abelhas africanizadas preferem dietas energéticas em relação àquelas que contêm proteínas.

Os dados referentes à sobrevivência das operárias confinadas foram analisados e ajustados à distribuição Weibull. As estimativas dos parâmetros de forma e escala obtidas para diferentes tratamentos são apresentadas na Tabela 7.

TABELA 7 – Estimativas de máxima verossimilhança dos parâmetros de forma ($\hat{\beta}_i$) e escala ($\hat{\alpha}_i$) da distribuição de Weibull para adultos de *Apis mellifera* alimentados com dietas compostas por proteínas.

Tratamentos	Parâmetros	
	Forma ($\hat{\beta}_i$)	Escala ($\hat{\alpha}_i$) (horas)
1 - pólen	3,24	31,01
2 - germe de trigo	2,54	26,80
3 - farinha de arroz	1,66	31,36
4 - farelo de arroz	1,53	33,65
5 - lêvedo de cerveja	2,56	38,16
6 - creme de milho	2,03	32,02
7 - farinha de soja	1,36	32,31
8 - mel cristalizado (testemunha)	3,75	108,94

Com os parâmetros estimados construíram-se as curvas de sobrevivências dos diferentes tratamentos (Figura 2). Quanto ao parâmetro de forma β nota-se que todos foram maiores que 1 (Tabela 7), indicando que todas as curvas de sobrevivência têm formato sigmóide.

Para o parâmetro de escala α observou-se maior estimativa (108,94 h) para o tratamento de mel cristalizado, sendo esse o tempo necessário para ocorrência de 63,2% das mortes.

A igualdade entre os parâmetros de forma e escala (Tabela 8) empregando-se o teste qui-quadrado (χ^2) e os valores-p estabelecidos pela

comparação entre o χ^2 calculado e o tabelado, com os respectivos graus de liberdade, levam à rejeição das hipóteses nulas propostas (Tabela 1).

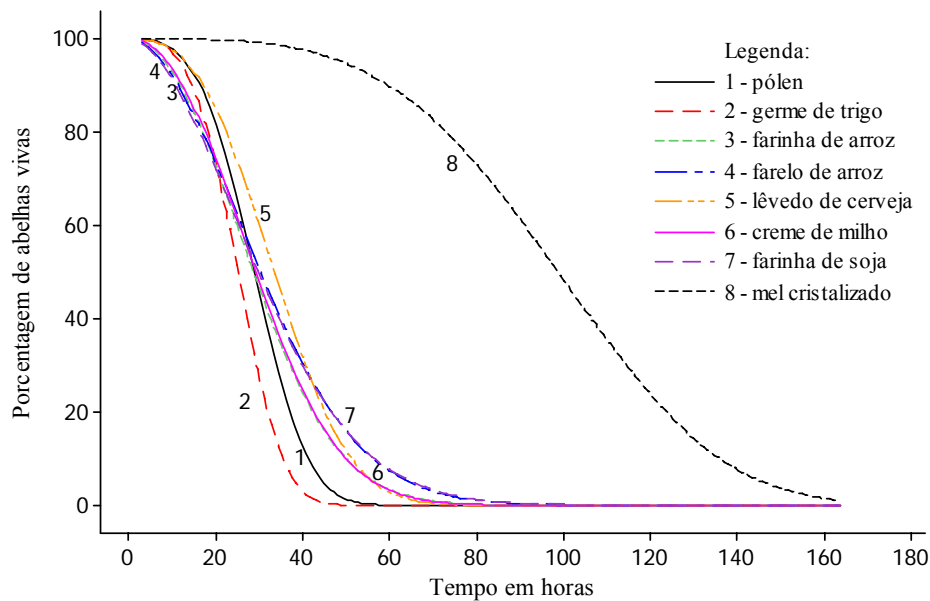


FIGURA 2 – Curvas de sobrevivência de *Apis mellifera* alimentadas com dietas proteicas + mel, segundo o modelo ajustado de Weibull. Temperatura de $28 \pm 2^\circ\text{C}$, UR $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

Os resultados evidenciaram que as hipóteses nulas sobre igualdade dos parâmetros de escala e/ou forma podem ser consideradas significativas a 5%. Assim, não é possível ajustar em um único modelo o tempo de vida dos diferentes grupos de abelhas nas dietas testadas. Desse modo realizaram-se as comparações múltiplas para avaliação do comportamento de igualdade dos parâmetros dois a dois.

TABELA 8 – Teste de χ^2 para comparação das curvas quanto aos parâmetros de forma e escala para a sobrevivência de *Apis mellifera* alimentadas com dietas compostas por proteínas.

Parâmetros	χ^2	Graus de liberdade	Valor-p
Escala e forma iguais	741,475	14	0,0001
Escala igual	252,655	7	0,0001
Forma igual	65,5261	7	0,0001

Avaliando-se os parâmetros de forma, a hipótese $H_0: \beta_1 = \dots = \beta_8 = \beta$ deve ser rejeitada, obtendo-se diferença significativa, entre os parâmetros dos tratamentos 1 e 8 dos demais tratamentos. No caso do parâmetro de escala α a hipótese, $H_0: \alpha_1 = \dots = \alpha_8 = \alpha$ deve ser rejeitada, uma vez que foi verificada através das comparações múltiplas diferença significativa entre os tratamentos 8 e os demais.

Em relação ao tempo letal (TL), o tratamento com mel cristalizado obteve resultados superiores em todos os TL's calculados (Tabela 9). Considerando os demais tratamentos, pode-se afirmar que o TL₁₀ apresentou tempo inferior a 16 horas, evidenciando uma mortalidade significativa quando comparada ao tratamento 8 (testemunha). Essa mesma resposta foi observada nos demais tempos letais calculados, sendo que para o TL₅₀ obteve-se uma média de 26,4 horas enquanto para o tratamento 8, foi de 99 horas. No TL₉₉ foram observadas oscilações na sobrevivência dos adultos e as médias variaram de um mínimo de 48,82 horas na dieta germe de trigo até 82,56 horas com o alimento farinha de soja. Em relação à testemunha, houve diferença acentuada e nesse caso o tempo letal foi de 163,63 horas.

TABELA 9 – Tempo letal (TL \pm EP) de *Apis mellifera* em horas, alimentadas com dietas protéicas. Temperatura $28 \pm 2^\circ\text{C}$, UR $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

Tratamentos	Tempo Letal em horas			
	10%	20%	50%	99%
1 - pólen	15,52 \pm 1,30	19,55 \pm 1,27	27,71 \pm 1,12	49,64 \pm 2,09
2 - germe de trigo	11,08 \pm 1,48	14,87 \pm 1,47	23,21 \pm 1,24	48,82 \pm 3,57
3 - farinha de arroz	8,09 \pm 1,55	12,71 \pm 1,82	25,15 \pm 1,99	78,70 \pm 7,85
4 - farelo de arroz	8,93 \pm 1,57	13,56 \pm 1,79	25,49 \pm 1,90	73,16 \pm 6,74
5- lêvedo de cerveja	15,86 \pm 1,57	21,25 \pm 1,61	33,08 \pm 1,56	69,28 \pm 4,18
6 - creme de milho	11,74 \pm 1,48	16,24 \pm 1,56	26,49 \pm 1,51	60,05 \pm 3,80
7 - farinha de soja	6,99 \pm 1,60	11,41 \pm 1,95	23,94 \pm 2,19	82,56 \pm 9,61
8 - mel cristalizado	59,82 \pm 4,36	73,05 \pm 4,49	98,80 \pm 9,62	163,63 \pm 32,94

CONCLUSÕES

1. A sobrevivência dos adultos de *A. mellifera* quando alimentados com uma solução aquosa de sacarose acrescida de suco de limão cravo a 5 % foi superior às demais dietas testadas.

2. A sobrevivência dos adultos de *A. mellifera* em condições de laboratório não diferiu entre as dietas protéicas avaliadas.

3. Para adultos de abelhas *A. mellifera* africanizadas, mantidos em laboratório não é necessário acrescentar uma fonte de proteína ao alimento energético para se aumentar a sobrevivência das operárias.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARKER, R. J. Considerations in selecting sugars for feeding to honey bees. **American Bee Journal**, Hamilton, IL, v. 117, n. 2, p. 76-77, 1977.

BRIGHENTI, D. M.; CARVALHO, C. F. ; CARVALHO, G. A.; BRIGHENTI, C. R. G.; CARVALHO, S. M. Bioatividade do *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Berliner, 1915) para adultos de *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 2, p. 279-289, mar./abr. 2007.

COLOSIMO, E. A.; GIOLO, S. R. **Análise de sobrevivência aplicada**. São Paulo: Edgar Blucher, 2006. 216 p.

COUTO, R. H. N.; COUTO, L. **Apicultura : manejo e produtos**. Jaboticabal: Funep, 2006, 193 p.

CRAILSHEIM, K. The protein balance of the honey bee worker. **Apidologie**, v. 21, n. 5, p. 417-429, 1990.

DIETZ, A. Nutrition of the adult honey bee. In: GRAHAM, J. M. **The hive and the honey bee**. Hamilton, Illinois: Dadant & Sons, 1975. p. 125-156.

DRAPPER, R. N. ; SMITH, H. **Applied regression analysis**. 3. ed. New York: J. Wiley, 1988. 355p.

GUIMARÃES, C. R.; CIRILLO, M. A.; BRIGHENTI, D. M. Modelos de sobrevivência para avaliação do tempo de vida de operárias de *Apis mellifera* tratadas com diferentes dietas. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 49., 2004, Uberlândia. **Anais...** Uberlândia, 2004. p. 123.

GUY, C. I. Sucrose phosphatase synthase and sucrose accumulation at low temperature. **Plant Physiology**, v. 100, n. 1, p. 502-508, Sept. 1992.

HAYDAK, M. H. Honey bee nutrition. **Annual Review of Entomology**, v. 15, p. 143 -156, Jan. 1970.

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

HERBERT JÚNIOR, E. W.; SHIMANUKI, H. Chemical composition and nutritive value of bee collected and bee stored pollen. **Apidologie**, v. 9, n. 1, p. 33 – 40, 1978.

JOHANSSON, T. S. K.; JOHANSSON, M. P. Feeding honeybees pollen and substitutes. **Bee World**, Cardiff, v. 58, n. 3, p. 105-118, 1977.

KNOX, D. A.; SHIMANUKI, H.; HERBERT, E. W. Diet and the longevity of adult honey bees. **Journal of Economic Entomology**, Washington, DC, v. 64, n. 6, p. 1415-1416. 1971.

LAWLESS, J. F. **Statistical models and methods for lifetime data**. New York: J. Wiley, 1982. 215 p.

MANNING, R. Fatty acids in pollen: a review of their importance for honey bees. **Bee World**, Cardiff, v. 82, n. 2, p. 60-75, 2001.

MONCHARMONT, F. X. D.; DECOURTYE, A; HANTIER, C. H.; PONS, O.; PHAM-DELEGUE, M. Statistical analysis of honeybee survival after chronic exposure to insecticides. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 22, n. 12, p. 3088-3094, Dec. 2003.

NELSON, W. **Applied life data analysis**. New York: J. Wiley, 1982 .634 p.

ORGANIZATION FOR ECONOMIC COOPERATION AND DEVELOPMENT. Guidelines for the testing of chemicals : honeybees, acute oral toxicity test. **OECD/OCED**, Paris, n. 213, p. 1-8, Set. 1998.

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

PISKOVOI, F. R.; SHIBIDKO, V. A.; BORISOV. K. K. Poisoning bees with common salt. **Pchelovostvo**, Moscou, v. 84, n. 32, p. 32-35, 1964.

SCHMICK, T.; CRAILSHEIM, K. Cannibalism and early capping: strategy of honeybee colonies in times of experimental pollen shortages. **Journal of Comparative Physiology A**, v. 187, n. 7, p. 541-547, Sept. 2001.

SCHMIDT, J. O.; THOENES, S. C.; LEVIN, M. D. Survival of honey bees, *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae), fed various pollen sources. **Annals of the Entomological Society of America**, Washington, DC, v. 80, n. 2, p. 176-183, 1987.

SCHMIDT, L. S.; SCHMIDT, J. O.; RAO, H.; WANG, W.; XU, L. Feeding preference and survival of young worker honey bees (Hymenoptera: Apidae) fed rape, sesame, and sunflower pollen. **Journal of Economic Entomology**, Washington, DC, v. 88, n. 6, p. 1591- 1595, 1995.

SGRILLO, R. B. A. A distribuição de Weibull como modelo de sobrevivência de insetos. **Ecosistema**, Espírito Santo do Pinhal, v. 7, p. 9 -13, set. 1982.

SHUEL, R. W. A. The production of nectar. In: GRAHAM, J. M. **The hive and the honey bee**. Hamilton, Illinois: Dadant & Sons, 1975. p. 265-282.

UNITED STATES ENVIROMENTAL PROCTETION AGENCY. Ecological effects test guidelines. OPPTS 850.3020 Honey bee acute contact toxicity. **EPA**, Washington, DC, n. 712, Apr. 1996.

WHITE JÚNIOR, J. W. Honey. In: GRAHAM, J. M. (Ed). **The hive and honey bee**. Hamilton, Illinois: Dadant & Sons, 1975. p. 491-530.

WINSTON, M. L. **The biology of the honey bee**. London: Harvard University, 1987. 281 p.

ZAKARIA, M. E. Factors affecting on the food metabolism in some honey bee races. **Journal of Applied Sciences Research**, v. 3, n. 4, p. 311-316, Apr. 2007.

CAPÍTULO 2

**TEMPO DE VIDA DE *Apis mellifera* Linnaeus, 1758
(Hymenoptera: Apidae) ALIMENTADA COM DIETA
ACRESCIDA DE ÁCIDO CÍTRICO E SUCO DE LIMÃO**

RESUMO

BRIGHENTI, Deodoro Magno. Tempo de vida de *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae) alimentada com dieta acrescida de ácido cítrico e suco de limão. In: _____. **Dietas energéticas e proteicas para adultos de *Apis mellifera* Linnaeus 1758 (Hymenoptera: Apidae)**. 2009. cap. 2, p. 35 - 60. Tese(Doutorado em Entomologia)–Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG.

A manutenção de abelhas confinadas em laboratório é uma necessidade crescente para diversos estudos entomológicos. Aprimorar as condições laboratoriais, tais como dieta, permitindo maior longevidade aos indivíduos é uma situação desejável para os insetos mantidos nessas condições. Assim, avaliou-se o tempo de vida de *Apis mellifera* confinados e alimentados com uma solução aquosa de sacarose hidrolisada por meio de um ácido. Foram conduzidos dois ensaios, sendo que no primeiro as abelhas foram alimentadas com uma solução aquosa de 100 g de açúcar cristal (1:1) acrescida de ácido cítrico nas concentrações 0,0; 0,1; 0,16; 0,3; 0,5 e 0,7 g. O segundo ensaio foi conduzido empregando-se solução aquosa de sacarose (1:1) acrescida de suco dos limões Galego [*Citrus aurantifolia* (C.) Swingle], Tahiti [*Citrus latifolia* Tanaka] e Cravo [*Citrus limonia* (L.) Osbeck] nas concentrações: 1,0; 5,0; 10,0; 15,0 e 20,0 mL de suco de cada limão em cada solução. Foram utilizadas dez repetições, cada uma composta de dez abelhas. Contou-se o número de abelhas sobreviventes a cada 12h até completar 192 horas. Ajustou-se a curva de sobrevivência pelo modelo de Weibull e calcularam-se os valores de TL₁₀, TL₂₀, TL₅₀ e TL₉₉. Constatou-se que, tanto a adição de ácido cítrico, quanto do suco de limão permitiram maior sobrevivência dos adultos em relação à solução aquosa de açúcar cristal não hidrolisada. A adição do ácido cítrico em quantidades inferiores a 0,3 g por 100 g de açúcar cristal em solução aquosa 1:1 diminui a mortalidade de adultos de *A. mellifera* quando em laboratório. A utilização de suco de limão, em substituição ao ácido cítrico, promoveu diminuição da mortalidade, independente da espécie empregada.

Palavras-chave: abelha, sobrevivência, tempo letal, sacarose.

ABSTRACT

BRIGHENTI, Deodoro Magno. Life time of *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae) fed with with citric acid and lemon juice enriched diet. In: _____. **Energetic and protein diets for adults of *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae)**. 2009. cap. 2, p. 35 - 60. Thesis (Doctorate in Entomology) – Federal University of Lavras, Lavras -MG.

The maintenance of laboratory-confined bees is a growing need for several entomologic studies. To improve the laboratorial conditions, such as diet, allowing higher longevity to individuals is a desirable outcome for insects maintained in those conditions. The diet fed to *Apis mellifera* adults is a relevant factor in the survival of those insects. The lifetime of those confined insects fed with aqueous solution of acid hydrolyzed sucrose was evaluated. Two trials were conducted. In the former, the bees were fed an aqueous solution of 100 g of granulated sugar (1:1) enriched with citric acid at 0.0; 0.1; 0.16; 0.3; 0.5 and 0.7 g concentrations. The second trial was conducted using aqueous crystal sugar solution (1:1) enriched with Galego [*Citrus aurantifolia* (C.) Swingle], Tahiti [*Citrus latifolia* Tanaka] and Cravo [*Citrus limonia* (L.) Osbeck] lemon juice at 1.0; 5.0; 10.0; 15.0 and 20.0 mL concentrations of each lemon juice in each solution. Ten replicates, each one composed of ten bees, were performed. The number of surviving bees was counted every 12 hours until reaching 192 hours. The survival curve was adjusted by the Weibull model and the values of LT_{10} , LT_{20} , LT_{50} and LT_{99} were calculated. It was found that both the addition of citric acid and of lemon juice allowed higher survival of the adults in relation to the unhydrolyzed aqueous crystal sugar solution. The addition of citric acid in amounts smaller than 0.3 g per 100 g of granulated sugar in aqueous solution 1:1 reduces laboratory mortality of adults of *A. mellifera*. The lemon juice use, in substitution to citric acid, decreases mortality, independent on the species used.

