

Complexo enzimático na alimentação artificial de abelhas africanizadas

Lima, M.V.¹; Soares, K.O.² e Evangelista-Rodrigues, A.³

¹Programa de Doutorado Integrado em Zootecnia. PDIZ/UFC. Fortaleza. Ceará. Brasil.

²Programa de Pós-graduação em Zootecnia. PPGZ/UFCG. Patos. Paraíba. Brasil.

³Universidade Federal da Paraíba. Departamento de Zootecnia. Campus II. CCA/UFPB. Areia. Paraíba. Brasil.

RESUMO

Este estudo objetivou identificar uma alimentação eficiente para as abelhas *Apis mellifera* L. utilizando um complexo enzimático para melhorar o desempenho dos enxames em períodos de escassez alimentar. Para isso, quadros de cria fechada foram retirados de duas colmeias, conduzidos até uma câmara climatizada e após a emergência, as abelhas foram mantidas em unidades experimentais para serem alimentadas. A dieta utilizada na pesquisa foi composta por 60% de mel, 30% de farinha de soja e 10% de farinha de milho, com diferentes níveis de inclusão (0,00%, 0,03%, 0,06%, 0,09%) do complexo enzimático em estudo. Os parâmetros avaliados foram: longevidade das abelhas, concentração de proteína total da hemolinfa e consumo de água e dieta. Não houve efeito toxicológico de acordo com análise de sobrevivência, verificou-se uma redução no consumo, conforme foi acrescentado o complexo enzimático na dieta e um aumento no teor de proteína na hemolinfa. O uso do complexo enzimático mostrou-se como uma ferramenta para manter os enxames em períodos de escassez de alimento, pois proporcionou melhor aproveitamento dos alimentos por menor consumo da dieta e o maior teor de proteína total na hemolinfa.

Enzymatic complex in artificial feeding of africanized bees

SUMMARY

This study aimed to identify efficient feed for *Apis mellifera* L. bees using an enzyme complex to improve the performance of the swarms in periods of food scarcity. In order to achieve this objective, closed brood frames were removed from two beehives, led to a climatic chamber and after the emergence of the bees, they were kept in experimental units to be fed. The diet used in the research was composed of 60% of honey, 30% of soy flour and 10% of corn flour, with different levels of inclusion (0.00%, 0.03%, 0.06%, 0.09%) of the enzyme complex. The parameters evaluated were: longevity of bees, concentration of total protein in the hemolymph, water and diet consumption. There was no toxicological effect according to the analysis of survival and a reduction in consumption was observed as the enzyme complex was added in the diet and an increase in the protein content of the hemolymph. The use of the enzyme complex turned out to be a tool to keep the swarms in periods of food scarcity, because it provided a better utilization of food by less consumption of the diet and the highest content of total protein in the hemolymph.

PALAVRAS-CHAVE ADICIONAIS

Hemolinfa.
Proteína Total.
Nutrição.
Enzimas.

ADDITIONAL KEYWORDS

Hemolymph.
Total Protein.
Nutrition.
Enzymes.

INFORMATION

Cronología del artículo.
Recibido/Received: 25.11.2016
Aceptado/Accepted: 17.04.2017
On-line: 15.07.2017
Correspondencia a los autores/Contact e-mail:
profoni2003@yahoo.com

INTRODUÇÃO

Na apicultura, em épocas de baixos índices pluviométricos, é necessário o fornecimento de uma dieta suplementar para manter os enxames nos apiários por conta da falta de recursos alimentares naturais. Muitos ingredientes foram utilizados para formular dietas artificiais para as abelhas, porém muitas deles sem êxito na manutenção da postura da rainha. O pólen apícola tem sido utilizado juntamente com outros ingredientes na

alimentação artificial, porém pode se apresentar economicamente inviável para muitos apicultores, bem como outros ingredientes que são incrementados nas dietas.

Em geral os alimentos utilizados para formular as dietas proteicas para as abelhas possuem uma camada dos polissacarídeos não amiláceos (PNAs). De acordo com Conte *et al.* (2003), devido a natureza das cadeias de ligações das unidades de açúcar, os PNAs são resistentes à hidrólise no trato digestório dos pequenos

animais. Conforme Tavernari *et al.* (2008), o farelo de soja e o milho apresentam 30,3% e 8,1 % de PNAs, respectivamente em suas constituições. Assim, o aproveitamento desses alimentos pelas abelhas é baixo, por conta que esse inseto não apresenta as enzimas para a quebra dessa camada.

