

GUIDO LAÉRCIO BRAGANÇA CASTAGNINO

**EFEITO DO FORNECIMENTO DE SUBSTITUTO DE PÓLEN NA
REDUÇÃO DA MORTALIDADE DE *Apis mellifera* L.,
CAUSADA PELA CRIA ENSACADA BRASILEIRA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, para obtenção do título de “Magister Scientiae”.

VIÇOSA

MINAS GERAIS - BRASIL

2002

GUIDO LAÉRCIO BRAGANÇA CASTAGNINO

**EFEITO DO FORNECIMENTO DE SUBSTITUTO DE PÓLEN NA
REDUÇÃO DA MORTALIDADE DE *Apis mellifera* L.,
CAUSADA PELA CRIA ENSACADA BRASILEIRA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, para obtenção do título de “Magister Scientiae”.

APROVADA: 31 de julho de 2002.

Prof. Paulo De Marco Júnior
(Conselheiro)

Prof. Flávia Cristina Pinto Garcia

Prof. Eduardo Arruda Teixeira Lanna

Prof. José Eduardo Serrão

Prof. Dejair Message
(Orientador)

Dedico a Andréa, minha esposa, não só pela colaboração e correções do texto e por termos partilhado juntos de bons momentos de alegria, mas principalmente pelo apoio e incentivo dados durante os momentos de dificuldades e de dúvidas. Andréa, obrigado por tudo, obrigado por estar aqui, obrigado por estar ao meu lado.

"Não há saber mais ou
saber menos: Há
saberes diferentes."
(Paulo Freire)

AGRADECIMENTO

À Universidade Federal de Viçosa pela oportunidade de realização do curso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento do Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo.

Ao professor Dejair Message pela oportunidade oferecida, pelos ensinamentos transmitidos, incentivo e confiança sempre depositados no meu trabalho e pela amizade.

Aos professores conselheiros, Regina Helena Nogueira Couto e Paulo De Marco Júnior pelo acompanhamento do trabalho, pelas críticas e sugestões prestadas e pela amizade.

Ao senhor Armando Arnhold e família e ao senhor Mildo Rech e família, proprietários da empresa Apícola Capelinha que me acolheram em seus lares, e deram todas as condições para a realização do trabalho de campo, meu muito obrigado.

Aos professores da banca, Dejair, Eduardo, Flávia, Paulo de Marco Júnior e Serrão pelas críticas, sugestões e correções ao trabalho.

A todos os professores que transmitiram ensinamentos e disposição, especialmente ao Alfredo, Lúcio, Elpídio, Eldo e Renata.

Ao professor Silvio Lengler, pelos ensinamentos e por ter despertado em mim o interesse pela apicultura.

À minha família, em especial a meus pais, Antônio (*in memoriam*) e Ércia, pelo carinho, certeza no meu trabalho e apoio quando necessário.

Aos meus sogros, Dejalma e Ester, pelo carinho e confiança dedicados a mim.

A todos os colegas do Curso de Entomologia da Universidade Federal de Viçosa, em especial aos colegas do apiário, pela boa convivência e amizade.

Aos colegas Ulisses e Cristina pela boa receptividade, conselhos e pela amizade e às colegas Maria e Daniela pela atenção e sugestões nas análises estatísticas.

À secretária Maria Paula A. Costa pela eficiência, amizade e paciência.

Aos funcionários do apiário, Toninho Alves, Ferreira, Íris, Osmar, Lulu, Toninho “gaiola”, Cabrito, pela amizade e pelo bom convívio.

Aos novos amigos de Viçosa, Cristina Chasco e família e Márcia Toledo e família, pelos momentos (inesquecíveis) de descontração e pela amizade.

Aos tios, Constante e Estela, Zélia, Erci, pelo apoio e confiança dedicados a mim desde a graduação, meus sinceros agradecimentos.

E sobretudo a Deus!

BIOGRAFIA

Guido Laércio Bragança Castagnino, filho de Antônio Castagnino e Ércia Bragança Castagnino, nasceu em Cachoeira do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil.

Iniciou sua vida profissional, trabalhando nas áreas de suinocultura e avicultura. Em 1992, passou a atuar na área de apicultura. Em 1999, graduou-se em Zootecnia pela Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.

No segundo semestre de 2000, ingressou no Curso de Mestrado em Entomologia no Departamento de Biologia Animal da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, Minas Gerais, vindo a defender tese em julho de 2002.