Key words: bee, survival, lethal time, sucrose.

INTRODUÇÃO

A capacidade produtiva da abelha *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 é dependente da fonte de pólen e néctar. Esse último é o principal alimento energético que esses insetos dispõem em condições naturais. É um composto que contém de 5 a 80 % de açúcares e também minerais, compostos nitrogenados, substâncias aromáticas, ácidos orgânicos e vitaminas. Entre as vitaminas encontradas, a vitamina C (ácido ascórbico) é aquela detectada em maior teor (White Júnior, 1979; Herbert Júnior, 1992; Schmidt et al., 1995).

As abelhas, em determinadas ocasiões e em função de variações climáticas anuais, como por exemplo, em épocas onde há carência de néctar e pólen, necessitam de suplementação alimentar para sua manutenção (Johansson & Johansson, 1977). Nesses períodos críticos esses insetos podem abandonar suas colônias e migrar para regiões onde há abundância de alimento (Pena & Andrade Filho, 2001).

Em épocas desfavoráveis quanto à disponibilidade de alimento, as colônias poderão ser alimentadas por meio de dietas artificiais, empregando-se solução aquosa de sacarose. Isso poderá minimizar a migração dos enxames, o que é uma característica marcante nos híbridos africanizados (Otis, 1982). Pode-se ainda considerar que o alimento irá favorecer o desenvolvimento da colônia e, conseqüentemente, aumentar a densidade populacional (Cremonez et al., 1998).

A utilização de uma solução composta essencialmente de carboidratos, como é o caso da sacarose, é uma alternativa normalmente empregada pelos apicultores. Segundo Crane (1979), a abelha não utiliza a sacarose sem que seja desdobrada, mesmo que parcialmente, em glicose e frutose, isto é, monossacarídeos. Para que ocorra essa inversão as abelhas secretam enzimas nas glândulas hipofaríngeas, sendo elas responsáveis por essa transformação.

Nesse processo há consumo de energia, o que provoca redução na longevidade do inseto, situação que é indesejável para manutenção das colônias com maior densidade populacional (Barker, 1977).

A alimentação dos enxames poderá ser feita com o “açúcar invertido”, o qual é preparado a partir de uma mistura composta de açúcar cristal diluído em água (1:1) em meio ácido e aquecimento, ocorrendo uma hidrólise formando glicose e frutose (Bailey, 1966 ; Guy, 1992). Lengler (2000) preparou uma solução dessa natureza, utilizando 1000 g de açúcar cristal diluído em 1000 mL de água e acrescido de 1,0 g de ácido cítrico comercial. De forma semelhante, Pereira et al. (2007) empregaram as mesmas quantidades de soluto e solvente, adicionando 1,6 g de ácido cítrico comercial. Em ambas as situações não foram relatadas as porcentagens obtidas de açúcares redutores (glicose e frutose) e açúcares não redutores (sacarose).

Segundo Bailey (1966) e Guy (1992), a hidrólise da sacarose poderá ser obtida por meio de enzimas ou empregando-se um ácido. Assim, uma alternativa ao uso de um ácido obtido comercialmente é o emprego de sucos de limões, os quais normalmente têm uma concentração de ácido cítrico de aproximadamente 6,0 % (Holme & Peck, 1998). Os limões Galego [*Citrus aurantifolia* (C.) Swingle], Tahiti [*Citrus latifolia* Tanaka] e Cravo [*Citrus limonia* (L.) Osbeck], são frutos cítricos comuns e seus sucos podem ser empregados com o objetivo de fazer a hidrólise da sacarose, em substituição à utilização de ácido cítrico comercial.

Assim, levando-se em consideração a importância que representa a alimentação artificial de adultos de abelhas para manutenção da colônia, este trabalho foi realizado com o objetivo de se avaliar o tempo de vida de adultos de *A. mellifera* alimentados com dieta artificial composta de açúcar cristal + água destilada (1:1) acrescida de suco de limões Galego, Tahiti, Cravo e ácido cítrico, preparados em diferentes concentrações.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram conduzidos dois ensaios, sendo o primeiro destinado a avaliar a sobrevivência de operárias confinadas e alimentadas com uma solução aquosa de 100 g de açúcar cristal com 100 mL de água destilada (1:1) acrescida de ácido cítrico comercial nas quantidades de 0,1; 0,16; 0,3; 0,5 e 0,7 g em cada solução.

O segundo ensaio foi conduzido com o mesmo objetivo, empregando solução aquosa de 100 g de açúcar cristal com 100 mL de água destilada (1:1) acrescida de suco dos limões Galego, Tahiti e Cravo em substituição ao ácido cítrico. Utilizou-se 1,0; 5,0; 10,0; 15,0 e 20,0 mL de suco de cada limão em cada solução. Em ambos os ensaios, as soluções foram submetidas ao aquecimento até a ebulição e posteriormente resfriada à temperatura ambiente. Como testemunha empregou-se uma solução isenta de ácido cítrico e suco de limão.

Os limões foram coletados no pomar de citros da Universidade Federal de Lavras - UFLA, adotando-se os critérios estabelecidos de maturação dos frutos adotados por Gayet et al. (1995). O limão Galego possuía casca lisa, coloração verde e aproximadamente 32,0 mm de diâmetro. O Tahiti tinha a casca lisa, coloração verde-brilhante e 52,0 mm de diâmetro em média. Para o Cravo, foram usados os frutos de coloração verde, casca rugosa e 45,0 mm de diâmetro. O suco foi extraído em espremedor de frutas e coado em peneira plástica de malha de 2 mm.

Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado. Os tratamentos foram constituídos pelas soluções contendo as diversas concentrações do ácido cítrico e sucos dos respectivos limões, com dez repetições cada um. Em cada uma delas utilizaram-se dez abelhas.

Cada unidade experimental continha um recipiente plástico de 2,5 cm de diâmetro por 1,2 cm de altura, capacidade 5 mL, contendo um chumaço de algodão embebido na respectiva dieta e mantido no fundo da gaiola. A água

destilada foi fornecida, usando a mesma metodologia. Foram utilizados adutos provenientes da melgueira de uma colônia selecionada no apiário da UFLA. Normalmente, as abelhas localizadas na melgueira são aquelas que desempenham atividades de forrageamento, com idade em média de 18 dias (Winston, 1987). Em laboratório foram anestesiados com dióxido de carbono por 120 segundos e separados grupos de dez indivíduos. Logo após, foram colocados em uma gaiola de PVC de 15 cm de altura por 10 cm de diâmetro, com a parte superior revestida com filó e a inferior com organza e mantidas em uma sala climatizada a $28 \pm 2^\circ\text{C}$, UR $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

Avaliou-se a mortalidade dos adultos a cada 12 horas, durante oito dias consecutivos e o comportamento dos adultos confinados. Após a mortalidade de 50% dos indivíduos em cada tratamento, os indivíduos sobreviventes foram anestesiados, quando necessário, e pesados em balança analítica.

Para avaliar a resposta de mortalidade ao longo do tempo utilizou-se a técnica de análise de sobrevivência para acompanhar a mortalidade dos adultos de *A. mellifera* alimentados com soluções de açúcar cristal. Empregou-se a distribuição de Weibull, calculando-se os parâmetros de forma e escala, sendo possível o estabelecimento de curvas para cada dieta empregada. Segundo Hutchinson (2000), esse é o modelo que apresenta o melhor ajuste em relação aos dados de sobrevivência de abelhas. Adotou-se o mesmo procedimento descrito no capítulo 1 (páginas 14, 15, 16)

As curvas de sobrevivência foram comparadas considerando-se as espécies de limão e fixando-se a quantidade de suco empregada. Nesse caso, os parâmetros de forma e escala foram correspondentes às três espécies de limões. Assim, na hipótese alternativa H_1 , o número de graus de liberdade é $p = 6$ e para a hipótese nula H_0 $p = 2$ quando se testa os parâmetros de escala e forma iguais entre todas as dietas e $p = 4$ quando testa-se a igualdade apenas entre um dos parâmetros.

Avaliou-se também o tempo letal (TL) para adultos *A. mellifera* até a mortalidade de 10% (TL₁₀), 20% (TL₂₀), 50% (TL₅₀) e para o tempo de extinção da população (TL₉₉) com os insetos mantidos em cada dieta.

Para o ensaio com adição de suco de limão, os resultados da mortalidade final foram submetidos à análise de variância e as médias das diferentes espécies comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Adição de ácido cítrico na solução aquosa de açúcar cristal a 50%

A solução aquosa de açúcar cristal (1:1) acrescida de ácido cítrico nas diversas quantidades, influenciou na mortalidade de adultos de *A. mellifera*. Quando foi utilizada a solução isenta do ácido (testemunha), a mortalidade observada após 192 horas foi de 94,0 %. Nas adições de 0,1 e 0,16 g do ácido cítrico foram encontradas as menores mortalidades, sendo essas correspondentes a 58,0 e 64,0 %, respectivamente.

Em relação às três maiores quantidades do ácido cítrico, as porcentagens de mortalidade foram superiores a 70% (Tabela 1).

Quanto ao peso das abelhas, observou-se maior ganho nos tratamentos com adição de 0,5 e 0,7 g de ácido cítrico. Esse aumento ocorreu devido à diminuição de defecação das abelhas presentes nas gaiolas nesses tratamentos. Nesses adultos foi observado aumento no abdome, redução na mobilidade e aumento na porcentagem de mortalidade (Tabela 1).

TABELA 1 – Peso e mortalidade (\pm EP) de *Apis mellifera* alimentada com solução aquosa de açúcar cristal (1:1) com diferentes quantidades de ácido cítrico comercial após 192 horas de experimento. Temperatura de $28 \pm 2^\circ\text{C}$, UR $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

Quantidade de ácido cítrico (g) adicionada à soluções aquosas de açúcar cristal (100g:100mL)	Mortalidade (%) após 192 horas	Peso médio dos adultos (mg)
0,0	$94,0 \pm 4,01$	83,0
0,1	$58,0 \pm 11,6$	78,9
0,16	$64,0 \pm 8,12$	84,7
0,3	$82,0 \pm 5,83$	87,9
0,5	$82,0 \pm 5,83$	136,5
0,7	$74,0 \pm 2,45$	142,0

Bailey (1966), na Inglaterra, empregou uma solução de sacarose invertida com ácido clorídrico 0,01 N, submetida ao aquecimento e neutralizada com hidróxido de sódio e que foi fornecida a adultos de *A. mellifera*. Constatou-se que a solução foi tóxica aos insetos, ocorrendo mortalidade superior ao tratamento testemunha em que empregou-se uma solução aquosa de sacarose a 60%. A toxicidade observada encontra-se relacionada aos resíduos de certos elementos, por exemplo, o sódio e teores de hidroximetil-furfural (HMF) que, mesmo em baixas concentrações, interferem no metabolismo do inseto adulto. Nesse caso, os adultos apresentavam-se com abdome volumoso, com peso duas vezes superior à média e com diarreia, como também observado nesta pesquisa quando foram utilizadas quantidades maiores de ácido cítrico.

Ibrahim (1982) estudando o efeito da alimentação artificial para adultos de *A. mellifera*, relatou que a sacarose hidrolisada contribuiu para a digestão e assimilação dos carboidratos pelas abelhas. Ao empregar uma solução aquosa de açúcar comercial invertido, detectou que a sobrevivência dos adultos confinados foi de 10,4 dias. Atallah & Naby (1979), também utilizaram, para alimentação de abelhas, solução aquosa de sacarose (1:1), açúcar invertido comercial e mel, concluindo que o açúcar invertido aumentou a sobrevivência das abelhas. Esse fato também foi observado nesta pesquisa quando, ao se adicionar o ácido cítrico nas concentrações de 0,1 e 0,16 g, houve menor mortalidade e diferença de peso, ao final de 192 horas, quando comparada aos demais tratamentos (Tabela 1).

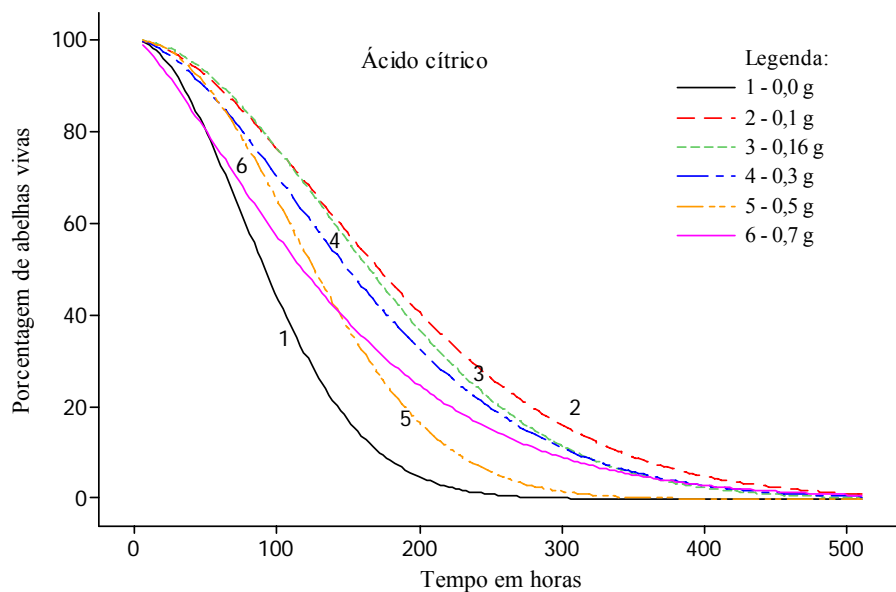


FIGURA 1 - Curvas de sobrevivência de operárias *Apis mellifera* ajustadas segundo o modelo de Weibull, em função da alimentação com solução aquosa de açúcar cristal + ácido cítrico em diferentes concentrações. Temperatura de 28 ± 2 °C, UR $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

Ocorreu interseção entre as curvas em diferentes tempos, mas na maior parte do tempo avaliado, houve destaque para aquelas que representam os tempos de vida dos insetos que alimentaram-se de solução aquosa de açúcar cristal + ácido cítrico nas quantidades de 0,1; 0,16 e 0,3 g, havendo predominância da curva de sobrevivência do tratamento com adição de 0,1 g, que ficou acima das demais curvas, a partir de 100,5 horas.

A igualdade entre os modelos apresentados foi realizada pelo teste χ^2 para verificar se os parâmetros de escala (α) e/ou forma (β) são iguais. A comparação das curvas de sobrevivência em função da dieta associada empregada apresentou diferença significativa apenas para o parâmetro de escala (α), relacionado ao tempo de vida em horas. Esse foi confirmado por meio do teste da razão de verossimilhança (TRV), onde obteve-se valor-p < 0,001, quando $\chi^2=33,91$ e g.l.= 5, concluindo que a hipótese, $H_0: \alpha_1 = \dots \alpha_8 = \alpha$ deve ser rejeitada, ou seja, o tempo de vida das abelhas *A. mellifera* foi influenciado pela dieta oferecida.

Quanto ao parâmetro de forma (β) referente ao formato das curvas, não houve diferença significativa entre as dietas, obtendo-se um valor-p igual a 0,51 quando $\chi^2=4,29$ e g.l.= 5. Constatou-se que a hipótese $H_0: \beta_1 = \dots = \beta_8 = \beta$ não deve ser rejeitada. Esses resultados mostram que outros fatores além da dieta, tais como, a idade do inseto, confinamento, ausência da rainha, necessidade de vôo, rejeição ao alimento etc., influenciaram no tempo de vida das abelhas de maneira equivalente em todos os tratamentos.

Assim, procedeu-se com as comparações múltiplas utilizando os intervalos de confiança com nível de significância a 5% para os parâmetros de escala. Se ambos forem iguais para um determinado número de curvas correspondentes a diferentes dietas, significa que foi observado o mesmo tipo de efeito quando utilizados esses alimentos, podendo as curvas ser agrupadas.

Considerando que o parâmetro de forma foi significativo a 5%, verificou-se a semelhança entre os parâmetros de escala por meio da construção dos intervalos de confiança para as estimativas de tais parâmetros (Tabela 2).

TABELA 2 - Intervalo de Confiança a 95% para estimativa dos parâmetros de escala dos diferentes tratamentos.

Quantidade de ácido cítrico (g) adicionada a soluções aquosas de açúcar cristal (100g:100mL)	Parâmetros de escala α (em horas)		
	Estimativa	Limite Inferior	Limite Superior
0,0	110,81	94,74	126,62
0,1	211,98	169,34	265,36
0,16	199,84	163,07	244,91
0,3	186,81	149,58	233,31
0,5	150,41	129,70	174,44
0,7	155,14	126,79	197,65

Observou-se a ocorrência de maiores estimativas para os tratamentos com adição de 0,1; 0,16 e 0,3 g de ácido cítrico com parâmetro variando de 186,81 a 211,98 horas, sendo esses os tempos estimados para ocorrência de 63,2% das mortes em cada tratamento. Considerando que há sobreposição dos intervalos de confiança dos parâmetros de escala para algumas dietas, observa-se diferença significativa a 5% apenas entre o tratamento testemunha e os demais. No entanto, nota-se a proximidade dos intervalos do tratamento testemunha e aqueles com adição de 0,5 e 0,7 g de ácido cítrico, sendo que um acréscimo acima de 0,3 g de ácido influenciou negativamente a sobrevivência dos adultos.