A inclusão de aditivos enzimáticos na formulação de rações tem apresentado grande potencial para a indústria de produção animal, melhorando o aproveitamento dos nutrientes com o uso de enzimas exógenas, podendo representar uma economia significativa no custo final das rações (Gentilini *et al.*, 2008). Enzimas são biocatalisadores de um vasto repertório de reações químicas sendo a principal ferramenta empregada na síntese e quebra de moléculas essenciais ao crescimento e vida de todos os organismos (Holliday *et al.*, 2009). As enzimas pectinase, amilases, carboidrases, fitase, lipase e protease são empregadas na alimentação animal no intuito de complementar as endógenas e/ou para suprir a deficiência das enzimas sintetizadas em pequenas quantidades ou não sintetizadas (Campes-trini *et al.*, 2005).

O sistema digestório das abelhas não difere muito dos animais vertebrados. Cruz-Landim (2009) descreve todo o processo de digestão onde ocorre por ação de enzimas e as glândulas envolvidas nesse processo modificam de acordo com as necessidades alimentares.

Desta forma, várias dietas já foram formuladas com intuito de amenizar o efeito do ambiente em épocas em que há falta de recursos, mas ainda não há um estudo com a inclusão de enzimas nas dietas artificiais. Assim, objetivo desse trabalho foi avaliar o aproveitamento de um complexo enzimático na nutrição das abelhas.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Abelhas (LABE), localizado no Setor de Apicultura e Sericicultura do Centro de Ciências Agrárias pertencente à Universidade Federal da Paraíba, Campus II - Areia - PB.

Para o início do experimento quatro quadros de cria fechada foram retirados de duas colmeias diferentes (nidificadas no apiário do CCA/UFPB), as colmeias tinham rainhas de mesma idade e mesma densidade populacional. Os quadros foram conduzidos para uma câmara climatizada (BOD) e após a emergência, as abelhas foram postas em unidades experimentais, composta por béqueres com volume de 600 ml, cobertos com filó e com alimentadores adequados para o fornecimento da dieta e da água.

As colmeias foram avaliadas separadamente, sendo a colmeia 1 em julho (inverno) e a colmeia 2 em setembro (primavera).

A dieta utilizada na pesquisa foi formulada com três ingredientes nas seguintes proporções, 60% de mel, 30% de farinha de soja e 10% de farinha de milho, obtendo-se uma dieta de consistência firme e pastosa com composição química de 81,14% de matéria seca, 13,09% de proteína bruta e 6,57% de extrato etéreo. Essa dieta foi utilizada como padrão (tratamento

controle) e a partir dela para os demais tratamentos, acrescentaram-se níveis do complexo enzimático da Allzyme® SSF que é um aditivo composto por sete diferentes enzimas: fitase, protease, xilanase, β -glucanase, celulase, amilase e pectinase.

Assim, os tratamentos consistiram de: T1: Dieta padrão (tratamento controle); T2: Dieta padrão + 0,03% de enzima; T3: Dieta padrão + 0,06% de enzima; T4: Dieta padrão + 0,09% de enzima. Cada tratamento continham cinco repetições e toda a pesquisa foi submetida em duas colmeias.

Na análise da longevidade foram utilizadas 100 abelhas recém-emergidas para cada tratamento com 20 abelhas em cada repetição. As abelhas foram postas nas unidades experimentais e mantidas em uma câmara climatizada com temperatura e umidade relativa controlada (33°C e 80% UR), avaliou-se a sobrevivência e a resistência à alimentação artificial pela contagem de abelhas sobreviventes a cada 24 horas até não haver mais abelhas vivas.