CONTEÚDO

RESUMO	ix
ABSTRACT	xi
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1. Nutrição de abelhas	4
2.1.2. Considerações gerais	4
2.1.3. Alimentação das crias e das abelhas adultas	7
2.2. Alimentação na entressafra e substituto de pólen	9
2.3. Características do <i>Stryphnodendron</i>	12
2.4. Sintomatologia da Cria Ensacada Brasileira	13
3. OBJETIVOS	15
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	16
4.1. Características do local do experimento	16
4.2. Preparação das colônias e realização dos experimentos	18
4.3. Identificação do barbatimão	20
4.4. Avaliação visual da intensidade da floração do barbatimão.....	20
4.5. Composição química do pólen e do substituto de pólen	20
4.6. Avaliação das áreas de cria e de pólen nas colônias experimentais	21
4.7. Avaliação da quantidade relativa de pólen retido no coletor de pólen ..	22

4.8. Quantificação das crias viáveis durante o período experimental	24
4.9. Análise estatística	25
5. RESULTADOS	26
5.1. Sintomas das crias doentes	26
5.2. Identificação do barbatimão e de outras plantas em florescimento na área.....	27
5.3. Avaliação visual do florescimento do barbatimão	29
5.4. Avaliação da composição química do pólen e do substituto de pólen ..	30
5.5. Desenvolvimento da área de cria e de pólen	31
5.6. Avaliação do pólen obtido nos coletores.....	34
5.7. Sobrevivência de crias durante a florada do barbatimão	37
6. DISCUSSÃO	40
CONSIDERAÇÕES FINAIS	48
REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	49
APÊNDICE	58

RESUMO

CASTAGNINO, Guido Laércio Bragança, M.S., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2002. **Efeito do fornecimento de substituto de pólen na redução da mortalidade de *Apis mellifera* L., causada pela cria ensacada brasileira.** Orientador: Dejour Message. Conselheiros: Paulo de Marco Júnior e Regina Helena Nogueira.

O objetivo do presente trabalho foi verificar o efeito do substituto de pólen na redução da mortalidade da Cria Ensacada Brasileira durante o florescimento do barbatimão. Essa doença é uma das piores enfermidades de abelhas *Apis mellifera* L, que o apicultor enfrenta, principalmente do Sudeste do Brasil. Ela afeta o desenvolvimento das larvas, após terem sido alimentadas pelas abelhas nutrizas com o pólen do barbatimão (*Stryphnodendron* spp), ocasionando a morte entre os estágios de pré-pupa e pupa. O experimento foi realizado em Bocaiúva/MG, pelo período de oito semanas e foram utilizados dois tratamentos. O T1 recebeu semanalmente um substituto de pólen, o qual consistia de uma mistura ultrafina de farinha de soja, fubá e farinha de trigo na proporção de 1:1:1, correspondendo a 24% de proteína. O T2 não recebeu o substituto de pólen durante todo o experimento. No caso de intoxicação pelo pólen do barbatimão, elas morreriam antes de atingir a fase de pupa. Os resultados mostraram que para colônias que tiveram oportunidade de coletar o substituto de pólen apresentaram uma diferença

significativa no aumento da sobrevivência de cria em relação às não-tratadas (T2). Também foi avaliado o efeito do fornecimento de substituto de pólen no desenvolvimento de áreas de cria e de pólen, constatando-se que as colônias tratadas com farelo (T1) apresentaram maior área de cria em todas os mapeamentos quando comparadas com as que não foram tratadas (T2). As áreas de pólen do T1 apresentaram diferenças significativas em dois mapeamentos. As colônias que foram tratadas com farelo coletaram menos pólen de barbatimão durante o período de maior disponibilidade, que foi durante o pico da florada. Conclui-se que a oferta do substituto de pólen, antes e durante a florada do barbatimão, é eficaz na redução dos efeitos da Cria Ensacada Brasileira.

ABSTRACT

CASTAGNINO, Guido Laércio Bragança. M.S., Universidade Federal de Viçosa, July, 2002. **Effect of pollen substitute on the reduction of *Apis mellifera* L. mortality, caused by Brazilian Sac Brood.** Adviser: Dejair Message. Committee Members: Paulo de Marco Júnior and Regina Helena Nogueira Couto.