Ao se avaliar o tempo letal (TL) para os adultos de *A. mellifera* alimentados com solução de açúcar cristal, associado ao ácido cítrico, constataram-se variações significativas em função da quantidade de ácido cítrico (Tabela 3). Tanto para o TL₁₀ quanto para o TL₂₀ o máximo foi obtido quando se utilizou 0,16 g e o mínimo para 0,7 g. A adição de maiores quantidades do ácido cítrico pode acelerar a mortalidade dos insetos, talvez pela rejeição ao alimento, devido possivelmente a sua maior acidez, sendo essa equivalente àquela da solução aquosa de açúcar cristal sem adição de ácido cítrico. Para o TL₁₀, tanto na ausência do ácido cítrico (testemunha) como utilizando 0,7 g de ácido, a sobrevivência média foi de apenas 30 horas (Tabela 3).

Esse comportamento também foi observado para o TL₂₀ e para o TL₅₀, com média, entre a testemunha e o tratamento com 0,7 g de ácido cítrico, de 61,2 e 104,5 horas, respectivamente. Nos demais tratamentos e em função do emprego de quantidades crescentes do ácido, há uma redução significativa no TL₅₀ sendo observado 171,6; 164,7; 149,9 e 125,9 horas, respectivamente, nas quantidades usadas em solução aquosa de açúcar cristal. O TL₂₀ foi superior para os tratamentos com adição de 0,1 e 0,16 g de ácido cítrico.

Para a TL₅₀ e TL₉₉ os valores mínimos obtidos foram atingidos pela dieta sem adição de ácido cítrico, enquanto que os valores máximos foram obtidos para adição de 0,1 g de ácido cítrico.

Em relação ao TL₉₉, isto é, extinção da população, ocorreram diferenças acentuadas, e independentemente da concentração do ácido, a vida média foi de aproximadamente 18 dias. Salienta-se que na testemunha a sobrevivência foi de apenas dez dias. Deve-se ressaltar que houve um TL₉₉ elevado para o tratamento com adição de 0,7 g de ácido cítrico. No entanto, considerando os demais tempos letais e a curva de sobrevivência (Figura 1) desse tratamento, há evidências de que se trata de uma quantidade não recomendada para utilização na alimentação de adultos de *A. mellifera*.

TABELA 3 – Tempo letal (TL ± EP) para *Apis mellifera*, em horas, alimentada com solução aquosa de açúcar cristal + ácido cítrico. Temperatura $28 \pm 2^\circ\text{C}$, UR $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

Quantidade de ácido cítrico (g/100 g de açúcar cristal)	Tempo Letal em horas			
	TL ₁₀	TL ₂₀	TL ₅₀	TL ₉₉
0,0	33,63 ± 6,58	50,05 ± 7,46	91,25 ± 8,28	248,92 ± 28,11
0,1	57,95 ± 14,49	89,30 ± 15,43	171,61 ± 18,19	511,10 ± 127,90
0,16	60,91 ± 12,54	90,52 ± 13,12	164,68 ± 15,85	447,56 ± 94,81
0,3	48,26 ± 12,65	75,79 ± 13,42	149,85 ± 15,34	468,06 ± 124,51
0,5	50,37 ± 8,96	72,55 ± 9,68	125,86 ± 10,34	315,99 ± 38,29
0,7	28,58 ± 8,90	50,25 ± 11,28	117,79 ± 15,23	488,93 ± 118,48

Sendo assim, pode-se dizer que a adição de ácido cítrico na solução para favorecimento da hidrólise da sacarose é indispensável. No entanto, maiores quantidades podem causar alterações no experimento, principalmente nos primeiros dias.

Ressalta-se também que os adultos de abelhas alimentados com solução de sacarose contendo 0,5 e 0,7 g /100 mL, apresentaram comportamento diferenciado em relação àqueles dos tratamentos em que se utilizaram menores quantidades. Constatou-se um desenvolvimento anormal do volume abdominal dos insetos, os quais não defecavam e mantinham-se dispersos no fundo da gaiola durante o período noturno, sendo que o comportamento normal seria de aglomeração. Notou-se ainda ausência de trofolaxia e diminuição da tentativa de retirar os adultos mortos.

Lee & Winston (1985) relataram que o peso médio de adultos de abelhas europeias do gênero *Apis* ao emergirem é de 116,0 mg em média. Para as abelhas africanizadas, Otis (1982) encontrou um peso médio de 77,5 mg. Assim, ao se comparar esses resultados com o peso de adultos de abelhas africanizadas

da presente pesquisa, observou-se que os insetos com o abdome intumescido, tinham um peso médio de 136,5 mg, enquanto que aqueles insetos do tratamento testemunha e aqueles onde se usou as quantidades 0,1; 0,16 e 0,3 g de ácido cítrico apresentaram um peso médio de 81,3 mg (Tabela 1 e Figura 2).

Esses resultados evidenciaram a necessidade de pesquisar mais detalhadamente dietas para adultos de abelhas e verificar qual ou quais foram os fatores que influenciaram esses insetos a apresentarem variações em seu peso. Nesse sentido pode-se estudar, por exemplo, qual será o efeito do ácido cítrico em diversas concentrações no metabolismo do adulto e alterações do peso por uma incapacidade de eliminação de fezes. Bailey (1966), avaliando o efeito da sacarose hidrolisada por meio de um ácido forte na alimentação de adultos de *A. mellifera*, evidenciou os mesmos sintomas observados na presente pesquisa, os quais foram seguidos de diarreia acompanhada de morte.



A

B

FIGURA 2 – Adultos de *Apis mellifera* alimentados com solução aquosa de açúcar cristal (1:1) acrescida de: A - 0,0 a 0,3g de ácido cítrico e B - 0,5 a 0,7g de ácido cítrico

Adição de suco de limão em solução aquosa de açúcar cristal a 50%

Ao serem utilizadas quantidades diferentes de sucos de limões em solução aquosa de açúcar cristal (1:1) para obter a inversão, constatou-se redução da mortalidade dos adultos de abelhas em relação à testemunha, cuja mortalidade observada ao final das 192 horas foi de 94,0%. Não foram evidenciadas diferenças acentuadas entre os sucos das três espécies de limões assim como entre as quantidades utilizadas, quando avaliou-se a mortalidade após 192 horas decorridas da montagem do bioensaio (Tabela 4).

TABELA 4 – Mortalidade (\pm EP) em %, de *Apis mellifera* alimentada com solução aquosa de açúcar cristal (1:1) com diferentes quantidades de suco de limão após 192 horas. Temperatura $28 \pm 2^\circ\text{C}$, UR $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

Limões	Quantidade de suco de limão adicionada nas soluções em mL				
	1	5	10	15	20
Galego	84,0 \pm 5,10Ab	72,0 \pm 5,80Bb	76,0 \pm 5,10Ab	84,0 \pm 4,00Ab	92,0 \pm 3,70Aa
Tahiti	88,0 \pm 5,80Aa	82,0 \pm 7,40Aa	80,0 \pm 4,50Aa	78,0 \pm 9,70Aa	76,0 \pm 2,50Ba
Cravo	74,0 \pm 5,10Ba	68,0 \pm 9,20Ba	72,0 \pm 5,80Aa	84,0 \pm 4,00Aa	76,0 \pm 7,50Ba

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5%. Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5%.

Quando se avaliou a mortalidade ao final das 192 horas, observou-se influência maior da espécie do limão que da quantidade utilizada, sobressaindo-se sempre o Tahiti como uma das melhores espécies para utilização em dieta de abelhas, exceto com a quantidade de 20 mL (Tabela 4).

Quando se deseja investigar o comportamento ao longo de todo o tempo e, levando-se em conta que a avaliação realizada em laboratório envolve coleta

de dados em presença de censura, é necessário construir as curvas de sobrevivência das abelhas considerando-se as diferentes dietas (Figura 3).

Utilizando-se a distribuição de Weibull para se fazer a análise do ajuste das curvas de sobrevivência obtidas para a solução de sacarose acrescida dos sucos de limões, observou-se que houve um comportamento semelhante àquele quando empregou-se o ácido cítrico.

Observa-se que a não adição do suco de limão diminuiu a sobrevivência dos insetos nas três espécies avaliadas, independente da quantidade utilizada. Ocorreu interseção entre as curvas em diferentes tempos. Para o limão Galego e Cravo houve uma pequena vantagem inicial, até 170 horas no primeiro caso e até 200 horas no segundo, quando da utilização de 5 mL de suco desses limões (Figura 3A e 3C). No caso do limão Tahiti, a quantidade que mais influenciou foi 20 mL até 190 horas (Figura 3B), embora ao ser usado 5 mL, observou-se também um comportamento adequado no que diz respeito ao aumento da sobrevivência das abelhas, sendo esse tratamento o segundo mais evidente até 160 horas.

A igualdade entre os modelos apresentados foi realizada pelo teste χ^2 para verificar se os parâmetros de escala (α) e/ou forma (β) são iguais. Através do teste da razão de verossimilhança (TRV) foi constatada diferença significativa na comparação das curvas de sobrevivência em função da adição do suco de limão Galego, somente quanto ao parâmetro de escala (α), relacionado ao tempo de vida em horas, em que obteve-se valor-p < 0,001, quando $\chi^2=23,89$ e g.l.= 5, concluindo que a hipótese, $H_0: \alpha_1 = \dots \alpha_8 = \alpha$ deve ser rejeitada, ou seja, o tempo de vida das abelhas *A. mellifera* foi influenciado pela dieta oferecida. Em relação ao parâmetro de forma (β), referente ao formato das curvas, observou-se que não houve diferença significativa já que o valor-p obtido foi de 0,06 quando $\chi^2=10,71$ e g.l.= 5, constatando-se que a

hipótese $H_0: \beta_1 = \dots = \beta_8 = \beta$ não deve ser rejeitada. Esses resultados mostram que outros fatores além da dieta, tais como, a idade do inseto, confinamento, ausência da rainha, necessidade de vôo, rejeição ao alimento etc., influenciaram no tempo de vida das abelhas de maneira equivalente em todos os tratamentos, estando o experimento adequado para o seu objetivo.

Para o limão Tahiti, à medida que se aumentou a concentração, houve decréscimo na porcentagem de mortalidade (Figura 3B). O valor-p igual a 0,14, encontrado para o teste de igualdade entre os parâmetros de forma ajustados, indica que esses não diferiram. No entanto, para o teste entre os parâmetros de escala, encontrou-se um valor-p de 0,002, para $\chi^2=18,77$ e g.l.= 5, evidenciando uma diferença entre os α ajustados, assim como ocorrido na curvas referentes à adição de suco de limão Galego.

Para o limão Cravo, as concentrações de 5,0 e 10,0 mL foram aquelas que proporcionaram menor mortalidade (Figura 3C). Confirmando os resultados obtidos para sucos dos outros dois limões, houve evidência para rejeição da hipótese de igualdade apenas para o parâmetro de escala, em que se obteve um valor-p < 0,001 com $\chi^2=26,17$ e g.l.= 5, enquanto para o parâmetro de forma o TRV indica que a hipótese de igualdade deve ser aceita já que foi obtido um valor-p = 0,764 para $\chi^2=2,58$ e g.l.= 5.

Assim, procedeu-se com as comparações múltiplas utilizando os intervalos de confiança com nível de significância a 5% para os parâmetros de escala. Pela sobreposição dos intervalos de confiança dos parâmetros de escala observou-se diferença significativa a 5% apenas entre o tratamento testemunha e os demais. No entanto, nota-se uma proeminência na adição de 10 mL de suco de limão das três espécies, principalmente após as primeiras 120 horas (Figura 3).

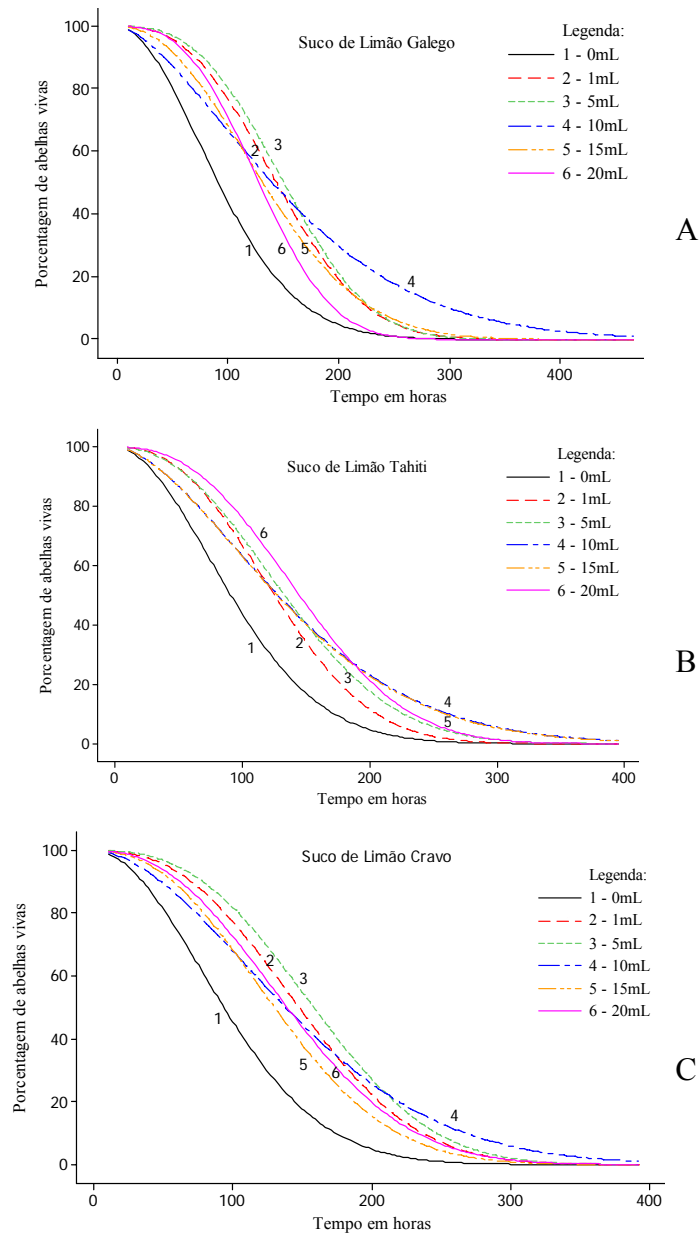


FIGURA 3 – Curvas de sobrevivência ajustadas segundo o modelo Weibull, para *Apis mellifera* alimentadas com solução aquosa de açúcar cristal + suco de limão Galego (A), Tahiti (B) ou Cravo (C). Temperatura de 28 ± 2 °C, UR $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

O tempo letal (TL) dos adultos de abelhas africanizadas relacionado à alimentação com solução aquosa de sacarose (1:1) com adição de diferentes quantidades de sucos de limões, apresentou variabilidade acentuada (Tabela 5).

O TL₁₀ para as três espécies e quantidades testadas, com exceção da testemunha, variou entre 41,89 e 77,39 horas, obtendo-se média de 57,6 horas, que corresponde a 2,4 dias (Tabela 5). Para o TL₂₀ a média ficou em 81,6 horas enquanto sua amplitude foi de 65,31 a 100,82 horas. Para esses dois tempos letais o mínimo foi observado quando da aplicação de 15 mL de suco de limão Tahiti e o máximo para 5 mL de suco de limão Galego em solução aquosa de açúcar cristal (1:1). Apesar de não ser detectada diferença entre as curvas pode-se sugerir o emprego desse limão nessa dosagem para utilização em dietas energéticas para adultos de *A. mellifera*, obtidos de melgueira e mantidos em confinamento, quando se planeja um ensaio tendo como padrão para término a mortalidade de 10 ou 20% da testemunha.

Para o TL₅₀ obteve-se um mínimo de 111,21 horas quando se adicionou 15 mL de limão Cravo e um máximo de 155,78 horas com a utilização de apenas 5 mL de suco desse mesmo limão. É importante ressaltar que a amplitude dos tempos letais é maior para o TL₅₀ do que no TL₁₀ e TL₂₀, indicando que outros fatores também podem interferir no experimento ao longo do tempo.

Quando o objetivo for prolongar o experimento até a extinção da população, utilizando abelhas provenientes de melgueira, pode-se inferir que, utilizando os tipos de dietas estudadas neste trabalho, o TL₉₉ será em média de 338,4 horas, o que corresponde a aproximadamente 14 dias. O máximo obtido para esse tempo letal foi de 465,55 horas quando se adicionou 10 mL de suco e o mínimo de 249,47 com a adição de 20 mL do suco do limão Galego. A adição de uma maior quantidade do suco de limão poderá influenciar na sobrevivência dos adultos, como observado para os sucos dos limões Galego e Cravo. Observou-se também que o TL₉₉ é o que possui maior amplitude, sendo plausível questionar

sobre o efeito da dieta influenciada por fatores intrínsecos à biologia do inseto em confinamento por longo período.