Para a avaliação da concentração da proteína total na hemolinfa, cada tratamento foi montado com outras 200 abelhas, divididas em cinco repetições com 40 abelhas em cada e ao final de sete dias, foram coletadas a hemolinfa de 10 operárias de cada tratamento. Inicialmente realizou-se a coleta de uma amostra que será tomada como padrão, utilizando 10 abelhas operárias coletadas imediatamente após a emergência das duas colmeias, retirando-se a hemolinfa das mesmas com uma micropipeta, esta coleta serviu para efeito comparativo com as demais parcelas alimentadas. Para a coleta, as abelhas foram anestesiadas no gelo durante 10 minutos retirando-se a hemolinfa com o auxílio de uma micropipeta introduzida no coração dorsal, por meio da membrana intrasegmental, entre o terceiro e o quarto segmentos abdominais da abelha adulta, transferindo-a para tubos de eppendorf de 0,6 ml. Foi adicionado três gotas de uma solução composta de feniltiouréia a 0,1% (Sigma-Aldrich®, P-7629, Grau I, 98%). As amostras foram centrifugadas a 1400 rpm por 4 minutos à 4°C, o sobrenadante foi retirado e congelado a -20°C. A quantificação total de proteínas foi realizada pelo método de Bradford (1976) e a construção da curva padrão foi realizada utilizando albumina sérica bovina (BSA). A quantificação das amostras foi realizada por leitura em espectrofotômetro (595 nm) (Cremonez *et al.*, 1998).

Para a avaliação do consumo da dieta foi utilizado o método da diferença do peso total do alimento ofertado no primeiro dia e o peso total das sobras após sete dias de confinamento, assim igualmente para determinar o consumo de água. Esse procedimento foi realizado juntamente com a avaliação da concentração de proteína total na hemolinfa.

O experimento foi em um delineamento inteiramente casualizado utilizando quatro tratamentos com cinco repetições e os dados foram avaliados utilizando-se o procedimento GLM do SAS (2001). As médias entre tratamentos foram comparadas pelo teste t a 5% de significância para a avaliação da longevidade das abelhas, e a concentração de proteína total na hemolinfa.

fa, consumo de água e consumo da dieta utilizando-se o teste Tukey a 5% de probabilidade.

RESULTADO E DISCUSSÃO

Na avaliação da longevidade das abelhas em laboratório, foi verificado que o uso de enzimas exógenas na alimentação das abelhas não apresenta efeito tóxico, uma vez que não houve diferença ($p > 0,05$) entre o tratamento controle e os níveis de inclusão do complexo enzimático na colmeia 1 (tabela I) e colmeia 2 (tabela II). Muito embora se possa observar (figura 1) um aumento no número de dias na sobrevivência das abelhas da colmeia 1, com uma relação direta com o acréscimo da enzima na dieta, haja visto que no tratamento 1 (T1 - sem adição de enzima) todas as abelhas morreram no sétimo dia. O gráfico mostra um efeito benéfico no uso de enzima na alimentação artificial, porque na medida em que foi adicionada a enzima houve um aumento nos dias de sobrevivência das abelhas, chegando até nove dias para o tratamento 4 (T04 - 0,09% de enzima).

Para a colmeia 2 observa-se que a mortalidade iniciou a partir do quarto dia, tendo uma ótima taxa de sobrevivência do primeiro ao terceiro dia para todos os tratamentos (figura 2). Estes resultados diferem da colmeia 1 (figura 1) onde a taxa de mortalidade iniciou no primeiro dia para todos os tratamentos, exceto o T3 (0,06% de enzima). Observa-se também que os tratamentos apresentam resultados semelhantes ao final do experimento com relação à mortalidade das abelhas, no entanto, as abelhas do T1 sobreviveram até o sétimo dia enquanto as abelhas T3 e T4 permaneceram vivas

Tabela I. Média das abelhas sobreviventes alimentadas em laboratório com dieta artificial - colmeia 1 (Average of the surviving bees fed in the laboratory with artificial diet - beehive 1).

	Dias de tratamento									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
T1	100 ^a	56 ^a	38 ^a	16 ^a	12 ^a	2 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a
T2	100 ^a	86 ^a	75 ^a	66 ^a	54 ^a	22 ^a	5 ^a	3 ^a	0 ^a	0 ^a
T3	100 ^a	96 ^a	93 ^a	82 ^a	56 ^a	21 ^a	10 ^a	9 ^a	4 ^a	0 ^a
T4	100 ^a	84 ^a	65 ^a	47 ^a	34 ^a	10 ^a	2 ^a	2 ^a	2 ^a	0 ^a

Valores com letras diferentes na mesma coluna são diferentes pelo teste t de Student ($p < 0,05$).

Tabela II. Média das abelhas sobreviventes alimentadas em laboratório com dieta artificial - colmeia 2 (Average of the surviving bees fed in the laboratory with artificial diet - beehive 2).