This study verified the effect of pollen substitute on the reduction of *Apis mellifera* L. mortality, caused by Brazilian Sac Brood during ‘barbatimão’ (*Stryphnodendron spp*) flowering. This is the worst disease of *Apis mellifera* L. in beekeeping, mainly in southeast Brazil. This disease affects the larval development after having been fed with “barbatimão” pollen; bees become intoxicated and die between the prepupae and pupae stages. Research was carried out in Bocaiúva/ state of Minas Gerais, Brazil, during eight weeks, using two treatments (T1 and T2). T1 colonies received pollen substitute weekly (1:1:1) - a soy flour, maize flour and wheat flour blend - corresponding to 24% of protein. T2 colonies did not receive pollen substitute. Results showed that colonies fed pollen substitute have a significant decrease in mortality when compared with non-treated colonies (T2). Pollen substitute was also analyzed on the brood and pollen areas sizes, and it was verified that colonies treated with pollen substitute had a higher brood area in all samples, while T1 pollen areas presented a significant increase in two samples. Colonies which were fed

pollen substitute collected less “barbatimão”. The results suggest that pollen substitute supplied, before and during “barbatimão” flowering, is important in reducing the effects of Brazilian Sac Brood disease on bee mortality.

1. INTRODUÇÃO

Apesar da rusticidade das abelhas africanizadas, elas são afetadas por algumas doenças que causam prejuízos à apicultura. Uma delas representando um grande obstáculo para os apicultores brasileiros nas regiões com a presença do barbatimão, a doença Cria Ensacada Brasileira (Message, 1997), capaz de dizimar apiários inteiros. Apesar de o agente causador não ser um vírus (Message *et al.* 1995), a doença apresenta sintomas semelhantes à Cria Ensacada, causada pelo SBV (*Sac Brood Virus*), comum em outros países (Bailey & Ball, 1991). No Brasil, o agente causador da Cria Ensacada Brasileira é o pólen da planta barbatimão, da espécie *Stryphnodendron polyphyllum* (Carvalho, 1998).

O *Stryphnodendron* encontra-se amplamente distribuído na maioria dos estados, da Amazônia até o Sudeste brasileiro. Dependendo da espécie, da região e das condições climáticas, pode florescer de setembro a março e algumas vezes ocorre em períodos de escassez de pólen de outras plantas, ficando praticamente como a única fonte de pólen disponibilizada para as abelhas.

Após as crias, entre o quarto e o sexto dia de idade, terem sido alimentadas pelas abelhas nutrizes com pequenas quantidades de pólen do barbatimão, as larvas ficam intoxicadas, não conseguindo realizar a muda

para a fase de pupa, interrompendo seu desenvolvimento e ocasionando a sua morte (Carvalho, 1998).

Não há condições dessa doença ser controlada por antibióticos ou outros quimioterápicos, em função do agente causador ser uma toxina do grupo dos taninos (Santos, 2000). A alternativa indicada aos apicultores para evitar a perda das colméias no período de florescimento do barbatimão tem se restringido a mudar o apiário para áreas onde a planta não é encontrada. Essa tarefa geralmente torna-se inviável devido a alguns fatores, entre eles a falta de estrutura e o alto custo nos transportes para migrar as colméias para outros locais.

Alguns apicultores também têm utilizado matrizes oriundas de colônias que sobreviveram à florada do barbatimão para repovoarem as colônias perdidas. Entretanto, esse método tem sido pouco eficaz, uma vez que algumas colônias sobreviventes de floradas dos anos anteriores são exterminadas na próxima florada (Message, informação pessoal).

Uma possibilidade para tentar reduzir os efeitos da doença Cria Ensacada Brasileira poderia ser por meio do fornecimento de substitutos de pólen, pois essa doença coincide com o período de pouco pólen de outras plantas. Assim, a disponibilidade de fontes protéicas alternativas poderia fazer com que as abelhas reduzissem a coleta de pólen do barbatimão.

Testes com fornecimento de substitutos de pólen, realizados por apicultores, em alimentadores coletivos, instalados próximo aos apiários, no município de Carangola/MG, antes e durante a floração do barbatimão, mostraram resultados satisfatórios com a diminuição da incidência da doença, segundo informações obtidas junto à Associação dos Apicultores do Vale do Carangola (APIVAC).