É importante ressaltar que, além do ácido cítrico contido nos sucos dos limões, são acrescentadas também à solução, proteínas, sais minerais e um complexo de vitaminas, incluindo o ácido ascórbico (Chippendale, 1975 ; Ziena, 2000), os quais poderão influenciar na sobrevivência dos adultos.

Tabela 6 – Tempo letal (\pm EP) de *Apis mellifera*, em horas, alimentadas com solução aquosa de açúcar cristal + suco de limão. Temperatura 28 ± 2 °C, UR $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

	Quantidade de suco (mL)	Tempo Letal em horas			
		TL ₁₀	TL ₂₀	TL ₅₀	TL ₉₉
Açúcar cristal	0	33,63 \pm 6,58	50,05 \pm 7,46	91,25 \pm 8,28	248,92 \pm 28,11
Galego	1	70,50 \pm 11,86	93,68 \pm 10,86	143,90 \pm 9,09	294,80 \pm 44,90
	5	77,39 \pm 10,23	100,82 \pm 9,84	150,31 \pm 9,10	292,94 \pm 29,88
	10	42,52 \pm 11,10	68,41 \pm 12,47	140,27 \pm 15,24	465,55 \pm 114,43
	15	54,75 \pm 10,02	77,64 \pm 10,31	131,59 \pm 10,24	317,74 \pm 44,87
	20	65,99 \pm 8,90	85,94 \pm 8,639	128,09 \pm 7,59	249,47 \pm 22,01
Tahiti	1	57,70 \pm 9,08	78,61 \pm 9,205	125,42 \pm 8,71	273,72 \pm 28,86
	5	57,90 \pm 10,48	80,72 \pm 10,46	133,32 \pm 9,88	308,28 \pm 44,72
	10	41,93 \pm 11,56	65,48 \pm 12,83	128,40 \pm 13,10	395,51 \pm 80,55
	15	41,89 \pm 10,38	65,31 \pm 11,60	127,70 \pm 12,82	391,51 \pm 75,65
	20	68,40 \pm 11,29	92,29 \pm 11,02	145,09 \pm 9,91	308,95 \pm 38,61
Cravo	1	63,53 \pm 11,29	88,65 \pm 11,33	146,64 \pm 11,13	339,95 \pm 49,85
	5	69,81 \pm 12,36	96,12 \pm 12,12	155,78 \pm 11,55	349,05 \pm 52,72
	10	46,19 \pm 10,39	71,68 \pm 11,65	139,20 \pm 14,03	421,85 \pm 81,53
	15	52,72 \pm 9,63	75,18 \pm 10,11	111,21 \pm 10,04	314,46 \pm 40,90
	20	58,57 \pm 10,30	82,96 \pm 10,60	140,34 \pm 11,07	337,80 \pm 49,54

CONCLUSÕES

A adição do ácido cítrico em quantidades inferiores a 0,3 g por 100 g de açúcar cristal em solução aquosa 1:1 reduziu a mortalidade de adultos de *A. mellifera* confinados em laboratório.

A utilização dos sucos dos limões Galego, Tahiti e Cravo em substituição ao ácido cítrico, diminui a mortalidade dos adultos de *A. mellifera* confinados.

A adição de 10,0 ou 15,0 mL de suco de limão à solução aquosa de açúcar cristal (1:1) sobre a sobrevivência de *A. mellifera* confinadas em laboratório, não foi influenciada pela espécie de limão empregada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ATALLAH, M. A.; NABY, A. A. A. Effect of invert sugar on brood rearing honey production and fat and glycogen contents of honeybees. **Journal of Apicultural Research**, Cardiff, v. 18, n. 1, p. 40-42, 1979.

BAILEY, L. The effect of acid-hydrolysed sucrose on honeybees. **Journal of Apicultural Research**, Cardiff, v. 5, n. 3, p. 127-136, 1966.

BARKER, R. J. Considerations in selecting sugars for feeding to honey bees. **American Bee Journal**, Hamilton, IL, v. 117, n. 2, p. 76-77, 1977.

CHIPPENDALE, G. M. Ascorbic acid : an essential nutrient for a plant-feeding insect, *Diatraea grandiosella*. **Journal of Nutrition**, v. 105, n. 4, p. 499-507, Apr. 1975.

COLOSIMO, E. A.; GIOLO, S. R. **Análise de sobrevivência aplicada**. São Paulo: Edgar Blucher, 2006. 216 p.

CRANE, E. **Honey** : comprehensive survey. London: Willian Heinemann, 1979. 680 p.

CREMONEZ, T. M.; DE JONG, D.; BITONDI, M. G. Quantification of hemolymph proteins as a fast method for testing protein diets for honey bee (Hymenoptera: Apidae). **Journal of Economic Entomology**, Washington, DC, v. 91, n. 6, p.1284-1289, 1998.

DRAPPER, R. N. ; SMITH, H. **Applied regression analysis**. 3. ed. New York: J. Wiley, 1988. 355p.

GAYET, J. P., BLEINROTH, E. W.; NATALLO, M.; GARCIA, E. C.; GARCIA, A. E.; ARDITO, E. F. G.; BORDIN, M. R. **Lima ácida Tahiti para exportação** : procedimentos de colheita e pós colheita. Brasília: EMBRAPA, 1995. 36 p.

GUIMARÃES, C. R.; CIRILLO, M. A.; BRIGHENTI, D. M. Modelos de sobrevivência para avaliação do tempo de vida de operárias de *Apis mellifera* tratadas com diferentes dietas. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 49., 2004, Uberlândia. **Anais...** Uberlândia, 2004. p. 123.

GUY, C. I. Sucrose phosphatase synthase and sucrose accumulation at low temperature. **Plant Physiology**, v. 100, n. 1, p. 502-508, Sept. 1992.

HERBERT JÚNIOR., E. W. Honey bee nutrition. In: GRAHAM, J. M. (Ed). **The hive and the honey bee**. Michigan: Dadant & Sons, 1992.1324 p.

HOLME, D. J.; PECK, H. **Analytical biochemistry**. Singapore: Longman, 1998. 488 p.

HUTCHINSON, T. Graphing the survivorship of bees. **Insectes Sociaux**, v. 47, n. 3, p.292-296, Aug. 2000.

IBRAHIM, S. H. Preference and effect of feeding of some types of sugar on honey bees. **Journal of Plant Protection Research**, Poznań, v. 55, p. 101 – 103, 1982.

JOHANSSON, T. S. K.; JOHANSSON, M. P. Feeding sugar to bees : II. when and how to feed. **Bee World**, Cardiff, v. 58, n. 1, p. 11-18, 1977.

LAWLESS, J. F. **Statistical models and methods for lifetime data**. New York: J. Wiley, 1982. 215 p.

LEE, P. C.; WINSTON, M. L. The influence of swarm population on brood production and emergent worker weight in newly founded honeybee colonies. **Insectes Sociaux**, v. 32, n. 31, p. 96-103, Mar.1985.

LENGLER, S. Alimentação artificial de abelhas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 13., 2000, Florianópolis. **Anais....** Florianópolis: UFSC, 2000. 1 CD-ROM.

MONCHARMONT, F. X. D.; DECOURTYE, A; HANTIER, C. H.; PONS, O.; PHAM-DELEGUE, M. Statistical analysis of honeybee survival after chronic exposure to insecticides. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 22, n. 12, p. 3088-3094, Dec. 2003.

NELSON, W. **Applied life data analysis**. New York: J. Wiley, 1982. 634 p.

OTIS, G. W. Weights of worker honeybee in swarms. **Journal of Apicultural Research**, Cardiff, v. 21, n. 2, p. 88-92, 1982.

PENA, C. L. S.; ANDRADE FILHO, A. Abelhas e vespas. In: ANDRADE FILHO, A. **Toxicologia na prática clínica**. Belo Horizonte: Foliun, 2001. 167 p.

PEREIRA, F. M.; FREITAS, B. M.; VIEIRA NETO, J. M. ; LOPES, M. T. R.; BARBOSA, A. L.; CAMARGO, R. C. R.; RIBEIRO, V. Q.; ROCHA, R. S.; Efeito tóxico de alimentos alternativos para abelhas *Apis mellifera*. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 37, n. 2, p. 533-538, mar./abr. 2007.

SCHMIDT, L. S.; SCHMIDT, J. O.; RAO, H.; WANG, W.; XU, L. Feeding preference and survival of young worker honey bees (Hymenoptera: Apidae) fed rape, sesame, and sunflower pollen. **Journal of Economic Entomology**, Washington, DC, v. 88, n. 6, p. 1591- 1595, 1995.

SGRILLO, R. B. A. A distribuição de Weibull como modelo de sobrevivência de insetos. **Ecosistema**, Espirito Santo do Pinhal, v. 7, p. 9 -13, set. 1982.

WHITE JÚNIOR, J. W. Composition of honey. In: CRANE, E. Honey : comprehensive survey. London: Heinemann, 1979. 680 p.

WINSTON, M. L. **The biology of the honey bee**. London: Harvard University, 1987. 281 p.

ZIENA, H.M.S. Quality attributes of bears seedless lime (*Citrus latifolia* Tan) juice during storage. **Food Chemistry**, v. 71, n. 2, p. 167 – 172, Nov. 2000.

CAPÍTULO 3

INVERSÃO DA SACAROSE UTILIZANDO ÁCIDO CÍTRICO E SUCO DE LIMÃO PARA PREPARO DE DIETA ENERGÉTICA DE *Apis mellifera* Linnaeus, 1758

RESUMO

BRIGHENTI, Deodoro Magno. Inversão da sacarose utilizando ácido cítrico e suco de limão para preparo de dieta energética de *Apis mellifera* Linnaeus, 1758. In: _____. **Dietas energéticas e proteicas para adultos de *Apis mellifera* Linnaeus 1758 (Hymenoptera: Apidae)**. 2009. cap. 3, p. 61 - 82. Tese (Doutorado em Entomologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG.

Em época de escassez de néctar pode-se fornecer à colméia uma suplementação alimentar utilizando “açúcar invertido” que é obtido pela hidrólise da sacarose em meio ácido por aquecimento. O objetivo deste trabalho foi quantificar a inversão da sacarose presente em dietas para abelhas, empregando-se o ácido cítrico comercial e sucos de limões. Prepararam-se 21 soluções aquosas de açúcar cristal na proporção de 100 g/100 mL, colocando-se em cada uma 1,0; 2,0; 3,0; 5,0; 10,0; 15,0 ou 20,0 mL de suco dos limões Galego [*Citrus aurantifolia* (C.) Swingle] (pH = 1,94), Tahiti [*Citrus latifolia* Tanaka] (pH = 2,23) ou Cravo [*Citrus limonia* (L.) Osbeck] (pH = 2,35). Além dessas foram preparadas também cinco outras soluções aquosas de açúcar cristal adicionando-se 0,1; 0,16; 0,3; 0,5 e 0,7 g de ácido cítrico e a testemunha sem adição de ácido cítrico ou suco de limão. Quantificou-se a inversão da sacarose utilizando o método de Somogyi-Nelson. Constatou-se que para o limão Cravo foi encontrada a menor porcentagem de inversão. Em relação à adição de ácido cítrico, constatou-se que ao se colocar 0,1 g a inversão foi de 12,2 % enquanto que com 0,16 g obteve-se uma inversão de 18,8 % da sacarose presente na solução, sendo 0,18 g a quantidade máxima de ácido cítrico a ser adicionada, adotando como critério o pH dos méis de abelhas africanizadas (3,3 a 4,6). Para os sucos dos limões Galego, Tahiti e Cravo, quando utilizados como substitutos do ácido cítrico, a quantidade máxima adicionada deve ser igual a 2,07; 3,63 e 5,32 mL, respectivamente, para cada 100 g de açúcar. Considerando a porcentagem de inversão e pH recomendados para utilização do ácido cítrico, o suco do limão Tahiti é o que fornece melhores resultados.

Palavras-chave: *Citrus*, pH, açúcar, abelha.

ABSTRACT

BRIGHENTI, Deodoro Magno. Inversion of the sucrose using citric acid and lemon juice for preparing energetic diet of *Apis mellifera* Linnaeus, 1758. In: _____ . **Energetic and protein diets for adults of *Apis mellifera* Linnaeus 1758 (Hymenoptera: Apidae)**. 2009. cap. 3, p. 61 – 82. Thesis (Doctorate in Entomology) – Federal University of Lavras, Lavras-MG.

In time of nectar shortage, food supplementation using “inverted sugar” obtained by sucrose hydrolysis in an acid mean can be supplied to the hive. The objective of this work was to quantify the inversion of the sucrose present in bee diets, using commercial citric acid and lemon juices. A total of 21 aqueous solutions of granulated sugar at the proportion of 100 g/100 mL, were prepared, by placing in each one 1; 2; 3; 5; 10; 15 or 20 mL of Galego [*Citrus aurantifolia* (C.) Swingle] (pH = 1.94), Tahiti [*Citrus latifolia* Tanaka] (pH = 2.23) or Cravo [*Citrus limonia* (L.) Osbeck] (pH = 2.35) lemon juices. In addition, five other aqueous solutions of sucrose were prepared by adding 0.0 (control); 0.16; 0.3; 0.5 and 0.7 g of citric acid. Sucrose inversion was quantified according to Somogyi-Nelson method. It was found that the Galego lemon was the most efficient, reaching 55.65 % of inversion when 20 mL of juice was used. It was estimated that the use of 18 mL of Tahiti lemon juice allowed an inversion rate of 52.21%. For the Cravo lemon, the lowest inversion rate was found, possibly due to its higher sucrose and lower citric acid concentration. It was verified that Cravo lemon produced the smallest inversion rate. In relation to the citric acid addition, it was verified that the sucrose inversion rates are 12.2% and 18.8% when adding, respectively, 0.1 g and 0.16 g of the acid. The maximum amount of citric acid to be added is 0.18 g, adopting as criterion the pH of the africanized bee honey (3.3 to 4.6). If Galego, Tahiti and Cravo lemon juices are used as substitutes for the citric acid, the maximum added amount should be 2.07; 3.63 and 5.32 mL, respectively, for each 100 g of sugar. Considering the inversion rate and pH level recommended for the use of citric acid, Tahiti lemon juice supplies better results.

Key words: *Citrus*, pH, sugar, bee.

INTRODUÇÃO

Sob condições naturais, a fonte de alimento energético utilizada pelas abelhas é o néctar oriundo de diversas espécies vegetais. As concentrações de açúcares encontradas nesses néctares variam de 5 a 80% (White Júnior, 1979; Herbert Júnior, 1992; Schmidt et al., 1995).

Em período de escassez de néctar e também dependendo do tipo de exploração apícola, como por exemplo, produção de própolis, é comum a suplementação alimentar dos enxames, empregando-se solução aquosa de sacarose a 50 %. Normalmente, a abelha não utiliza a sacarose diretamente sem que ocorra sua inversão, mesmo que parcial, para sua alimentação. Durante esse processo, as abelhas produzem por meio das glândulas hipofaringeanas, principalmente as enzimas diástase, glicose oxidase e invertase, transformando os açúcares de cadeia mais longa em monossacarídeos (Winston, 1987). Nesse procedimento metabólico, há consumo de energia pelas abelhas, reduzindo a longevidade desses insetos, situação que é indesejável para manutenção de enxames com alta densidade populacional (Barker & Lehner, 1978).

Para o fornecimento de uma dieta aos adultos de abelhas *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 que contém sacarose, pode-se utilizar o “açúcar invertido” o qual pode ser obtido por meio da hidrólise ácida e aquecimento, formando uma mistura de glicose e frutose (Figura 1) (Guy, 1992). Esse desdobramento também pode ser obtido quando a sacarose é catalisada pela enzima invertase (β -fructofuranosidase). Contudo, nesse último processo e em relação ao primeiro, o fator limitante é o alto custo dessa enzima (Rodrigues et al., 2000).

O nome de “açúcar invertido” se origina do fato de que a reação inverte o plano de luz polarizada linearmente na direção oposta da sacarose. A sacarose é dextrógira – desvia a luz polarizada à direita (+ 66°). A frutose resultante da hidrólise é fortemente levógira (-92°) e a glicose desvia a luz polarizada à direita

(+52°). O açúcar invertido desvia o plano da luz polarizada à esquerda (-20°) devido à natureza fortemente levógira da frutose (Guy, 1992).

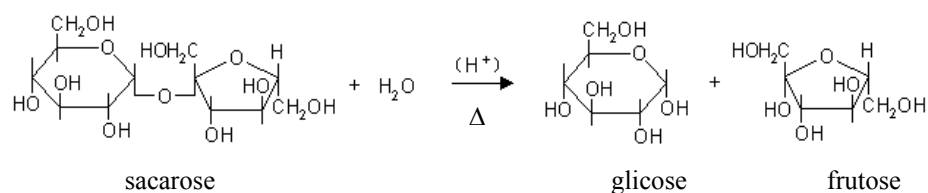


FIGURA 1 – Hidrólise da sacarose em meio ácido sob aquecimento.

De acordo com Lengler (2000), pode-se preparar o açúcar invertido, utilizando-se 1000 g de açúcar cristal acrescido de 1,0 g de ácido cítrico e 1000 mL de água. De forma semelhante, Pereira et al. (2006) sugeriram quantidades equivalentes de açúcar e água, contudo empregando-se 1,6 g de ácido cítrico. Esse ácido (2-hidroxi-1, 2, 3-propanotricarboxílico) (C₆H₈O₇) (Figura 2), pode ser obtido comercialmente ou por meio do suco de limão, cujo teor médio é da ordem de 6,0 % (Holme & Peck, 1998). Oliveira et al. (2007), ao pesquisarem técnicas para o clareamento do melado de cana, relataram que ao se utilizar suco de limão Tahiti ou ácido cítrico em diferentes concentrações e submetido ao aquecimento, foi possível clarear a solução, além de ocorrer o desdobramento de parte da sacarose presente nesse produto (melado de cana).