	Dias de tratamento											
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
T1	100 ^a	99 ^a	99 ^a	98 ^a	86 ^a	54 ^a	14 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a
T2	100 ^a	100 ^a	91 ^a	91 ^a	87 ^a	68 ^a	25 ^a	21 ^a	17 ^a	6 ^a	2 ^a	0 ^a
T3	100 ^a	92 ^a	88 ^a	83 ^a	76 ^a	43 ^a	24 ^a	18 ^a	11 ^a	6 ^a	2 ^a	0 ^a
T4	100 ^a	98 ^a	97 ^a	92 ^a	84 ^a	47 ^a	25 ^a	9 ^a	5 ^a	2 ^a	0 ^a	0 ^a

T1: Dieta padrão (tratamento controle); T2: Dieta padrão + 0,03% de enzima; T3: Dieta padrão + 0,06% de enzima; T4: Dieta padrão + 0,09% de enzima.

Valores com letras diferentes na mesma coluna r são diferentes pelo teste t de Student ($p < 0,05$).

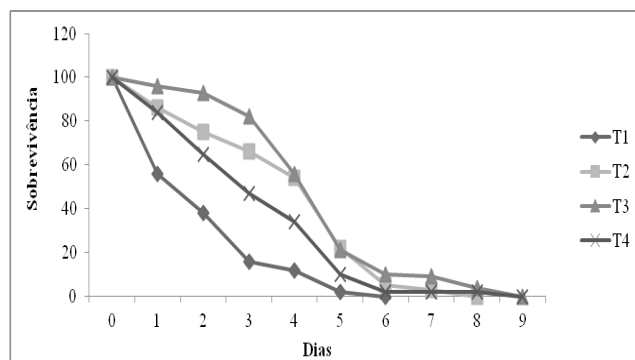


Figura 1. Curva de sobrevivência das abelhas da Colmeia 1 alimentadas em laboratório. T1: Dieta padrão; T2: Dieta padrão + 0,03%; T3: Dieta padrão + 0,06%; T4: Dieta padrão + 0,09% de enzima (Survival curve of bees of the beehive 1 fed in the laboratory. T1: Standard diet; T2: Standard diet + 0.03%; T3: Standard diet + 0.06%; T4: Standard diet + 0.09% of enzyme).

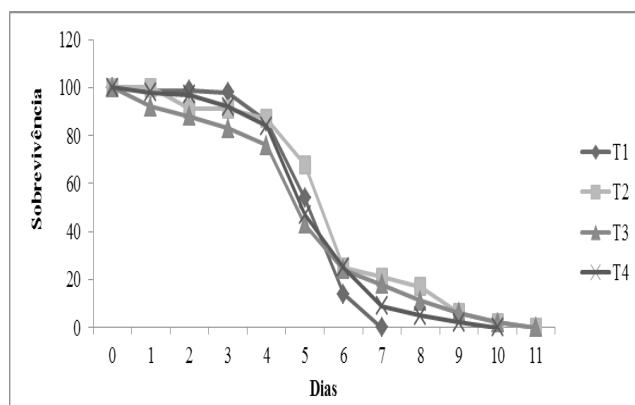


Figura 2. Curva de sobrevivência das abelhas da Colmeia 2 alimentadas em laboratório. T1: Dieta padrão; T2: Dieta padrão + 0,03%; T3: Dieta padrão + 0,06%; T4: Dieta padrão + 0,09% de enzima (Survival curve of bees of the beehive 2 fed in the laboratory. T1: Standard diet; T2: Standard diet + 0.03%; T3: Standard diet + 0.06%; T4: Standard diet + 0.09% of enzyme).

até o décimo primeiro dia, com um saldo de quatro dias em relação ao tratamento controle.

Esse ganho em dias de sobrevivência para esta análise em laboratório foi muito importante, pois pode indicar um melhor aproveitamento do alimento por intermédio do uso das enzimas comerciais acrescidas

Tabela III. Média \pm desvio padrão do consumo de água, consumo de dieta e teor de proteína total na hemolinfa das abelhas alimentadas em laboratório com dieta artificial - colmeia 1 (Mean values \pm standard deviation of water consumption, consumption of diet and total protein content in the hemolymph of bees fed in the laboratory with artificial diet - beehive 1).