A utilização de substituto de pólen quando se quer preservar a colônia da coleta de pólen tóxico, por meio da oferta de mistura de farelos atrativos, já foi mencionada como uma alternativa viável por Dietz (1975) e Johansson & Johansson (1977).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Nutrição de abelhas

2.1.2. Considerações gerais

O pólen é a única fonte protéica usada para a manutenção e sobrevivência das abelhas adultas, contendo proteínas, minerais, lipídeos e vitaminas (Knox *et al.*, 1971, Herbert *et al.*, 1977; Lehner, 1983; Couto, 1996). Ele também é a matéria-prima utilizada pelas abelhas nutrizas que, por meio da glândula hipofaríngea, produzem geléia real para alimentar as crias de operárias e de rainhas (Standifer *et al.*, 1960). Os níveis de proteína contidos no pólen influenciam tanto essas glândulas quanto a longevidade da abelha adulta (Groot, 1953; Dietz, 1975) e estão vinculados à capacidade das abelhas nutrizas em produzir geléia real para as larvas (Maurizio, 1954; Standifer *et al.*, 1970).

Na preferência de diferentes tipos de pólen, geralmente o que atrai as abelhas campeiras é o odor do néctar e do pólen no período de florescimento, indicando que estes fatores podem ser cruciais na seleção do pólen pelas abelhas campeiras (Levin & Bohart, 1955), embora a cor seja também outro fator importante para a coleta (Schmidt, 1982).

As abelhas precisam visitar diariamente grandes quantidades de flores para satisfazerem suas necessidades nutricionais individuais, das crias e da colônia, o que as tornam os principais agentes polinizadores das plantas em quase todos os ecossistemas onde ocorrem as Angiospermas (Corbet *et al.*, 1991). Logo que as abelhas campeiras localizam uma fonte de pólen, iniciam a coleta armazenando-o nos favos da colônia como reserva de alimento protéico. Elas preferencialmente descarregam as bolotas de pólen em alvéolos próximos à área de cria (Dreller *et al.*, 1999), e as abelhas operárias adicionam mel e algumas enzimas ao pólen que inibe a sua germinação, aumentando a digestibilidade e seu valor nutritivo, formando o “pão de abelha” (Herbet *et al.*, 1992).

A capacidade nutricional das colônias para o desenvolvimento de cria ao longo do ano depende proporcionalmente da quantidade de pólen disponível na natureza (Doull, 1975). Haydak (1970) e Dietz (1975) verificaram que as abelhas regulam a quantidade de suas crias, de acordo com a quantidade de pólen coletado.

Como fatores determinantes na quantidade de pólen coletado por uma colméia, Free (1980) citou a variação da postura da rainha, a quantidade de alimento disponível, a quantidade de cria, o número de operárias nascidas e o número de abelhas campeiras disponíveis. Para Fewell & Page (1993) e Eckert *et al.* (1994), a cria serve como um fator positivo para aumentar a coleta de pólen pelas abelhas campeiras, estimulando o aumento no número de viagens e no tamanho da carga transportada.

Alguns pesquisadores têm estabelecido uma estreita relação entre o estado nutricional da colônia com a área de pólen e de cria. Neste sentido, Al-Tikrity *et al.* (1972) constataram uma correlação positiva na quantidade de

pólen coletado com a área de cria existente nas colméias, o mesmo ocorrendo com a quantidade de mel. Couto (1996) também encontrou uma correlação positiva entre a quantidade total de crias e a quantidade de pólen armazenado nas colméias.

A manutenção e o crescimento da colônia são limitados pela disponibilidade de proteína proveniente do pólen. A longevidade da abelha, a quantidade de crias e de produção de mel são reduzidas quando o consumo de proteína é inadequado (Herbert *et al.*, 1977). Segundo Eischen *et al.* (1983), quando um pequeno número de abelhas nutrizas cuidava de uma grande quantidade de cria, essa situação ocasionou nutrição larval inadequada, originando abelhas adultas com menor peso e longevidade. Entretanto, em colônias pequenas, quando as nutrizas consumiam mais pólen, foi obtido maior número de crias por indivíduo.

De Groot (1953) estabeleceu que dez aminoácidos devem estar presentes na dieta das abelhas para obtenção de um desenvolvimento máximo, sendo eles: arginina, histidina, lisina, triptofano, fenilalanina, metionina, trionina, leucina, isoleucina e valina. Bieberdorf *et al.* (1961) observaram que, em geral, as abelhas coletavam alimento mais freqüentemente nas flores de plantas com maior número de aminoácidos do que aquelas com menor número.

Segundo Dustmann & Ohe (1988), dietas com deficiências protéicas durante o estágio larval provocam má formação das glândulas hipofaríngeas quando se tornam abelhas nutrizas, acarretando uma deficiência na alimentação das crias. Crailsheim *et al.* (1992) observaram que abelhas mal alimentadas na fase de cria apresentaram redução no tamanho das glândulas hipofaríngeas.