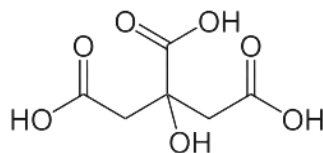


FIGURA 2 – Fórmula estrutural do ácido cítrico (HOOCCH₂)₂C(OH)COOH.

Assim, considerando a escassez de informações sobre a utilização do suco de limão como uma alternativa ao emprego de produtos químicos sintéticos para inversão da sacarose do açúcar cristal comercial, objetivou-se neste trabalho, avaliar o efeito da utilização de ácido cítrico e suco dos limões Galego, Tahiti e Cravo, na inversão da sacarose, para preparo de dieta artificial para adultos de *A. mellifera*.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram preparadas 27 soluções usando-se 100 g do açúcar cristal comercial diluídos em 100 mL de água. Empregou-se para inversão da sacarose, o ácido cítrico ou suco de limão, representando os tratamentos. O ácido cítrico foi utilizado nas quantidades de 0,1; 0,16; 0,3; 0,5 ou 0,7 g do produto comercial (pH 1,85), para cada solução preparada. Utilizou-se também suco dos limões Galego [*Citrus aurantifolia* (C.) Swingle], Tahiti [*Citrus latifolia* Tanaka] e Cravo [*Citrus limonia* (L.) Osbeck], adicionando-se 1,0; 2,0; 3,0; 5,0; 10,0; 15,0 e 20,0 mL em cada uma das soluções aquosas de açúcar cristal para realização da hidrólise ácida. Como testemunha empregou-se uma solução isenta de ácido cítrico e suco de limão.

Os frutos foram coletados no pomar de fruticultura da UFLA. Assim, para o limão Galego, os frutos foram colhidos com tamanho variando de 25 a 42 mm de diâmetro e com superfície de casca lisa e coloração verde, para o Tahiti baseou-se no tamanho de 45 a 65 mm, de casca lisa e verde brilhante e o fruto do limão Cravo com 33 a 62 mm, com coloração da casca verde e textura rugosa (Gayet et al., 1995) (Figura 3). Foram medidos o potencial hidrogeniônico (pH) e a acidez titulável (AT) de cada suco de limão utilizado (Figura 4). Como

testemunha foi usada uma solução aquosa de açúcar cristal (1:1). Posteriormente, cada solução foi colocada em um Becker de 200 mL e submetida ao aquecimento até ebulição e em seguida colocada para resfriamento em temperatura ambiente (Figura 5). Os teores de açúcares redutores e totais foram identificados segundo a técnica da Association of Official Analytical Chemists - AOAC (1970), pelo método de Somogyi modificado por Nelson (1944), em que o açúcar é aquecido com uma solução alcalina de tartarato de arsênio, produzindo um composto de coloração azul quantificado por espectrofotometria a 510 nm (Guy, 1992; Silva et al., 2003). Esse procedimento foi realizado no Departamento de Ciência de Alimentos da UFLA. Com esse método foi possível a obtenção dos teores de açúcares totais, redutores (monossacarídeos) e não-redutores (dissacarídeos). A porcentagem de inversão da sacarose foi obtida por meio da dosagem da sacarose, glicose e frutose, utilizando-se a equação (Rodrigues et al., 2000):

$$\% \text{ inversão} = \frac{\text{açúcares redutores}}{\text{açúcares redutores} + 1,05 \text{ açúcares não-redutores}} \times 100$$

Considerando a natureza quantitativa dos dados obtidos, esses foram submetidos à análise de regressão polinomial.

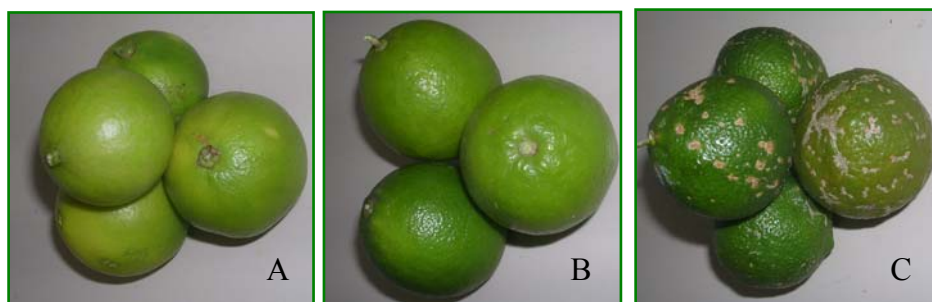


FIGURA 3 - Frutos de limão das espécies A – Galego [*Citrus aurantifolia*]; B - Tahiti [*Citrus latifolia*] e C - Cravo [*Citrus limonia*] coletados no pomar de fruticultura da UFLA.



FIGURA 4 – Sucos dos limões das espécies T - Tahiti [*Citrus latifolia*]; C - Cravo [*Citrus limonia*] e G – Galego [*Citrus aurantifolia*].

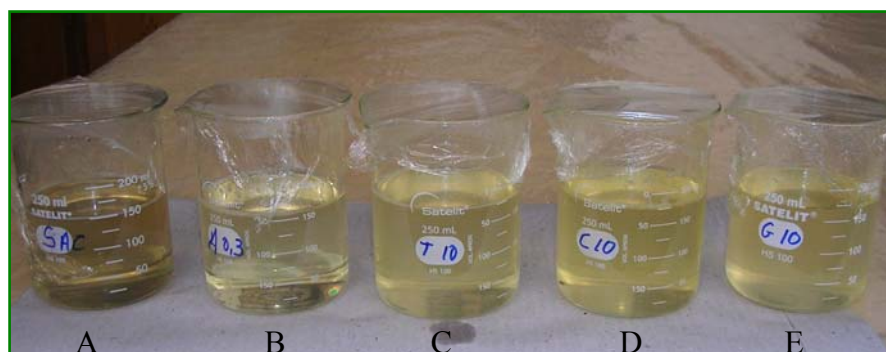


FIGURA 5 – Soluções aquosas de açúcar cristal (100 g:100 mL) acrescida de: A – testemunha; B - 0,3 g de ácido cítrico; C - 10 mL de suco de limão Tahiti D - 10 mL de suco de limão Cravo e E - 10 mL de suco de limão Galego.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao se avaliar os resultados das análises laboratoriais obtidas para os sucos dos limões, verificou-se que os valores de pH variaram de 1,94 no limão Galego a 2,35 no limão Cravo (Tabela 1). Quanto ao teor de ácido cítrico, o qual é um fator importante para desdobramento da sacarose, verificou-se que esse variou de um mínimo de 5,4 % no limão Cravo a 8,73% no limão Galego. Esses resultados encontram-se dentro da acidez relatada por Holme & Peck (1998) para limões, o qual é da ordem de 6,0 %.

TABELA 1 - Potencial hidrogeniônico (pH), porcentagens de ácido cítrico, açúcares totais, redutores e não-redutores dos sucos de três espécies de limões.

Parâmetros avaliados	Limões			Média
	Galego	Tahiti	Cravo	
pH	1,94	2,23	2,35	2,17
Ácido cítrico (%)	8,73	6,19	5,40	6,77
Açúcares totais (%)	3,72	4,52	5,57	4,60
Açúcares redutores (%)	2,07	3,03	3,42	2,84
Açúcares não-redutores (%)	1,57	1,42	2,04	1,68

Para os açúcares totais, redutores e não redutores, os resultados também evidenciam que os maiores teores foram encontrados no suco do limão Cravo, indicando ser esse o que possui maior conteúdo de sacarose.

Quando se analisou o açúcar cristal comercial, foi detectado que o pH é 6,72; os teores em percentagem de açúcares totais, açúcares redutores e não redutores foram de 80,10; 0,26 e 75,86%, respectivamente.

Em relação à inversão da sacarose empregando-se os sucos de limões, constatou-se de uma maneira geral, e independente da espécie de limão, que ao se aumentar a quantidade empregada, há uma maior percentagem de inversão. Ao se analisar as inversões obtidas quando da utilização dos sucos de limões Galego e Tahiti, verificou-se que ambos comportaram-se de forma semelhante, sendo que as percentagens de hidrólise variaram de uma média de 5,58% ao se usar 1 mL de suco até um máximo de 53,72% quando da utilização de 20 mL de suco do limão. Ao ser utilizado suco de limão Cravo, as percentagens de inversão obtidas foram sempre inferiores aos demais sucos (Tabela 2). Ao ser utilizado o suco dos limões Galego e Tahiti foram obtidos resultados superiores em relação ao limão Cravo nas sete quantidades analisadas. Usando-se a maior quantidade de suco das duas primeiras espécies de limões, obteve-se mais de 50 % de inversão, enquanto que, com a mesma quantidade de limão Cravo, obteve-se aproximadamente 35 % de inversão.

TABELA 2 - Porcentagem da sacarose invertida (açúcar redutor – AR) e pH das soluções de açúcar cristal submetidas a diferentes quantidades de sucos de limões.

Quantidade de suco de limão em mL	Limões					
	Galego		Tahiti		Cravo	
	AR (%)	pH	AR (%)	pH	AR (%)	pH
1,0	4,79	3,68	6,36	3,76	3,76	3,95
2,0	11,61	3,28	12,71	3,54	3,86	3,66
3,0	15,37	3,03	18,76	3,26	11,25	3,47
5,0	22,74	2,92	32,93	3,14	14,35	3,34
10,0	43,58	2,66	39,57	2,99	21,32	3,08
15,0	49,60	2,74	49,27	2,85	23,30	2,93
20,0	54,77	2,62	52,66	2,74	35,84	2,78

Ao se considerar os teores de ácido cítrico encontrados nos sucos dos três limões, as maiores concentrações foram aquelas para o Galego e Tahiti, enquanto que a menor foi aquela encontrada no suco do limão Cravo. Em relação ao pH, aqueles mais ácidos foram os dois primeiros e o menos ácido o limão Cravo. No suco desse último, foi também constatada maior concentração de açúcares totais e também não redutores (Tabela 1). Essas características, possivelmente, foram as responsáveis pela menor porcentagem de inversão da sacarose, sendo constatada uma diminuição de 33,27 % em relação à inversão média dos demais sucos de limões (Tabela 2).

Outro fator importante refere-se ao pH final da solução. À medida que se aumenta a quantidade de suco ou ácido cítrico na solução, observa-se uma redução desse fator, aumentando a acidez da solução, o que poderia causar rejeição do alimento por parte das abelhas (Tabelas 2 e 3).

TABELA 3 - Porcentagem da sacarose invertida (açúcares redutores – AR) e pH das soluções aquosas de açúcares em diferentes quantidades do ácido cítrico comercial.

Parâmetros avaliados	Quantidade de ácido cítrico (g)					
	0,0	0,1	0,16	0,3	0,5	0,7
AR (%)	0,26	6,81	15,47	33,25	46,06	52,24
pH	6,72	3,42	3,37	3,13	3,06	2,65

Empregando-se sucos dos limões Galego e Tahiti foram obtidos níveis de inversão crescentes, conforme o aumento da quantidade de suco empregada, mostrando-se como uma alternativa natural à utilização do ácido cítrico quando se deseja obter esse desdobramento. No entanto, a adição de maiores quantidades de suco de limão para melhorar a porcentagem de inversão, não é apropriada devido ao abaixamento do pH, aumentando em demasia a acidez da solução e uma possível elevação do custo final do alimento artificial a ser preparado, quando se considera a possibilidade de utilização por apicultores em condições de campo.

Para verificar a equivalência entre a inversão da sacarose por meio do ácido cítrico e do suco de limão das três espécies estudadas, realizaram-se as análises de regressão polinomial. As equações obtidas em função das quantidades de sucos de limões e ácido cítrico empregadas evidenciam que à medida que aumenta a concentração do agente catalisador, as soluções tornam-se mais ácidas (Figura 6).

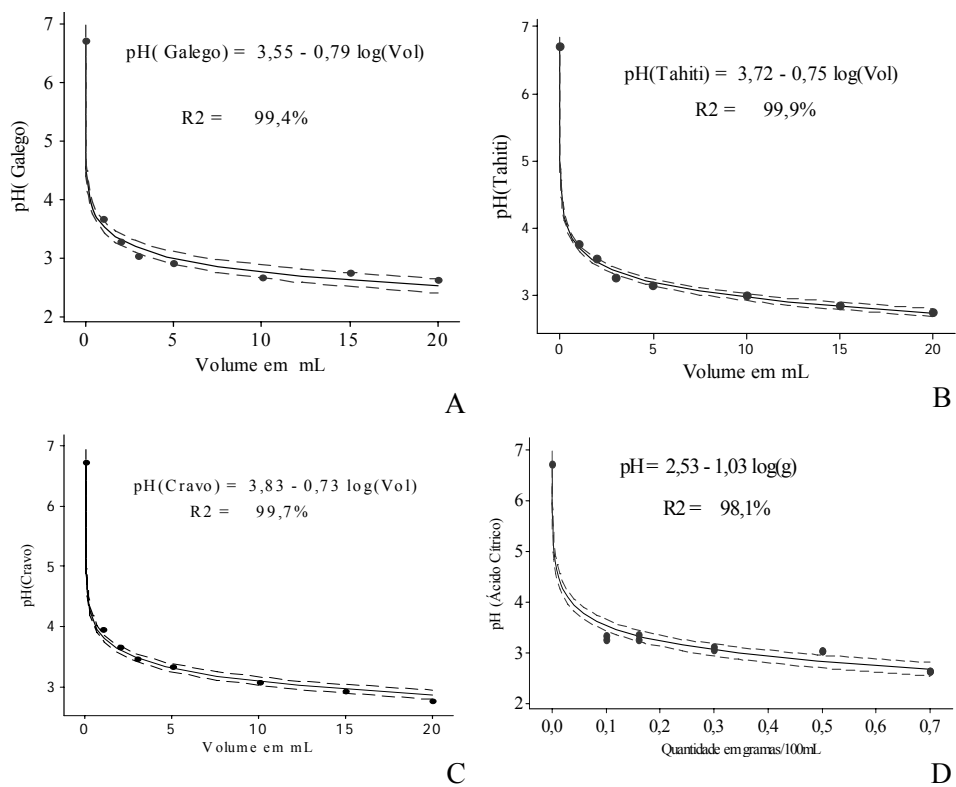
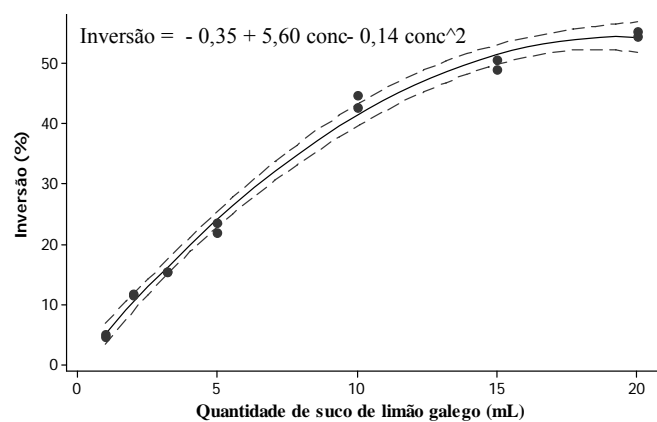


FIGURA 6 – Curvas de regressão ajustadas para o potencial hidrogeniônico da solução aquosa de sacarose em função da adição de sucos de limões (A, B, e C) e ácido cítrico (D) e as respectivas regiões de confiança a 95%.

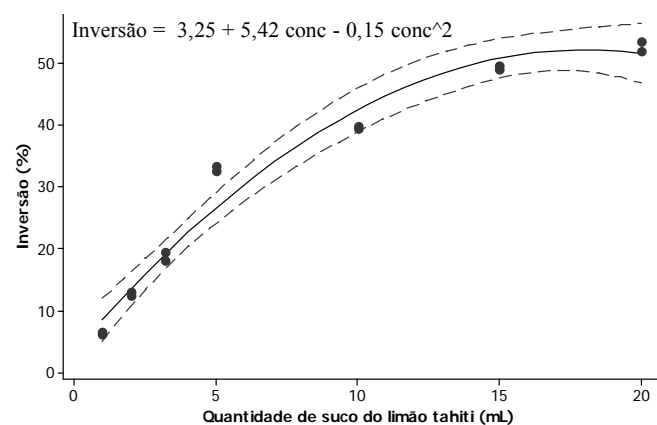
A utilização de soluções mais ácidas para *A. mellifera* é um fator ainda a ser pesquisado, uma vez que não se conhece qual ou quais são seus efeitos nesses insetos.

Para os sucos dos limões Galego e Tahiti, os quais apresentaram porcentagens de inversão próximas, obteve-se uma regressão polinomial (quadrática) dada por: $y_{\text{Galego}} = -0,35 + 5,60 \text{ conc} - 0,14 \text{ conc}^2$ ($R^2 = 99,4\%$) (Figura 7A) e $y_{\text{Tahiti}} = 3,25 + 5,42 \text{ conc} - 0,15 \text{ conc}^2$ ($R^2 = 97,0\%$) (Figura 7B), em que y é a porcentagem de inversão obtida para cada quantidade utilizada (conc). É ainda importante considerar o teor de sacarose (açúcar não-redutor) presente naturalmente nos sucos dos limões (Tabela 1). Ao se adicionar o suco na solução a ser preparada, está sendo aumentado seu teor de sacarose. Esse aspecto foi constatado quando se utilizou o suco de limão Cravo. Considerando a existência de uma maior concentração de açúcares não redutores nessa espécie, por exemplo a sacarose (Tabela 1), a inversão foi menor e o ajuste aos dados obtidos foi linear e dado por $y_{\text{Cravo}} = 3,813 + 1,548 [\text{cravo}]$ ($R^2 = 93,8\%$) (Figura 7C).