	Água (g)	Dieta (g)	Proteína total ($\mu\text{g/mL}$)
Padrão	-	-	82,67 ^a \pm 2,08
T1	4,76 ^a \pm 0,32	3,67 ^a \pm 0,59	19,08 ^c \pm 1,13
T2	3,80 ^a \pm 0,22	2,71 ^{ab} \pm 1,45	21,83 ^c \pm 2,67
T3	4,53 ^a \pm 1,32	2,18 ^{ab} \pm 0,31	35,25 ^b \pm 1,52
T4	3,82 ^a \pm 1,54	1,50 ^b \pm 0,48	37,92 ^b \pm 4,20

Valor referência para proteína total da hemolinfa nas abelhas recém-emergidas em laboratório.

T1: Dieta padrão (tratamento controle); T2: Dieta padrão + 0,03% de enzima; T3: Dieta padrão + 0,06% de enzima; T4: Dieta padrão + 0,09% de enzima

Valores com letras diferentes na mesma coluna são diferentes pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

na dieta dos referidos tratamentos, indicando consequentemente resultados fisiológicos melhores.

Em estudo sobre o efeito tóxico de alimentos alternativos regionais para alimentação de abelhas africanas foi observado o tempo médio de mortalidade - TMM em dias; as abelhas alimentadas com feno de leucena apresentaram um índice de 8,09 dias para o TMM e com feno de mandioca apresentaram 6,86 dias para TMM, com uma longevidade próxima ao tratamento controle com uso de pólen (7,31 TMM), demonstrando que não há restrição do uso desses alimentos, podendo ser uma alternativa para alimentação artificial (Pereira *et al.*, 2007).

As operárias consomem grandes quantidades de pólen durante os primeiros cinco ou seis dias de vida adulta para obter proteína que vão garantir sua sobrevivência e o desenvolvimento das suas glândulas (Costa *et al.*, 2007). Na colmeia, nessa fase da vida, as abelhas desempenham a atividade de nutrir as larvas e a rainha, e para isso usam parte do alimento consumido para produzir geleia real. Sendo assim, há uma indicação de que a dieta fornecida com a adição do complexo enzimático foi suficientemente melhor aproveitada, pois as abelhas do T1 (tratamento controle) nas colmeias 1 e 2 sobreviveram só até o sétimo e sétimo dia de avaliação.

Em sua pesquisa Marchini (2006) relatou que as abelhas necessitam de dez aminoácidos essenciais,

sendo eles: arginina, histidina, lisina, triptofano, felinina, metionina, treonina, leucina, isoleucina e valina. Na composição da dieta em estudo contém 30% de farinha de soja com 13,09% de proteína bruta. O farelo de soja contém segundo análise de Penha *et al.* (2007) perfil de aminoácido composta por cistina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, treonina, triptofano, valina. A dieta da presente pesquisa apresenta potencial capacidade de suprir a necessidade das abelhas, podendo ser otimizado o aproveitamento quando adicionado o complexo enzimático.

Na avaliação dos parâmetros nutricionais na colmeia 1 (**tabela III**), não houve efeito significativo ($p > 0,05$) para o consumo de água; no consumo médio da dieta foi verificado efeito significativo ($p < 0,05$) havendo uma diferença entre T1 e T4; na concentração de proteína total na hemolinfa houve efeito significativo ($p < 0,001$) entre o padrão e todos os tratamentos, apontando como mais próximo do valor padrão o T4 (0,09% de enzima), possivelmente pelo efeito da adição da enzima na alimentação.

Na colmeia 2 (**tabela IV**), também não foi verificado efeito significativo ($p < 0,05$) para o consumo de água. No consumo médio da dieta foi observada uma diferença entre o T1, T2 e T4 ($p < 0,05$); houve efeito significativo entre os tratamentos, na concentração de proteína total na hemolinfa, entre o padrão, T1 e T4 ($p < 0,001$), sendo o T1 (tratamento controle) menor valor

Tabela IV. Média \pm desvio padrão do consumo de água, consumo de dieta e teor de proteína total da hemolinfa das abelhas alimentadas em laboratório com dieta artificial da colmeia 2 (Mean values \pm standard deviation of water consumption, consumption of diet and total protein content of the hemolymph of bees fed with artificial diet in laboratory of the beehive 2).

	Água (g)	Dieta (g)	Proteína total ($\mu\text{g/mL}$)
Padrão	-	-	44,42 ^a \pm 9,25
T1	6,22 ^a \pm 2,08	4,60 ^a \pm 0,97	17,92 ^c \pm 1,66
T2	4,34 ^a \pm 1,54	2,96 ^b \pm 0,54	25,17 ^{cb} \pm 4,30
T3	4,4 ^a \pm 0,98	2,90 ^{cb} \pm 0,60	26,58 ^{cb} \pm 2,47
T4	3,72 ^a \pm 1,23	1,72 ^c \pm 0,52	32,33 ^b \pm 6,67

Valor referência para proteína total da hemolinfa nas abelhas recém-emergidas em laboratório.