2.1.3. Alimentação das crias e das abelhas adultas

Normalmente a área com cria está localizada nos favos centrais da colônia onde as operárias aquecem e alimentam as crias desoperculadas. Durante os três primeiros dias depois da eclosão do ovo, as larvas de abelhas consomem geléia real, rica em proteína produzida pelas abelhas nutrizas, que consomem o pólen para desenvolver a glândula hipofaríngea, secretora dos principais componentes da geléia real (Haydak, 1970). Segundo Peng & Jay (1977), toda a larva fêmea com menos de três dias de idade pode se desenvolver em operária, ou em rainha, dependendo da alimentação fornecida pelas abelhas nutrizas. As larvas de rainha recebem dois tipos de secreção: uma clara e outra leitosa, na proporção de 1:1 (Haydak, 1970).

Segundo Herbert (1992), as secreções das glândulas hipofaríngeas são claras, contendo principalmente proteína, enquanto as provenientes das glândulas mandibulares são brancas, contendo principalmente lipídios. Até três dias de idade, as crias são alimentadas com secreções claras e, após esse período, recebem mais a secreção leitosa. Já as larvas de operárias recebem os mesmos componentes, mas com proporções diferentes, 3:1 e 4:1 (Haydak, 1970), e, de quatro a seis dias de idade, são alimentadas com uma mistura de pólen e mel (Morse, 1975).

O consumo médio de cada larva é aproximadamente 100 mg de pólen para completar seu desenvolvimento (Haydak, 1935). Segundo Shuel & Dixon (1960), as larvas de operárias recebem alimento com conteúdo de 4% de açúcar na geléia real, enquanto para as rainhas é de 12%. Essa alta concentração de açúcares, especialmente de frutose, estimula as larvas de rainha a ingerirem mais alimento, provocando assim uma distensão da

parede do tubo digestivo, estimulando os corpora allata a produzirem mais hormônio juvenil, o qual está relacionado com as características da rainha, durante o desenvolvimento larval (Asencot & Lensky, 1988).

Depois de emergirem dos alvéolos do favo, algumas abelhas operárias começam a consumir pólen durante as primeiras duas horas de existência. Em 12 horas, 50% ou mais das abelhas operárias começam a comer pólen em pequenas quantidades (Dietz, 1969; Hagedorn & Moeller, 1967). O maior consumo ocorre quando as abelhas estão com idade de 42 a 52 horas (Hagedorn & Moeller, 1967), chegando ao máximo aos cinco dias de idade, devido ao grande requerimento de nutrientes necessários para produção da geléia real pelas glândulas hipofaríngeas. Com o final da fase de nutriz, em aproximadamente 8 a 10 dias, o consumo de pólen diminui (Lotmar, 1938).

As abelhas somente produzem geléia real se estiverem consumindo pólen ou alguma substância com propriedades semelhantes. Quando há necessidade de maior produção de geléia real para a alimentação das crias, as abelhas podem prolongar seu período como nutrizas, com a continuação do consumo de pólen (Haydak, 1970).

Essa habilidade de se ajustar a condições adversas também ocorre em períodos de escassez de alimento, quando são estocados nutrientes no tecido do corpo, durante o desenvolvimento imaturo, demonstrando a importância de uma dieta abundante e balanceada das abelhas nutrizas para o desenvolvimento adequado da colônia (Haydak, 1970).

2.2. Alimentação na entressafra e substituto de pólen

Em condições favoráveis, de intensa florada, as abelhas coletam e armazenam alimento, mas em períodos de escassez de néctar e de pólen, pode ocorrer a diminuição das suas atividades, ocasionando a redução da postura da rainha e um desequilíbrio da população na colméia. Em tais circunstâncias, é essencial a interferência do apicultor, sob o risco de perda de enxames ou enfraquecimento geral das colônias. Nesses casos, caberia suplementar as colônias com dietas protéicas, na forma de substitutos de pólen, para a manutenção da colméia e para que possam estar populosas quando recomeçarem as floradas, no início da formação de colônias para produção de mel, de rainhas e de formação de núcleos (Dietz, 1975).