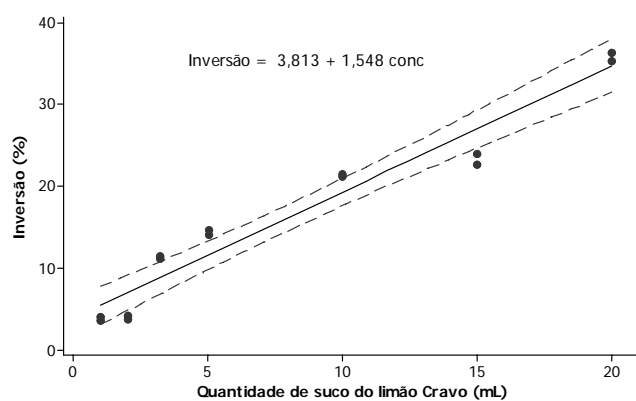
Os limões Galego e Tahiti têm um teor médio de açúcares não redutores de aproximadamente 1,49% e o limão Cravo de 2,40%. Desse modo, a partir das equações de regressão estabelecidas, ao se utilizar 20 mL de suco de limão, serão obtidas inversões de 55,65% e pH de 2,52 para o Galego, 51,65% e pH 2,74 para o Tahiti e somente 34,77% e pH 2,88 para o limão Cravo. Essas soluções finais apresentaram um pH médio abaixo daquele encontrado normalmente nos méis (Crane, 1979; Marchini et al., 2004). Esse ponto deve ser sempre analisado uma vez que, independente do suco empregado, nas suas maiores concentrações, há uma maior porcentagem de inversão, mas o valor absoluto do pH é menor, causando, possivelmente, um distúrbio fisiológico nos insetos.



A



B



C

FIGURA 7 – Curva de regressão ajustada para a inversão (%) do açúcar cristal em solução aquosa em função de quantidades de suco de limão e região de confiança a 95%. A- Galego, B- Tahiti, C-Cravo.

No que concerne à utilização do ácido cítrico comercial para inversão da sacarose em solução aquosa e por meio de uma regressão linear, obteve-se a equação: $y_{\text{inversão}} = 1,128 + 110,5 [\text{ácido cítrico}]$ ($R^2 = 93,7\%$) (Figura 8).

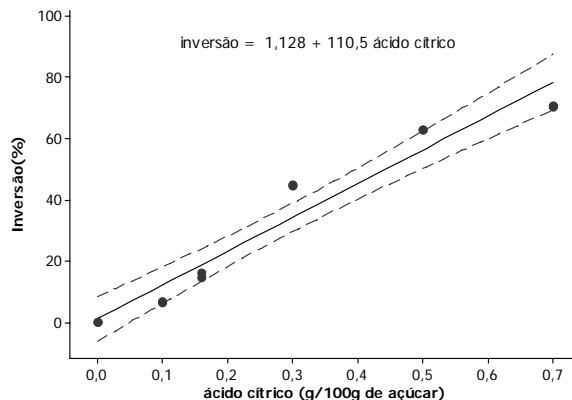


FIGURA 8 - Curva de regressão ajustada para a inversão (%) da sacarose em solução aquosa em função de concentrações de ácido cítrico e respectiva região de confiança a 95%.

Observou-se que, em função do aumento da quantidade de ácido cítrico, houve uma maior porcentagem de inversão, obtendo-se ajuste linear. No entanto, como mencionado anteriormente, o pH também é fortemente influenciado pela adição do ácido cítrico (Tabela 3). A solução aquosa de açúcar cristal apresentou um pH de 6,72 e com adição de 0,7 g de ácido cítrico, o pH foi reduzido para 2,65, sendo essa uma solução com teor de acidez maior que a encontrada nos méis brasileiros que, segundo Marchini et al. (2004) e Mendonça et al. (2008), é de 3,3 a 4,6. Os méis oriundos de colônias provenientes do apiário da UFLA, Lavras-MG, apresentaram pH entre 3,5 e 4,3, encontrando-se próximo à média de 3,9 citada por Crane (1979), obtida para méis oriundos de colônias de abelhas européias em clima temperado. A obtenção e o emprego de uma solução (dieta)

mais ácida por apicultores em condições de campo, poderá provocar distúrbios fisiológicos aos adultos, mudança comportamental, rejeição ao alimento, indivíduos com abdome mais volumoso que o normal, redução da longevidade, morte prematura dos imagos, interferência na capacidade de vôo, forrageamento, etc. como também constatado por Ozcan et al., 2006.

Desse modo, as quantidades sugeridas de ácido cítrico e suco dos três limões podem ser aquelas que fornecem solução com pH final variando de 3,3 a 4,6. Nessa condição pode-se também empregar as equações obtidas da análise de regressão (Tabela 4) para se determinar com maior precisão as quantidades mínimas e máximas a serem empregadas quando se deseja fazer a inversão da solução de sacarose, mantendo o pH dentro de um limite adequado para abelha, baseado na acidez média detectada para méis produzidos no Brasil.

TABELA 4 - Quantidades mínimas e máximas de ácido cítrico e suco de três espécies de limão a serem adicionadas em solução composta de 100 g de açúcar cristal + 100 mL de água para obtenção de potencial hidrogeniônico(pH) entre 3,3 e 4,6 e suas respectivas porcentagens de inversão.

Produtos	Quantidades		Inversão	
	mínima	máxima	mínima	máxima
Suco de limão Galego	0,047 mL	2,072 mL	0,000	10,654
Suco de limão Tahiti	0,067 mL	3,631 mL	3,613	20,951
Suco de limão Cravo	0,088 mL	5,321 mL	3,950	12,051
Ácido cítrico	0,010 g	0,179 g	2,233	20,908

Assim, para se fazer o desdobramento de uma solução aquosa de açúcar cristal (100 mL:100 g) e considerando os limites de pH para méis brasileiros (Marchini et al., 2004), pode-se utilizar de 0,01 a 0,179 g de ácido cítrico, obtendo-se um desdobramento de 2,233 a 20,908 %. Esse procedimento evitará corrigir o pH da solução final com a adição de outro composto químico, para uma eventual utilização como alimento para as abelhas. Esse mesmo princípio poderá ser adotado quando o suco de limão for utilizado como agente catalisador para hidrólise da sacarose (Tabela 4). É importante ressaltar que com a utilização de 3,6 mL de suco de limão Tahiti, obtém-se a mesma porcentagem de inversão quando da utilização da quantidade máxima de ácido cítrico, respeitando-se os limites de pH.

Outro ponto relevante refere-se à comparação desses resultados com a inversão obtida com a utilização do ácido cítrico. Lengler (2000), conduzindo pesquisas visando ao desenvolvimento de dietas para adultos de *A. mellifera*, relatou que ao se adicionar 0,1 g de ácido cítrico em solução aquosa de açúcar cristal (100 mL:100 g), pode-se obter a inversão da sacarose. Contudo, não mencionou a porcentagem de inversão obtida. Assim, baseando-se nos resultados da análise de regressão da presente pesquisa e em função do teor de ácido cítrico nas soluções de limões empregados, poderão ser usados 2,38; 1,73 ou 5,4 mL de suco dos limões Galego, Tahiti e Cravo para uma solução aquosa de sacarose (1:1) (100g de açúcar por 100 mL de água), obtendo-se proporcionalmente uma inversão de aproximadamente 12,18 % e um pH de 3,25; 3,54 e 3,30, respectivamente.

De maneira semelhante, Pereira et al. (2006), ao utilizarem 0,16 g de ácido cítrico para se fazer a inversão da sacarose em solução aquosa de açúcar cristal, não mencionaram qual foi a porcentagem de redução encontrada. Desse modo, considerando os resultados obtidos no presente ensaio, ao se empregar 0,16 g de ácido cítrico na inversão da solução de açúcar cristal, foi obtido um

desdobramento de 18,81 % e um pH da ordem de 3,35. Assim, quando se deseja uma mesma porcentagem de inversão de uma solução de sacarose, poderão ser usados 3,78; 3,15 ou 9,7 mL dos sucos dos limões Galego, Tahiti e Cravo e com a obtenção de um pH de 3,09; 3,35 e 3,11, respectivamente. Avaliando esses resultados, nota-se que, ao se utilizar o suco de limão para obter inversão de sacarose equivalente às recomendações de Lengler (2000) e Pereira et al. (2006), o pH estimado fica abaixo do esperado para os casos do limão Galego e Cravo. Nessas recomendações, o suco de limão Tahiti foi o mais adequado para substituição do ácido cítrico.

Ressalta-se, que embora as pesquisas até agora desenvolvidas não relatem a situação de controle de pH, isso possivelmente seja um fator que poderá interferir na qualidade da dieta, com reflexos na fisiologia e biologia do inseto.

CONCLUSÕES

A quantidade máxima de ácido cítrico a ser adicionada em solução aquosa de açúcar cristal (1:1), adotando como critério o potencial hidrogeniônico (pH) dos méis produzidos por abelhas africanizadas, é de 0,18 g para cada 100 g de açúcar, obtendo-se uma inversão de 20,9% da sacarose.

Os sucos dos limões Galego, Tahiti e Cravo podem ser utilizados como substitutos do ácido cítrico para inversão da sacarose na solução aquosa de açúcar cristal (1:1). A quantidade máxima a ser adicionada, respeitando-se o limite do pH, corresponde a 2,07; 3,63 e 5,32 mL, para cada 100 g de açúcar, com porcentagem de inversão de 10,6; 20,9 e 12,1 %, respectivamente.

Considerando a porcentagem de inversão e pH recomendados para utilização do ácido cítrico, o suco do limão Tahiti é o que fornece melhores resultados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 11. ed. Washington, 1970. 1015 p.

BARKER, R. J.; LEHNER, Y. Laboratory comparison of high fructose corn syrup, grape syrup, honey, and sucrose syrup as maintenance food for caged honey bees. **Apidologie**, v. 9, n. 2, p. 111-116, 1978.

CRANE, E. **Honey**: comprehensive survey. London: Willian Heinemann, 1979. 680 p.

GAYET, J. P.; BLEINROTH, E. W.; NATALLO, M.; GARCIA, E. C.; GARCIA, A. E.; ARDITO, E. F. G.; BORDIN, M. R. **Lima ácida Tahiti para exportação** : procedimentos de colheita e pós colheita. Brasília: EMBRAPA, 1995. 36 p.

GUY, C. I. Sucrose phosphatase synthase and sucrose accumulation at low temperature. **Plant Physiology**, v. 100, n. 1, p. 502-508, Sept. 1992.

HERBERT JÚNIOR., E. W. Honey bee nutrition. In: GRAHAM, J. M. (Ed). **The hive and the honey bee**. Michigan: Dadant & Sons, 1992.1324 p.

HOLME, D. J.; PECK, H. **Analytical biochemistry**. Singapore: Longman, 1998. 488 p.

LENGLER, S. Alimentação artificial de abelhas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 13., 2000, Florianópolis. **Anais....** Florianópolis: UFSC, 2000. 1 CD-ROM.

MARCHINI, L. C.; SODRÉ, S. G.; MORETI, A. C. C. C. **Mel brasileiro composição e normas.** Ribeirão Preto: A. S. Pinto, 2004. 111p.

MENDONÇA, K.; MARCHINI, L. C.; SOUZA, B. A.; ANACLETO, D. A.; MORETI, A. C. C. C. Caracterização físico-química de amostras de méis produzidos por *Apis mellifera* L. em fragmento de cerrado no município de Itirapina, São Paulo. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 38, n. 6, p.1748-1753, set. 2008.

NELSON, N. A. A photometric adaptation of the somogyi method for the determination of glucose. **Journal of Biology Chemistry**, v. 153, n. 2, p. 375-380, May 1944.

OLIVEIRA, M. S.; BORGES, M. T. M. R.; LOPES, C. H.; VERRUMA-BERNARDI, M. R.; ALVES, F. V.; CASTANHEIRA, B. D.; MORAES, M. I. M. Estudo da inversão ácida e enzimática da sacarose, em caldo de cana-de-açúcar, visando padronização na produção de melado. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 14., 2007, São Carlos. **Anais...** São Carlos, 2007. v. 3, p. 312.

OZCAN, M.; ARSLAN, D.; CEYLAN, D. A. Effect of inverted saccharose on some properties of honey. **Food Chemistry**, v. 99, n. 1, p. 24-29, 2006.

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

RODRIGUES, M. V. N.; RODRIGUES, R. A. F.; SERRA, G. E.; ANDRIETTA, S. R.; FRANCO, T. T. Produção de xarope de açúcar invertido obtido por hidrólise heterogênea, através de planejamento experimental. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 20, n. 1, p. 2-15, abr. 2000.

SCHMIDT, L. S.; SCHMIDT, J. O.; RAO, H.; WANG, W.; XU, L. Feeding preference and survival of young worker honey bees (Hymenoptera: Apidae) fed rape, sesame, and sunflower pollen. **Journal of Economic Entomology**, Washington, DC, v. 88, n. 6, p. 1591- 1595, 1995.

SILVA, R. N.; MONTEIRO, V. N.; ALCANFOR, J. X.; ASSIS, E. M.; ASQUIERI, E. R. Comparação de métodos para a determinação de açúcares redutores e totais em mel. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 3, p. 337-341, set./dez. 2003.

WHITE JÚNIOR, J. W. Composition of honey. In: CRANE, E. **Honey: comprehensive survey**. London: Heinemann, 1979. 680 p.

WINSTON, M. L. **The biology of the honey bee**. London: Harvard University, 1987. 281 p.

CAPÍTULO 4

LONGEVIDADE DE

Apis mellifera Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae)

ALIMENTADA COM MEL E PÓLEN COLETADO NO FAVO

RESUMO

BRIGHENTI, Deodoro Magno. Longevidade de *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae) alimentada com mel e pólen coletado no favo. In: _____ . **Diets energéticas e proteicas para adultos de *Apis mellifera* Linnaeus 1758 (Hymenoptera: Apidae)**. 2009. cap. 4, p. 83 - 104. Tese (Doutorado em Entomologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG.

Avaliou-se em condições de laboratório a longevidade de adultos de *Apis mellifera* confinados em gaiolas de PVC de 15 x 10 cm. As abelhas foram obtidas de uma colméia do apiário da Universidade Federal de Lavras – UFLA, retirando-se um quadro do ninho, contendo pupas e mantendo-o em uma câmara climatizada a $34 \pm 1^\circ \text{C}$, na ausência de luz, para obtenção de insetos de idade conhecida. A utilização de adultos de idade conhecida permitiu o cálculo de estimativas precisas da longevidade dos insetos. O ensaio foi realizado em delineamento inteiramente casualizado e as abelhas alimentadas com as dietas: mel; pólen coletado pelas abelhas e depositado no favo da mesma colônia; pólen do favo + mel e água destilada, com dez repetições de dez abelhas cada uma. Avaliou-se o número de abelhas sobreviventes a cada 12 horas durante toda a fase adulta, ajustando-se a curva de sobrevivência baseada na distribuição de Weibull. Também estimaram-se os valores do TL_{10} , TL_{20} , TL_{50} e TL_{99} . As melhores dietas para adultos de *A. mellifera* mantidos em condições de laboratório, foram aquelas utilizando o mel ou o pólen do favo + mel, obtendo-se longevidade média de 545,4 horas, aproximadamente 23 dias. A alimentação exclusivamente com pólen não foi adequada para a manutenção de abelhas em laboratório, fornecendo uma longevidade de 107,71 horas, aproximadamente 4,5 dias.

Palavras-chave: emergência, sobrevivência, tempo letal, idade.

ABSTRACT

BRIGHENTI, Deodoro Magno. Longevity of *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae) fed with honey and pollen collected in the honeycomb. In: _____. **Energetic and protein diets for adults of *Apis mellifera* Linnaeus 1758 (Hymenoptera: Apidae)**. 2009. cap. 4, p. 83 - 104. (Doctorate Thesis in Entomology)–Federal University of Lavras, Lavras-MG.

The longevity of *Apis mellifera* adults confined in PVC cages 15 x 10 cm was determined under laboratory conditions. The bees were obtained from a hive of the central apiary of the Lavras Federal University – UFLA, by taking out a frame of the nest, containing pupes and maintained in a climatized chamber set at $34 \pm 1^\circ \text{C}$, in the absence of light for obtaining insects of known age. The trial was accomplished in a completely randomized design and the bees fed the following diets: 1. honey; 2. pollen collected by the bees and deposited into the comb of the same colony; 3. comb pollen + honey and 4. distilled water with ten replicates of ten bees each. The number of surviving bees, every 2 hours until completing 546 hours, was evaluated by adjusting the survival curve based on the Weibull distribution. The values of LT_{10} , LT_{20} , LT_{50} and LT_{99} were also, estimated. The use of adults of known age allowed the calculation of more accurate longevity estimates. The best diets for laboratory-maintained *A. mellifera* adults were those using honey or honeycomb pollen + honey. A medium longevity of 545.4 hours, approximately 23 days, was obtained. Feeding bees exclusively with pollen is not indicated for maintaining them in laboratory, given that longevity reaches only 107.71 hours, approximately 4.5 days.