T1: Dieta padrão (tratamento controle); T2: Dieta padrão + 0,03% de enzima; T3: Dieta padrão + 0,06% de enzima; T4: Dieta padrão + 0,09% de enzima.

Valores com letras diferentes na mesma coluna são diferentes pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

e o T4(0,09% de enzima) maior teor de proteína e que mais se aproximou do valor padrão.

Pode-se verificar que o consumo é inversamente proporcional à adição da enzima, ou seja, à medida que se acrescenta o complexo enzimático na dieta ocorre diminuição no consumo e isso foi notado nas duas colmeias estudadas. Provavelmente o complexo enzimático tenha atuado sobre a dieta melhorando suas características, facilitando a absorção dos nutrientes, suprimindo as necessidades diárias da abelha e como consequência induzindo a uma menor ingestão de alimento por parte dos indivíduos, fazendo com que o consumo diminuísse.

Gentilini *et al.* (2008) descrevem que o complexo multienzimático da Allzyme® SSF é produzido a partir do fungo *Aspergillus niger* não geneticamente modificado, o qual é capaz de aumentar a disponibilidade da energia, da proteína, dos aminoácidos, sendo que cada enzima atua sobre substratos específicos, como exemplos, fitase atua sobre o ácido fítico, protease sobre proteínas e celulase sobre celulose e isto faz com que estes substratos sejam melhor aproveitados pelo animal. Este trabalho é inédito no uso deste tipo de complexo enzimático, confirmando a atuação da enzima exógena no metabolismo dos insetos, assim como descrito para outras espécies, como as aves, por exemplo.

As enzimas endógenas relacionadas a funções digestivas nas abelhas foram encontradas por Menezes *et al.* (2007), de acordo com os autores no alimento larval podem ser encontradas enzimas que estão relacionadas às funções digestivas, especialmente, conversão de carboidratos e digestão do pólen, em destaque para a fosfatase alcalina, esterase (C4), esterase lipase (C8), fosfatase ácida, naftol-AS-BI-fosfohidrolase, - galactosidase, e glicosidase todas estas foram encontradas nos testes enzimáticos do alimento larval. Nenhuma das enzimas endógenas encontra-se no complexo enzimático da presente pesquisa (fitase, protease, xilanase, β -glucanase, celulase, amilase e pectinase), no entanto, essas foram postas para quebra dos PNAs e posterior exposição do conteúdo interno dos grãos para assim seguir a digestão pelos insetos. Cruz-Landim e Gracioli (2004) reportam que as enzimas envolvidas na digestão podem ser produzidas pelas glândulas anexas do tubo digestório, produzidas pelas células principais ou ainda por microrganismos ali presentes.

A principal hipótese da digestão do pólen, substancial fonte de proteína das abelhas, ocorrer pela entrada das enzimas através dos poros dos grãos que são permeáveis tanto a inserção das enzimas como a exclusão do conteúdo digerido, no qual muitas vezes a camada envolta do pólen pode continuar intacta (Cruz-Landim, 2009). Com isso, as enzimas exógenas auxiliam no processo de digestão das abelhas, como mencionados o alimento artificial ofertado apresenta uma camada de polissacarídeo não amido que pode dificultar o acesso aos nutrientes, pois não apresenta estrutura porosa similar a fonte natural das abelhas.

Tanto para a colmeia 1 como para a 2, o teor de proteína total na hemolinfa do padrão (dia 0) foi mais elevado do que o encontrado por Turcatto (2011) que,

analisando teores de proteína total na hemolinfa de abelhas no inverno e no verão em um período de 30 dias, obteve titulação menor no inverno e maior no verão, sendo que ambos apresentaram no dia 0 valores menores em relação aos observados nessa pesquisa, mantendo a afirmação que o teor de proteína nas abelhas recém-emergidas depende da qualidade do alimento fornecido no período larval. No período de análise foi observada a entrada de pólen nas duas colmeias estudadas, então possivelmente a abundância de alimento resultou em um alimento larval mais rico e consequentemente em teores elevados de proteína na hemolinfa de abelhas recém-emergidas. Estes dados confirmam Costa *et al.* (2007) que afirmam que as abelhas têm as características produtivas e reprodutivas influenciadas pelo clima e disponibilidade de alimento na região.