Esses substitutos de pólen contribuem para que as colônias de abelhas tenham um desenvolvimento adequado, quando oferecidos como uma dieta balanceada e de forma atrativa e palatável (Dietz & Haydak, 1965; Dietz, 1975; Doull, 1975; Herbert *et al.*, 1977). Essas dietas artificiais devem ter um valor nutritivo semelhante ao do pólen, preenchendo todas as suas funções nutricionais (Herbert & Shimanuki, 1978). Entretanto, além da deficiência de proteína com qualidade ou de outros requerimentos, vários substitutos de pólen podem apresentar alto custo o que pode inviabilizar o seu uso (Herbert *et al.* 1977; Chalmers, 1980).

A utilização de substituto de pólen também pode ser uma alternativa de manejo quando se quer preservar a colméia da coleta de pólen indesejáveis por meio da oferta de mistura de farelos atrativos. Dessa forma, as colônias podem se satisfazer com esse substituto de pólen, reduzindo a coleta do pólen na natureza. Johansson & Johansson (1977) verificaram que o fornecimento de substitutos de pólen é eficaz para evitar a coleta de pólen

tóxico e favorecer o desenvolvimento das colméias quando as abelhas estão instaladas próximo a floradas com abundância de néctar e escassez de pólen.

Muitas dietas oferecidas às abelhas até suprem o valor nutritivo do pólen, mas quando as abelhas têm uma livre escolha entre o pólen e o substituto, elas geralmente consomem mais o primeiro do que o segundo (Herbert & Shimanuki, 1978). Esse comportamento ocorre porque os substitutos disponíveis carecem de substâncias químicas fagoestimulantes que estão presentes no pólen, tornando-se, em alguns casos, difícil de induzir as abelhas a coletarem ou consumirem quantidades suficientes que satisfaçam seu requerimento nutricional. Chiang *et al.* (1991) e Szymas *et al.* (1993) observaram que a adição de pólen nas dietas artificiais aumenta a palatabilidade das dietas para as abelhas, aumentando o consumo. Por outro lado, esse é um manejo que deve ser evitado pelos apicultores, pois pode ocasionar a transmissão de doenças oriundas de pólen contaminado (Townsend & Smith, 1969; Herbert *et al.*, 1980).

Em busca de um substituto de pólen com alta palatabilidade e que preencha todos os requerimentos nutricionais da abelha, pesquisas têm sido realizadas na tentativa de aumentar a palatabilidade da dieta artificial por meio da utilização de diferentes ingredientes como farelo de soja, lêvedo de cerveja, farinha de milho e farinha de trigo. Entre elas, Barrero *et al.* (2000) demonstraram que o farelo de soja tem alta atratividade para as abelhas em períodos de escassez de alimento, quando comparado com outros farelos.

Couto & Couto (1997) mencionaram que as abelhas preferem as dietas mais energéticas, como farelo de milho, de arroz e de trigo. Alimentando colônias com seis diferentes dietas, Abou-Zaid e Abd-Alfattah

(1988) constataram um efeito benéfico do farelo de soja na produção de cria e de mel. Doull (1974) aumentou a atratividade da dieta pela adição de várias misturas de açúcares.

Ao realizar um experimento alimentando enxames contendo farinha láctea, Lengler *et al.* (1996) concluíram que os alimentados com 10% de farinha láctea apresentaram maior área de cria e, portanto, foram mais populosos, possivelmente devido à grande quantidade de nutrientes no alimento, ocasionando maior produção de geléia real e, conseqüentemente, maior postura da rainha. Os resultados obtidos pelos referidos autores enfatizam a importância da alimentação para o aumento de produção de cria. Szymas & Przybyl (1995) também observaram que o fornecimento do substituto durante o período da primavera favoreceu o aumento das áreas de cria e de mel.

Couto *et al.* (1989) estudaram o efeito do fornecimento de dieta constituída de farelos de soja, de trigo e de milho sobre a produção de cria em colméias confinadas. Os resultados mostraram que apesar da dieta fornecida não ter estimulado a postura da rainha e o desenvolvimento das crias, as colméias que a receberam se recuperaram mais rapidamente após o confinamento.

Quanto aos valores protéicos de uma dieta artificial, Herbert *et al.* (1977), em experimento com abelhas confinadas, testando substituto de pólen com diferentes taxas de proteína, constataram que 23% é considerado um ótimo nível para se ter um desenvolvimento adequado das colônias. Endossando esse resultado, Szymas & Przybyl (1995) verificaram que as abelhas operárias tiveram desenvolvimento normal das glândulas hipofaríngeas, do corpo gorduroso e dos ovários ao receberem um substituto

de pólen com 20% de proteína bruta. Segundo Barker (1971), a coleta de pólen pode ser limitada quando há pólen ou substituto de pólen na colônia.