Key words: emergence, survival, lethal time, age.

INTRODUÇÃO

Em condições naturais a longevidade de operárias de *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 está relacionada a fatores climáticos, alimento, trabalho desempenhado, desenvolvimento e sanidade da colônia, espécie e origem geográfica (Kulincevic & Rothenbuhler, 1982).

De acordo com Winston et al. (1983), os adultos de abelhas européias possuem uma longevidade maior em relação às operárias africanizadas devido ao comportamento de hibernação e controle térmico na colméia em regiões temperadas. Em períodos de maiores fluxos de néctar e pólen (primavera/verão), as operárias européias possuem uma longevidade de 15 a 38 dias e durante o inverno, de 90 a 140 dias. Segundo Sakagami & Fukuda (1968), para as abelhas de clima temperado, existem duas fases distintas de longevidade estabelecidas em dois ciclos anuais; no inverno as operárias possuem uma sobrevivência mais longa devido à característica de hibernação; no verão vivem por um período mais curto pela maior atividade, provocando um desgaste físico e energético causado principalmente pelo forrageamento.

Com relação à longevidade de abelhas de regiões tropicais e subtropicais, onde os adultos de *A. mellifera* encontram-se ativos, Souza & Simokomaki (1997) relataram que essa diferença de sazonalidade não é evidente. No entanto, as abelhas africanizadas confinadas tiveram uma longevidade média de 8,4 dias e em condições naturais de 19,9 dias.

Avaliar os fatores que afetam a longevidade de insetos sociais, como é o caso de *A. mellifera* mantidas em condições de laboratório, constitui uma tarefa complicada, uma vez que fatores intrínsecos e extrínsecos atuam na fisiologia, metabolismo e comportamento desses insetos, influenciando na sobrevivência desses organismos em condições artificiais (Hebert Júnior, 1992).

Em função de condições e características inerentes ao desenvolvimento pós-embriônico de *A. mellifera* ocorrer em células prismáticas hexagonais em uma colônia, normalmente torna-se difícil a criação “in vitro” dessa espécie. A obtenção de adultos para pesquisas a partir de larvas criadas em laboratório exige conhecimentos e técnicas especiais, fazendo com que na quase totalidade das pesquisas até então realizadas, sejam utilizados insetos com idade desconhecida coletados nas colônias (Carvalho, 2006).

Quando se conduz uma pesquisa empregando adultos de *A. mellifera*, normalmente relaciona-se a idade do adulto ao trabalho que está sendo executado na colméia. Assim, torna-se uma situação extremamente difícil ou quase impossível, determinar qual é a idade real em que se encontra o adulto obtido diretamente na colméia. Para a confiabilidade nos resultados em função dos tratamentos, é importante que sejam usados insetos de idade conhecida.

Segundo metodologia preconizada para realização de experimentos de toxicidade com adultos de *A. mellifera* nos E.U.A. (U. S. EPA, 1996) e Europa (OECD, 1998 ; OEPP, 2006), tem sido sugerida a utilização de insetos recém-emergidos e com no máximo sete dias de vida. No entanto, não existe esclarecimento sobre a determinação quanto ao local de coleta dos adultos na colônia, dificultando conhecer a idade correta dos indivíduos.

Em pesquisas conduzidas por Malone (2004), Santoro (2004), Carvalho (2006) e Brighenti et al. (2007), foi relatado que os adultos das abelhas são coletados aleatoriamente em colônias, retirando-se insetos dos ninhos ou melgueiras. Os quadros da colméia são agitados no interior de uma gaiola de transporte e os adultos levados ao laboratório para realização dos ensaios. Por estarem associados aos quadros do ninho, esses insetos, de acordo com Winston (1987), possivelmente são aqueles mais jovens, sendo responsáveis pela alimentação de larvas e controle térmico da colméia. Contudo, Brighenti et al. (2007), durante a montagem de ensaios em laboratório, observaram adultos de *A.*

mellifera com a corbícula contendo pólen ou resinas, sendo, portanto, insetos de idade mais avançada.

De um modo geral, são poucas as referências relatando a idade das abelhas usadas experimentalmente. Rinderer & Elliott (1976), Harbo & Harris (1991), Cremonoz et al. (1998) e Bloch & Meshi (2007) relataram que os adultos de *A. mellifera* utilizados nas pesquisas possuíam idade que variavam de 0 a 24 horas. Benitez (2000), Betioli & Chaud-Netto (2001) e Hoover et al. (2006) empregaram adultos recém-emergidos, sem mencionarem a idade do inseto e local de coleta dos adultos na colméia.

Outro fator importante que influencia a sobrevivência do inseto em laboratório refere-se à alimentação. As abelhas exigem proteínas, carboidratos, minerais, lipídios, vitaminas e água, e esses são supridos quando as abelhas responsáveis pelo forrageamento coletam e armazenam néctar, pólen e água. Em condições de campo, as abelhas têm esses como alimentos, os quais fornecem todos nutrientes essenciais ao desenvolvimento de larvas e adultos da colônia (Herbert Júnior, 1992 ; Benitez, 2000). O pólen é a fonte predominante de proteínas, lipídios, minerais e vitaminas na dieta da abelha, enquanto o mel é sua fonte de carboidratos. Porém, a composição química, tanto do pólen quanto do mel, varia com a espécie, estado nutricional e idade da planta (Herbert Júnior & Shimanuki, 1978). Quando esses insetos são mantidos em condições de laboratório visando avaliar sua longevidade, têm sido empregados como alimento, aqueles de natureza energética, protéica ou mesmo uma mistura de ambos (Pereira et al., 2006).

Assim, objetivou-se nesta pesquisa avaliar a longevidade de *A. mellifera* a partir de imagos emergidos em laboratório quando alimentados com mel, pólen ou mel + pólen coletado do favo.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção de adultos de *Apis mellifera*

Os adultos de abelhas africanizadas foram obtidos de uma colônia em produção, mantida em colméia modelo Langstroth, no Apiário Central da Universidade Federal de Lavras - UFLA, situada na latitude de 21° 14' S, longitude de 45° W e altitude de 910 m (Brasil, 1992), objetivando obtenção de material biológico para montagem dos experimentos. Para seleção da colônia adulta observou-se aquela em que os oito quadros centrais do ninho possuíam ovos, larvas e pupas além da melgueira com adultos processando néctar.

O enxame selecionado foi alimentado semanalmente por meio de um alimentador Boardman adaptado com uma garrafa plástica (PET) de 1,5 L, contendo uma solução de mel e água a 50 %. Realizou-se o manejo da colônia fazendo com que o depósito dessa solução pelas abelhas ocorresse preferencialmente nos quadros laterais do ninho e na melgueira. Assim, dos dez quadros do ninho, foram mantidos oito centrais como local para a reprodução e desenvolvimento dos insetos. A rainha foi marcada no mesotórax com tinta atóxica e coloração amarela de acordo com normas internacionais da APIMONDIA (Federação Internacional de Associações de Apicultores) para o ano de 2007, permitindo seu acompanhamento durante as revisões da colméia em toda a fase experimental. Da colônia selecionada retirou-se um quadro na área central contendo pupas com aproximadamente 90 % de células operculadas, além de células contendo mel e pólen. Posteriormente, foi transportado para o laboratório em uma caixa de isopor para manter as condições térmicas. Logo após, o quadro foi transferido para uma unidade experimental denominada “gaiola de emergência” mantida em câmara climatizada a 34 ± 2 °C, UR de 70 ± 10 % e ausência de luz, para obtenção de insetos com idade conhecida.

Essa gaiola de emergência possui 50 cm de comprimento x 7,5 cm de largura x 25 cm de altura, permitindo a colocação de um a dois quadros de ninho. Sua estrutura foi feita em madeira e as laterais revestidas com tela plástica de malha de 2 mm, de cor branca, possibilitando visualizar os insetos no seu interior. A vedação da parte superior foi confeccionada em madeira, podendo ser removida para inserção e remoção do quadro. A parte inferior também foi construída com estrutura semelhante e móvel, permitindo sua remoção para higienização. Aproximadamente 48 horas após esse procedimento, foram obtidos os primeiros adultos de *A. mellifera* em número suficiente para serem empregados para montagem do experimento. Para certificar a idade dos insetos, um dia antes da montagem do ensaio, os adultos já emergidos foram eliminados da gaiola, utilizando, portanto, insetos com idade conhecida. Após a emergência dos insetos, esses foram pesados em balança analítica.

Avaliação da longevidade de *Apis mellifera*

Foram empregadas gaiolas de PVC de 15 cm de diâmetro por 10 cm de altura, tendo a parte superior revestida com tecido tipo filó e a inferior com organza. Em cada unidade experimental foram colocados dez adultos com até 24 horas de idade e mantidos em sala climatizada a $29 \pm 2^\circ\text{C}$, UR $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. Os indivíduos assim coletados possuem pouca atividade motora e por isso não foi necessário anestesiá-los com CO_2 . O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos representados pelas dietas: mel da colônia; pólen coletado do favo ou pão de abelhas (pólen armazenado no favo e que recebeu mel, secreções glandulares das abelhas e sofreu fermentação ácido-lática por ação de bactérias e leveduras (Pacheco, 2007)) (Figura 1); pólen coletado do favo + mel (1:1) (Figura 2) e água destilada (testemunha), com dez repetições. O teor de proteínas do pólen coletado do favo e sacarose no mel utilizados, foi determinado por meio de

análise bromatológica, realizada no Departamento de Ciência dos Alimentos da UFPA, sendo de 20,02 e 4,3%, respectivamente.

Para se determinar a longevidade, foi avaliado o número de insetos mortos a cada 12 horas durante toda a fase adulta. A cada coleta de dados foi avaliado o comportamento dos insetos em cada tratamento, verificando-se comportamento higiênico, trofolaxia e deslocamento. Após a mortalidade de 80% dos indivíduos em cada tratamento, os indivíduos sobreviventes foram anestesiados, quando necessário, e pesados em balança analítica para comparação com o peso inicial obtido logo após a emergência.

Para análise estatística adotou-se o mesmo procedimento descrito no capítulo 1 (páginas 14, 15, 16).



FIGURA 1 – Favo com pólen armazenado e corte transversal.



FIGURA 2 – Ensaio referente ao tratamento com pólen coletado do favo + mel.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise bromatológica do pólen retido em um coletor adaptado à colméia em estudo revelou um teor de proteína de 14,7%, enquanto que naquele obtido diretamente dos favos esse teor foi de 20,02%. Haydak (1970), Herbert Junior (1992) e Cohen (2004) relataram que para atender às necessidades nutricionais dos adultos de *A. mellifera*, o pólen deve conter um teor protéico da ordem de 20%. Standifer et al. (1970) e Crailsheim (1990) observaram que adultos de *A. mellifera* alimentados com pólen cujo teor de proteínas era inferior a 13,8%, apresentaram desenvolvimento anormal da glândula hipofaringeana, tendo como conseqüência, reflexo negativo na produção de geléia real, um produto rico em proteínas (Bocquet, 2005).

Segundo Standifer et al. (1970) e Herbert Júnior & Shimanuki (1978), os adultos de *A. mellifera* não utilizam o pólen coletado diretamente de uma flor como alimento. Durante seu armazenamento nos alvéolos dos favos da colméia, o pólen é fermentado por microrganismos como *Pseudomonas*, *Lactobacillus* e *Saccharomyces*, além de ser incorporado com mel e secreções glandulares das abelhas, que permitem maior digestibilidade desse composto, sendo denominado “bee bread” (Herbert Júnior & Shimanuki, 1978). Assim, somente a partir dessa transformação é que esse composto será utilizado pelos adultos para sua alimentação e também das larvas. Ao se empregar a dieta do pólen coletado no favo (“bee bread”), observou-se que essa não foi adequada para se avaliar a longevidade dos adultos.

Em relação ao mel, o teor de sacarose foi de 4,3%, estando, portanto dentro dos limites estabelecidos pelo Ministério da Agricultura e relatados por Mendonça et al. (2008).

Os dados referentes aos valores de longevidade das operárias confinadas foram analisados e ajustados à distribuição Weibull. As estimativas dos parâmetros de forma e escala obtidas para cada tratamento (Tabela 1), permitiram a construção das curvas de sobrevivência em cada situação (Figura 3).

TABELA 1 – Estimativas dos parâmetros de forma e escala da distribuição Weibull sob cada uma das condições alimentares.

Tratamento	Parâmetros	
	Forma ($\hat{\beta}$)	Escala ($\hat{\alpha}$)
1. Mel	2,616	302,554
2. Pólen	2,684	60,973
3. Pólen + mel	2,830	319,943
4. Água destilada	2,010	20,632

Constatou-se que a menor sobrevivência dos adultos de *A. mellifera* foi observada quando os insetos foram mantidos nos tratamentos contendo apenas pólen e água destilada durante toda a condução do experimento. Ao se utilizar mel e pólen + mel, foi observado aumento significativo na sobrevivência dos adultos (Figura 3).

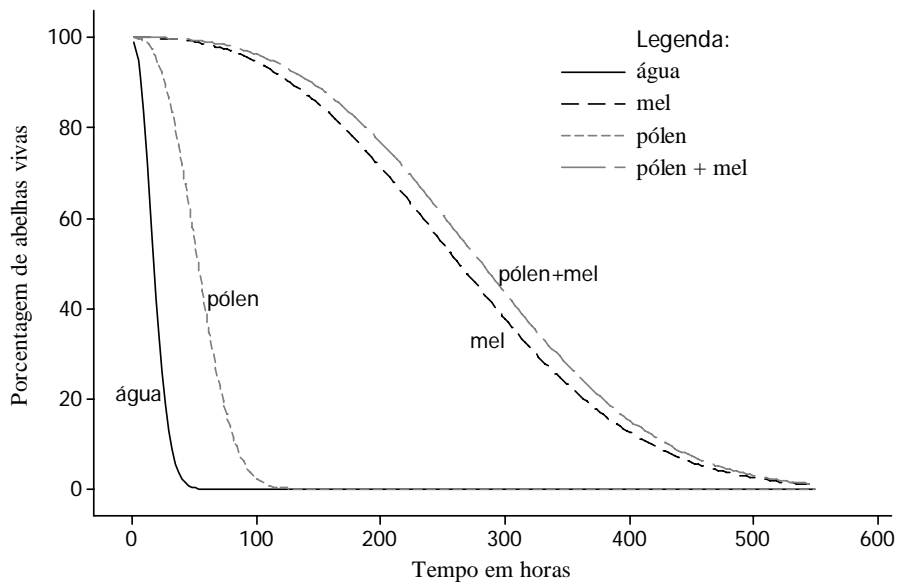


FIGURA 3 – Curvas de sobrevivência *Apis mellifera* alimentadas com mel, pólen, pólen + mel e água, ajustadas segundo o modelo de Weibull. Temperatura de 28 ± 2 °C, UR $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

Quanto ao parâmetro β , que indica a forma da curva e a característica das mortes, nota-se que todos foram maiores que 1 (Tabela 1), indicando que todas as curvas de sobrevivência têm formato sigmóide. Pelo teste qui-quadrado observou-se que não houve diferença significativa a 5% entre as estimativas desses parâmetros.

Para o parâmetro de escala α observou-se uma estimativa maior para os tratamentos de pólen + mel e mel com valores de 319,94 e 302,55 horas, respectivamente, sendo esse o tempo necessário para ocorrência de 63,2% das mortes. Pelo teste qui-quadrado não se observou diferença significativa a 5% entre as estimativas desse parâmetro para os tratamentos mel e pólen do favo + mel.

Durante todas as avaliações, observou-se que a curva de sobrevivência do tratamento pólen + mel ficou acima da curva que representa a evolução ao longo do tempo quando utilizou-se somente mel como dieta (Figura 3). Pela análise conjunta dos dois parâmetros da distribuição de Weibull (Tabela 1) e considerando-se os teste de igualdade de modelos, pode-se afirmar que é possível agrupar as curvas de sobrevivência correspondentes aos tratamentos mel e pólen do favo + mel.

Em relação ao tempo letal de 10% (TL_{10}) constatou-se que as abelhas mantidas com pólen ou água destilada, apresentaram uma longevidade de 26,3 e 6,73 horas. Para as dietas mel e pólen do favo + mel encontrou-se uma longevidade superior, sendo de 127,99 e 144,46 horas, respectivamente. De forma semelhante, em relação a TL_{20} , foi constatada uma longevidade variando de 170,51 a 188,32 horas, quando alimentados com mel e pólen + mel, respectivamente. Para as dietas contendo pólen ou água destilada, a longevidade foi inferior, sendo de apenas 34,87 e 9,78 horas, respectivamente (Tabela 2).

Em experimentos toxicológicos envolvendo *A. mellifera* normalmente utiliza-se o próprio mel como alimento para a testemunha, sendo os bioensaios conduzidos até que 10 % ou, em alguns casos, até que 20 % das abelhas no tratamento testemunha estejam mortas. No caso de testes com compostos químicos de contato, a recomendação da OEPP (2006) é que um teste só é aceitável até que ocorra mortalidade de 10 % das abelhas da testemunha. Isso significa que normalmente os bioensaios podem ser planejados para que durem cinco dias (120 horas $\approx TL_{10}$) no máximo se forem utilizadas abelhas recém-emergidas. Para testes de toxicidade em abelhas africanizadas com resíduos de produtos fitossanitários em folhas de plantas, a tolerância é de 20% segundo o U. S. EPA (1996), sendo esse patamar atingido em cerca de sete dias (168 horas $\approx TL_{20}$).