Crailsheim (1990) estudando colmeias em todas as estações do ano observou que a quantidade de proteína total na hemolinfa das abelhas se altera com o passar da idade e com a estação do ano. Observou que o teor é maior em abelhas mais jovens e o valor tende a diminuir nas abelhas forrageiras. O mesmo autor reporta que os teores de proteína são ainda menores durante o inverno com tendência a aumentar durante a primavera em função da disponibilidade de recursos naturais. A presente pesquisa confirma esta informação, pois os teores de proteína na hemolinfa das abelhas recém-emergidas da colmeia 1 foram maiores por haver maior disponibilidade de pólen na época estudada, em nossa região há maior oferta de alimento no inverno, e o restante do ano se caracteriza por estação seca.

A principal função da hemolinfa é a distribuição dos nutrientes disponíveis advindos do processo de digestão e a recepção de produtos do metabolismo, ocorrendo uma diminuição na concentração total de proteínas com o decorrer da idade das abelhas (de recém-emergida aos dezoito dias de vida) (Rocha *et al.*, 2003). Avaliando a quantidade de proteína total na hemolinfa Morais e colaboradores (2013) utilizaram diferentes dietas (tratamento controle - abelhas alimentadas somente com pólen, controle negativo - abelhas alimentadas somente com xarope de sacarose) verificaram que quanto maior o teor de proteína nas dietas maior é a concentração de proteína na hemolinfa.

As abelhas em estudo foram alimentadas por sete dias, período em que, na colmeia, elas desenvolvem a função de nutrízes. Segundo Amdam *et al.* (2002) nessa fase a proteína é metabolizada como uma proteína de armazenamento. Esse armazenamento permanece no corpo gorduroso que é um órgão central para o metabolismo desses insetos, atuando também como local de armazenamento de carboidratos, proteínas e lipídeos (Arrese e Soulages, 2010). Na presente pesquisa, para a determinação do teor de proteína na hemolinfa, as amostras foram centrifugadas e por maior densidade o corpo gorduroso foi eliminado; como a determinação de proteína total foi realizada com o sobrenadante, compreende-se que os teores de proteína encontrados na hemolinfa foram advindos do processo de digestão. Entre os níveis de inclusão da enzima, o T4 (0,09% de enzima) foi o que apresentou teor mais próximo do padrão (resultado desejado) podendo indicar a atua-

ção da enzima sobre a digestibilidade do alimento e a absorção dos nutrientes.

O aumento nos teores de proteína na hemolinfa dado pela inclusão da enzima na dieta, certamente terá efeito benéfico no desempenho das colônias, podendo assim ser utilizado como uma ferramenta para manter os enxames em períodos de escassez alimentar.

De acordo com De Jong *et al.* (2009) a análise do teor de proteína total na hemolinfa em pequenos grupos de abelhas apresenta resultados com êxito em paralelo com colônias no campo, pois analisa o real estado fisiológico da abelha. Segundo Marchini (2006), na ausência de pólen, as abelhas aperfeiçoam sua alimentação em forma de reservas corporais, utilizando os metabólicos como fonte de nutrientes para prolongar sua existência.

Com base nos resultados pode-se inferir que a hemolinfa é um dos principais estoques de nutrientes oriundos do processo de digestão.

CONCLUSÃO

O complexo enzimático, quando adicionado na alimentação artificial, resultou em um menor consumo da dieta e um aumento na concentração de proteína total na hemolinfa das abelhas alimentadas em laboratório.

As enzimas exógenas melhoram as características dos alimentos e apresentam efeito benéfico para as abelhas.