Couto (1987), ao fornecer diferentes dietas, em alimentadores internos, à base de farelo de soja e farinha de milho, observou que a presença da ração no interior das colméias exerceu um efeito inibidor sobre a atividade de coleta de pólen no campo. Ao comparar as atividades de coleta das campeiras, o autor constatou que a quantidade de pólen nas colônias que não receberam alimento foi 2,1 vezes maior do que naquelas que receberam ração.

2.3. Características do *Stryphnodendron* (Barbatimão)

O *Stryphnodendron* é uma planta cuja área de ocupação está limitada à América do Sul, tendo como centro de dispersão a Amazônia, onde se encontra a maioria das espécies conhecidas. No Brasil, sua ocorrência se estende à maioria dos estados, exceto os da região Sul (Martins, 1980).

Das 25 espécies do gênero, 12 ocorrem na Amazônia Brasileira e extra-Brasileira, sendo todas elas árvores, em sua maioria de grande porte, podendo atingir até 35 metros de altura; cinco são espécies subarbustivas, chamadas “plantas-anãs”, características dos cerrados de Goiás e Minas Gerais; quatro são espécies arbustivas, de 3 a 6 metros de altura, de ocorrência nos campos e cerrados do Brasil Central, além dos cerrados de Minas Gerais e de São Paulo; duas espécies são de ocorrência nas caatingas do Nordeste Brasileiro, de 5 a 6 metros de altura; uma espécie ocorre nas matas secas de Pernambuco, atingindo 10 metros de altura; uma espécie arbustiva, de 3 a 6 metros de altura, ocorrendo na Serra da Mantiqueira, estado do Rio de Janeiro (Martins, 1980).

Além do aspecto farmacêutico e industrial, como no caso da *S. microstachyum* que é utilizada no tratamento de hanseníase, algumas espécies apresentam toxicidade em animais, como a *S. obovatum* e a *S. coriaceum* em bovinos (Martins, 1980), e duas ocasionam alta mortalidade em colônias de abelhas, a *S. pollyphyllum* e a *S. adstringens* (Carvalho, 1998).

2.4. Sintomatologia da Cria Ensacada Brasileira

A partir de 1984, o Laboratório de Patologia Apícola da Universidade Federal de Viçosa (UFV) vem recebendo grandes quantidades de amostras de crias de abelhas com sintomas semelhantes aos da Cria Ensacada, doença causada pelo SBV (Sac Brood Virus). Embora as crias apresentassem sintomas semelhantes à Cria Ensacada, constatou-se que não se tratava da mesma doença, sendo então denominada como Cria Ensacada Brasileira (Message, 1997) e Carvalho (1998) diagnosticou o agente causador da doença como o pólen do barbatimão, da espécie *Stryphnodendron polyphyllum*.

O pólen tóxico do barbatimão afeta o desenvolvimento das larvas que, após terem sido alimentadas pelas abelhas nutrizes, ficam intoxicadas, impedindo que passem para a fase de pupa, interrompendo seu desenvolvimento e ocasionando a sua morte. As crias doentes, quando retiradas das células pela região cefálica, apresentam o formato de um saco, devido ao acúmulo de líquido ecdisial, semelhante à Cria Ensacada (Message, 1997).

Da mesma forma que a doença virótica, à medida que a Cria Ensacada Brasileira evolui, as pré-pupas passam de uma cor branco-pérola

para amarelo-palha, podendo, em seguida, tornarem-se marrom-claro e, finalmente, marrom-escuro. Após a morte, se não forem removidos pelas abelhas operárias, secam e permanecem nas paredes das células como uma escama, sendo facilmente destacados e removidos (Bailey & Ball, 1991).

Segundo Carvalho (1998), em concentrações de 0.04 e 0.07% de pólen de *Stryphnodendron*, na dieta, há probabilidade de 50% e 90% das crias morrem, respectivamente. Em concentrações mais elevadas, de 0.08, 0.10, 0.20, 0.50 e 1.00%, nenhuma cria consegue completar o desenvolvimento até a fase de pupa, morrendo antes desse estágio.

Posteriormente, em ensaios biológicos, realizados no Laboratório de Patologia Apícola da UFV, para identificar a substância tóxica do pólen de *S. polyphyllum*, Santos (2000) constatou que conforme aumentava a concentração de ácido tânico na dieta oferecida às larvas, conseqüentemente aumentava a mortalidade. A autora concluiu que o constituinte químico responsável pelos sintomas da Cria Ensacada Brasileira está no pólen, podendo pertencer ao grupo dos taninos.