TABELA 2 – Tempo letal de *Apis mellifera*, em horas, alimentadas com mel, pólen e pólen + mel e água. Temperatura 29 ± 2 °C, UR $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

Tratamentos	Tempo Letal em horas			
	TL ₁₀	TL ₂₀	TL ₅₀	TL ₉₉
Mel	127,99 ± 11,33	170,51 ± 11,74	262,99 ± 11,80	542,47 ± 28,02
Pólen	26,3 ± 2,02	34,87 ± 2,15	53,19 ± 2,32	107,71 ± 4,73
Pólen + mel	144,46 ± 12,01	188,32 ± 12,11	281,08 ± 11,64	548,82 ± 26,85
Água	6,73 ± 0,99	9,78 ± 1,09	17,19 ± 1,12	44,11 ± 3,54

Em decorrência da maior sobrevivência observada para os tratamentos onde se empregou mel ou pólen + mel, essas dietas podem ser consideradas adequadas, e podem ser empregadas para a alimentação desses insetos confinados em laboratório, quando se torna necessário avaliar os insetos por um período de aproximadamente cinco a seis dias. Por outro lado, ficou evidenciado que as dietas formadas somente de pólen ou água destilada não podem ser usadas para esses insetos quando em confinamento.

Em que concerne ao TL₅₀, a longevidade dos adultos variou de 262,99 a 281,08 horas nos tratamentos com mel e pólen + mel, enquanto para as dietas de pólen ou água destilada, a longevidade foi também inferior, sendo de apenas 53,19 e 17,19 horas (Tabela 2).

Ao se comparar os resultados obtidos nessa pesquisa com outras realizadas até o momento com abelhas africanizadas coletadas diretamente na colméia e com idade desconhecida, a mortalidade dos adultos no tratamento testemunha é de 50 a 60% em um intervalo de cinco dias (Carvalho, 2006; Brighenti et al., 2007). Assim, observou-se que essa porcentagem de mortalidade ocorreu em aproximadamente 12 dias para a dieta pólen + mel, evidenciando-se

claramente a necessidade de se trabalhar com insetos de idade conhecida. Isso permitirá que sejam evitadas interpretações incorretas sobre a influência na mortalidade do adulto.

Para o tempo letal TL_{99} evidenciou-se que a longevidade dos adultos foi de 542,47 e 548,82 horas, para a extinção da população. Constatou-se que ao serem alimentados com pólen + mel, os adultos sobreviveram em condições de laboratório, por aproximadamente 24 dias. Então, no caso de experimentos envolvendo avaliação comportamental, se não houver exigência de quantidade mínima de indivíduos, o pesquisador que utilizar abelhas africanizadas recém-emergidas terá uma expectativa de acompanhá-las por 552 horas. Esse tempo de sobrevivência de abelhas africanizadas é superior ao relatado por Winston (1987) que cita a longevidade de operárias de abelhas africanizadas na América do Sul, durante o período seco, como sendo de 12 a 18 dias. De forma semelhante, estimou-se o tempo para a extinção da população (TL_{99}) alimentada com pólen e água destilada, sendo encontrado 107,71 e 44,11 horas, isto é 4,49 e 1,84 dias, respectivamente (Tabela 2).

Kulincevic & Rothenbuhler (1973) nos Estados Unidos, trabalhando com adultos de *A. mellifera* com um dia de idade, confinadas em laboratório e alimentadas com solução aquosa de sacarose (1:1), obtiveram uma longevidade variando de 103,2 a 312,0 horas, sendo essa inferior à obtida nessa pesquisa quando alimentados com mel.

Observou-se também que os adultos mantidos nas unidades experimentais e alimentados com a dieta composta de pólen + mel apresentaram comportamento diferente em relação às demais dietas. Esses eram mais ativos, deslocando-se com maior agilidade nas gaiolas de confinamento, fato esse que poderá estar relacionado àquele citado por Dietz (1975) e Winston (1987), onde adultos de *A. mellifera* necessitam de pólen nos primeiros dias após a emergência para o desenvolvimento do seu sistema glandular, como, por

exemplo, as glândulas salivares, hipofaríngeas, ceríparas, odoríparas etc, reduzindo-se essa dependência de consumo com a idade mais avançada.

Em relação ao peso, Otis (1982) relatou que, após a emergência, abelhas africanizadas pesam em média 62,0 mg e posteriormente pesam cerca de 93,0 mg. Na presente pesquisa constatou-se que o peso das abelhas recém-emergidas foi de 100,9 mg. Ao serem alimentadas por um período de oito dias com as dietas em teste, constatou-se uma redução no peso final. Assim, ao receberem como alimento somente mel, o peso final foi de 61,1 mg, quando receberam pólen+ mel, esse foi correspondente a 90,3 mg e no tratamento contendo pólen do favo o peso final foi de 76,2 mg. Assim, os resultados obtidos são discrepantes daqueles obtidos por Otis (1982) em que houve um acréscimo no peso de adultos. Herbert Júnior (1992) relatou que adultos de *A. mellifera* recém-emergidos consomem o pólen armazenado no interior dos prismas hexagonais, suprimindo suas necessidades protéicas, não sendo mais essencial, a partir do oitavo dia, a ingestão de proteína. Nesse período inicial, ocorre um ganho de peso devido ao aumento do teor de nitrogênio, que varia de 93% na cabeça, 73% abdome e 37% no tórax. Neste trabalho, observou-se que no tratamento apenas com pólen, as operárias ganharam mais peso em relação àquelas alimentadas somente com mel, mas ocorreu menor longevidade. Ao serem alimentadas com pólen + mel tiveram suas necessidades protéicas supridas, apresentando maior peso e longevidade. Observando esses resultados, pode-se inferir que, para se obter maior longevidade e desenvolvimento corpóreo de abelhas recém-emergidas e mantidas em confinamento, há necessidade de alimentá-las com pólen associado ao mel.

Wiese (2000), baseando-se em pesquisas realizadas com espécies européias de *Apis* spp, mencionou que a longevidade média é de 42 dias. Durante esse período as abelhas desempenham todas as funções inerentes às atividades em uma colméia, em função da faixa etária. Considerando os

resultados obtidos nesse trabalho, uma abelha africanizada poderá viver aproximadamente 23 dias em condições de laboratório, sendo esse o intervalo de tempo necessário para que as abelhas possam desempenhar todas as funções que são necessárias quando no interior da colméia e também aquelas em condições de campo.

CONCLUSÕES

A utilização de adultos de *A. mellifera* com idade conhecida e confinados em laboratório, permitiu uma estimativa precisa da longevidade dos insetos.

As melhores dietas para adultos de *A. mellifera* mantidos em condições de laboratório, foram aquelas utilizando o mel ou o pólen do favo + mel, obtendo-se longevidade média de 545,4 horas, aproximadamente 23 dias.

A alimentação exclusivamente com pólen não é adequada para manutenção de abelhas em laboratório, permitindo uma longevidade de 107,71 horas, aproximadamente 4,5 dias.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BENITEZ, A. L. G. A. **Dietas protéicas sobre a produção de geléia real e parâmetros associados em colméias de *Apis mellifera*.** 2000. 101 p. Tese (Doutorado em produção animal) – Faculdade de Ciência Agrárias e Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP.

BETIOLI, V. J.; CHAUD-NETTO, J. Group effect on longevity of africanized honeybee (*Apis mellifera* L.) maintained without queen in laboratory conditions. **Naturalia**, Rio Claro, SP, v. 26, p. 265-275, 2001.

BLOCH, G.; MESHI, A. Influences of octopamine and juvenile hormone on locomotor behavior and period the honeybee, *Apis mellifera*. **Journal of Comparative Physiology A**, v. 193, n. 2, p.181–199, Feb. 2007.

BOCQUET, M. **Le nourrissage**: comprendre l'alimentation de la colonie. Echauffour: Opida, 2005. 158 p.

BRASIL. Ministério da agricultura e Reforma Agrária. **Normas climatológicas** (1961-1990). Brasília, 1992. 84 p.

BRIGHENTI, D. M.; CARVALHO, C. F.; CARVALHO, G. A.; BRIGHENTI, C. R. G.; CARVALHO, S. M. Bioatividade do *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Berliner, 1915) para adultos de *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 2, p. 279-289, mar./abr. 2007.

CARVALHO, S. M. **Toxicidade de produtos fitossanitários utilizados na cultura de citros a operárias de *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae)**. 2006. 67 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Entomologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

COHEN, A. C. **Insect diets: science and technology**. Boca Raton, Flórida: CRC, 2004. 324 p.

COLOSIMO, E. A.; GIOLO, S. R. **Análise de sobrevivência aplicada**. São Paulo: Edgar Blucher, 2006. 216 p.

CRAILSHEIM, K. The protein balance of the honey bee worker. **Apidologie**, v. 21, n. 5, p. 417-429, 1990.

CREMONEZ, T. M.; DE JONG, D.; BITONDI, M. G. Quantification of hemolymph proteins as a fast method for testing protein diets for honey bee (Hymenoptera: Apidae). **Journal of Economic Entomology**, Washington, DC, v. 91, n. 6, p.1284-1289, 1998.

DIETZ, A. Nutrition of the adult honey bee. In: GRAHAM, J. M. **The hive and the honey bee**. Hamilton, Illinois: Dadant & Sons, 1975. p. 125-156.

DRAPPER, R. N. ; SMITH, H. **Applied regression analysis**. 3. ed. New York: J. Wiley, 1988. 355p.

GUIMARÃES, C. R.; CIRILLO, M. A.; BRIGHENTI, D. M. Modelos de sobrevivência para avaliação do tempo de vida de operárias de *Apis mellifera* tratadas com diferentes dietas. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 49., 2004, Uberlândia. **Anais...** Uberlândia, 2004. p. 123.

HARBO, J. R.; HARRIS, J. W. Producing eggs from a single worker honey bee (Hymenoptera: Apidae). **Journal of Economic Entomology**, Washington, DC, v. 84, n. 3, p.818-824, 1991.

HAYDAK, M. H. Honey bee nutrition. **Annual Review of Entomology**, v. 15, p. 143 -156, Jan. 1970.

HERBERT JÚNIOR., E. W. Honey bee nutrition. In: GRAHAM, J. M. (Ed). **The hive and the honey bee**. Michigan: Dadant & Sons, 1992.1324 p.

HERBERT JÚNIOR, E. W; SHIMANUKI, H. Chemical composition and nutritive value of bee collected and bee stored pollen. **Apidologie**, v. 9, n. 1, p. 33 – 40, 1978.

HOOVER, S. E. R.; HIGO, H. A.; WINSTON, M. L. Worker honey bee ovary development : seasonal variation and the influence of larval and adult nutrition. **Journal of Comparative Physiology B**, v. 176, n. 1, p. 55–63, Jan. 2006.

KULINCEVIC, J. M.; ROTHENBUHLER, W. C. Laboratory and field measurements of hoarding behaviour in the honeybee (*Apis mellifera*). **Journal of Apicultural Research**, Cardiff, v. 12, n. 3, p.179-182, 1973.

KULINCEVIC, J. M.; ROTHENBUHLER, W. C. Selection for length of life in the honey bee (*Apis mellifera*). **Apidologie**, v. 13, n. 4, p. 347-352, 1982.

LAWLESS, J .F. **Statistical models and methods for lifetime data**. New York: J. Wiley, 1982. 215p.

MALONE, L. A.; TODD, J. H. ; BURGESS, E. P. J.; CHRISTELLER, J. T. Development of hypopharyngeal in adult honey bee fed with a Bt toxin, a biotin – biding protein and protease inhibitor. **Apidologie**, v. 35, n. 6, p.655-664, Nov./Dec. 2004.

MENDONÇA, K.; MARCHINI, L. C.; SOUZA; B. A.; ANACLETO, D. A.; MORETI, A. C. C. C. Caracterização físico-química de amostras de méis produzidos por *Apis mellifera* L. em fragmento de cerrado no município de Itirapina, São Paulo. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 38, n. 6, p.1748-1753, set. 2008.

MONCHARMONT, F. X. D.; DECOURTYE, A.; HANTIER, C. H.; PONS, O.; PHAM-DELEGUE, M. Statistical analysis of honeybee survival after chronic exposure to insecticides. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 22, n. 12, p. 3088-3094, Dec. 2003.

NELSON, W. **Applied life data analysis**. New York: J. Wiley, 1982. 634 p.

ORGANISATION EUROPEENNE ET MEDITERRANEENNE POUR LA PROTECTION DES PLANTES. Normes OEPP EPPO standards. Efficacy evolution of plant protection products. Evaluation biologique des produits phytosanitaires. **Bulletin OEPP EPPO Bulletin**, Paris, v. 36, n. 3, p. 543-545, Dec. 2006.

ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. Guidelines for the testing of chemicals. Honeybees, acute oral toxicity test. **OECD/OCDE**, Paris, n. 213, p. 1-8, Sept. 1998.

OTIS, G. W. Weights of worker honeybee in swarms. **Journal of Apicultural Research**, Cardiff, v. 21, n.2, p. 88-92, 1982.

PACHECO, M. R. **Cria ensacada brasileira em *Apis mellifera* Linnaeus no Estado do Rio de Janeiro** : perdas, zoneamento, palinologia e microbiologia. 2007. 60 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal Rural do rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

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

SAKAGAMI, S. F.; FUKUDA, H. Life tables for worker honeybee. **Researches on Population Ecology**, v. 10, n. 2, p. 127-139, 1968.

SANTORO, K. R.; VIEIRA, M. E. Q.; QUEIROZ, M. L.; QUEIROZ, M. C.; BARBOSA, S. B. P. Efeito do tanino de *Strynodendron spp.* sobre a longevidade de abelhas *Apis mellifera* L. (abelhas africanizadas). **Archivos de Zootecnia**, Córdoba, v. 53, n. 203, p. 281-291, 2004.

SGRILLO, R. B. A. A distribuição de Weibull como modelo de sobrevivência de insetos. **Ecossistema**, Espirito Santo do Pinhal, v. 7, p. 9 -13, set. 1982.

SOUZA, J. L. F.; SIMOKOMAKI, K. Resultados preliminares sobre a longevidade comparada de operárias de abelhas africanizadas (*Apis mellifera scutellata*), submetidas as duas condições experimentais diferentes: aumento de temperatura interna e confinamento. **Mensagem Doce**, São Paulo, v. 42, p. 18-22, jul.1997.

STANDIFER, L. N.; MCDONALD, R. H.; LEVIN, M. D. Influence of the quality of protein in pollens and of a pollen substitute on the development of the hypopharyngeal glands of honey bees. **Annals of the Entomological Society of America**, Washington, DC, v. 63, p. 909-910, 1970.

UNITED STATES ENVIROMENTAL PROCTETION AGENCY. Ecological effects test guidelines. OPPTS 850.3020 Honey bee acute contact toxicity. **EPA**, Washington, DC, n. 712, Apr. 1996.

WINSTON, M. L.; CHALMERS, W. T.; LEE, P. C. Effects of two pollen substitutes of brood mortality and length of adult life in the honeybee. **Journal of Apicultural Research**, Cardiff, v. 22, n.1, p.49-52, 1983.

WIESE, H. **Apicultura**: novos tempos. Guaíba: Agropecuária, 2000. 424 p.

WINSTON, M. L. **The biology of the honey bee**. London: Harvard University, 1987. 281 p.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A criação e manutenção de adultos de abelhas africanizadas *A. mellifera* em laboratório é uma necessidade atual, principalmente devido ao aumento da utilização desses insetos em pesquisas relacionadas a diversas áreas, tais como biologia, comportamento, nutrição, estudos toxicológicos etc.

Por se tratar de um inseto de vasta distribuição mundial, é um grupo que envolve inúmeros pesquisadores, utilizando-os em função de fatores ligados à facilidade de criação em condições naturais, por ser um organismo bioindicador e poder ser explorado comercialmente. Contudo, para as abelhas encontradas na região neotropical as pesquisas científicas empregando esses insetos são escassas.

Esse trabalho foi direcionado para se fazer uma análise sobre o uso de diversas dietas que podem ser empregadas na sobrevivência dos adultos de *A. mellifera* em confinamento. De forma geral, obteve-se que o uso de uma dieta protéica não contribui de maneira significativa para a alimentação e sobrevivência de adultos em laboratório, no entanto ela é essencial para maior longevidade dos insetos recém-emergidos, destacando-se a utilização do pólen obtido dos favos para tal finalidade. A dieta composta por carboidratos é por outro lado, essencial, tanto na fase adulta quanto para o inseto recém-emergido, destacando-se a solução aquosa de sacarose hidrolisada como dieta energética. Esse alimento pode ser obtido fazendo a utilização de suco dos limões Galego, Tahiti e Cravo, os quais foram adequados para se fazer o desdobraimento desse açúcar e permitiram maior sobrevivência dos adultos de *A. mellifera* em laboratório.

Verificou-se também a necessidade de se trabalhar com insetos de idade conhecida, fator que pode ser obtido, controlando a emergência dos adultos a partir de pupas presentes em favos mantidos em câmaras climatizadas. Com esse procedimento pode-se minimizar erros de interpretação quanto à sobrevivência de adultos confinados em laboratório ou mesmo quando estiver sendo submetido a algum teste.