BIBLIOGRAFIA

- Amdam, G.V.A. and Omholt, S.W. 2002. The regulatory anatomy of honeybee lifespan. *J Theor Biol*, 216: 209-228.
- Arrese, E.L. and Soulagés, J.L. 2010. Insect fat body: energy, metabolism, and regulation. *Annu Rev Entomol*, 55: 207-225.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*, 72: 248-254.
- Campestrini, E.; Appelt, V.T.M. e Silva, M.D. 2005. Utilização de enzimas na alimentação animal. *Rev Elet Nutri*, 6: 254-267.
- Conte, A.J.; Teixeira, A.S. and Fialho, E.T. 2003. Efeito da fitase e xilanase sobre o desempenho e as características ósseas de frangos de corte alimentados com dietas contendo farelo de arroz. *Rev Bras Zootecn*, 5: 1147-1156.
- Costa, F.M.; Miranda, S.B.; Toledo, V.A.A.; Ruvolo-Takasusuki, M.C.C.; Chiari, W.C. e Hashimoto, J.H. 2007. Desenvolvimento de colônias de abelhas *Apis mellifera* africanizadas na região de Maringá, Estado do Paraná. *Acta Sci Anim*, 1: 101-108.
- Crailsheim, K. 1990. The protein balance of the honey bee worker. *Apidologie*, 21: 417-429.
- Cremonese, T.M.; De Jong, D. and Bitondi, M.M.G. 1998. Quantification of haemolymph proteins as a fast method for testing protein diets for honey bees (Hymenoptera: Apidae). *J Econ Entomol*, 91: 1284-1289.
- Cruz-Landim, C. 2009. Abelhas: Morfologia e função de sistemas. 1 ed. UNESP. São Paulo. 408 pp.
- Cruz-Landim, C. and Gracioli, L.F. 2004. Tegumentary epitelial glands in the abdomen of virgin and physogastric queens of the stingless bee *Scaptotrigona postica* (Meliponini, Trigonina). *Neotropi Entomol*, 34: 41-45.
- De Jong, D.; Da Silva, E.J.; Kevan, P.G. and Atkinson, J.L. 2009. Pollen substitutes increase honey bee haemolymph protein levels as much as or more than does pollen. *J Apicul Res*, 1: 34-37.
- Gentilini, F.P.; Da Silva, R.A.G.; Nunes, P.M.; Gonçalves, F.M.; Kuhn, C.C.; Anciuati, M.A. e Rutz, F. 2008. Produtividade e resistência óssea de poedeiras suplementadas com allzyme® SSF nas dietas. *Arch Zootec*, 224: 645-653.
- Holliday, G. L.; Mitchell, J. B. and Thornton, J. M. 2009. Understanding the functional roles of amino acid residues in enzyme catalysis. *J Mol Bio*, 390: 560-577.
- Marchini, L.C.; Dos Reis, V.D.A. e Moreti, A.C.C.C. 2006. Composição físico-química de amostras de pólen coletado por abelhas Africanizadas *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) em Piracicaba, Estado de São Paulo. *Cienc Rural*, 3: 949-953.
- Menezes, C.; Bonetti, A. M.; Amaral, I. M. R. e Kerr, W. E. 2007. Alimentação larval de *Melipona* (Hymenoptera, Apidae): estudo individual das células de cria. *Biosci J*, 23: 70-75.
- Morais, M.M.; Turcatto, A.P., Franco, T.M., Gonçalves, L.S., Cappellari, F.A. and De Jong, D. 2013. Evaluation of inexpensive pollen substitute diets through quantification of haemolymph proteins. *J Apicul Res*, 52: 119-121.
- Penha, L.A.O.; Fonseca, I.C.B.; Mandarino, J.M. e Benass, V.T. 2007. A soja como alimento: valor nutricional, benefícios para a saúde e cultivo orgânico. *B Ceppa*, 25: 91-102.
- Pereira, F.M.; Freitas, B.M.; Neto, J.M.V.; Lopes, M.T.R.; Barbosa, A.L.; Camargo, R.C.R.; Ribeiro, V.Q. e Rocha, R.S. 2007. Efeito tóxico de alimentos alternativos para abelhas *Apis mellifera*. *Cienc Rural*, 37: 533-538.
- Rocha, C.R.; Ramos, P.R.R. e Funari, S.R.C. 2003. Eletroferograma de proteínas de hemolinfa de abelhas *Apis mellifera* L. submetidas à produção de geléia real. *Bol Ind Anim*, 60: 147-153.
- Tavernari, F.C.; Carvalho, T.A.; Assis, A.P. e Lima, H.J.A. 2008. Polissacarídeos não amiláceo solúvel na dieta de suínos e aves. *Rev Elect Nutri*, 5: 673-689.
- Turcatto, A.P. 2011. Desenvolvimento e análise do efeito de dietas protéicas como suplementação nutricional para abelhas *Apis mellifera*. Dissertação (Mestrado em Ciências). Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto. 74 pp.