3. OBJETIVOS

O objetivo do presente trabalho foi verificar o efeito do fornecimento de substituto de pólen em colméias de *Apis mellifera* L.:

1. no aumento da taxa de sobrevivência das crias durante a floração do barbatimão;
2. no desenvolvimento das áreas de pólen e de cria;
3. na quantidade de pólen de barbatimão coletado.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Características do local do experimento

O experimento foi realizado em apiários da empresa Apícola Capelinha (Fig.1), localizados no município de Bocaiúva, no Norte de Minas Gerais, pelo período de sete semanas, de 09 de setembro a 29 de outubro de 2001. O clima é do tipo quente e seco com baixa umidade relativa do ar, sendo predominantemente quente, e a temperatura média anual oscilando entre 20 e 28°C. As precipitações pluviométricas anuais situam-se por volta de 900,5 mm (750 a 1250 mm), e mais de 50% das chuvas concentram-se aproximadamente entre o final e o início do ano. Apesar da vegetação da região ser típica de cerrado, o experimento foi realizado em uma área de eucalipto com porções de áreas degradadas (Fig.2), em processo de sucessão, que mantém espécies de plantas nativas da região, entre elas o barbatimão *Stryphnodendron adstringens*.



Figura 1 – Apiários localizados em áreas de eucalipto



Figura 2 – Área degradada, próxima aos apiários, com barbatimão

4.2. Preparação das colônias e realização dos experimentos

Foram utilizadas 40 colônias de abelhas *Apis mellifera* africanizadas que estavam previamente situadas em apiários dentro da área de estudo. Cada uma dessas colônias foi padronizada em termos de população e quantidade de alimento com as demais, antes de iniciar a coleta de dados.

Uma semana antes de iniciar a montagem das colônias em cada um dos seus respectivos apiários experimentais, um grupo de 20 delas foram alimentadas 'ad libidum' com 105 kg de substituto de pólen, com taxa de 23% de proteína bruta, composto de uma mistura contendo uma parte de farelo de soja, uma de farelo de milho e uma de farinha de trigo. A esta mistura foi adicionado 5% de açúcar para aumentar a atratividade dessa dieta para as abelhas. Cada um dos componentes foi triturado e peneirado para se obter um pó ultrafino com granulometria inferior a 0,060 mm de diâmetro.

As 20 colônias previamente alimentadas constituíram o primeiro tratamento (T1). Elas foram divididas em quatro apiários (A1, A2, A3, A4), instalados em áreas visualmente com maior incidência do barbatimão, para que pudesse efetivamente avaliar melhor o efeito do substituto de pólen. Em cada um deles havia 30 colônias, mas somente cinco delas pertenciam ao apiário experimental e as demais não faziam parte do experimento, mas também tiveram acesso ao substituto de pólen.

As colônias continuaram recebendo o substituto de pólen uma vez por semana, fornecido por meio de alimentadores coletivos, situados ao lado de cada apiário (Fig. 3). Cada um dos apiários do tratamento T1 recebeu semanalmente 15 kg do substituto de pólen, o qual foi adquirido da Associação de Apicultores do Vale do Carangola (APIVAC).

Outras 20 colônias estavam em quatro apiários com cinco colônias cada, constituindo o segundo tratamento (T2). As colônias do T2 não receberam a dieta artificial durante todo o período experimental, que coincidiu praticamente com o início e final da floração do barbatimão.

Para evitar que as colônias do tratamento T2 coletassem o substituto de pólen fornecido nos apiários do tratamento T1, a menor distância entre os apiários foi de 4.100 metros. Embora as abelhas *Apis mellifera* sejam capazes de voar a longas distâncias, esse percurso ultrapassa o raio de ação que as abelhas campeiras normalmente utilizam em busca de alimento, pois preferivelmente elas restringem a área de coleta às flores situadas num raio de aproximadamente 1 a 2 km ao redor do ninho (Free, 1993).



Figura 3 – Abelhas coletando substituto de pólen no alimentador coletivo, próximo ao apiário

4.3. Identificação do barbatimão

Na região do apiário experimental foram coletadas amostras de quatro plantas que floresceram ao longo do experimento, entre elas o barbatimão. Elas foram herborizadas e incluídas no acervo do herbário da Universidade Federal de Viçosa (VIC) onde foram identificadas por especialistas. A espécie de barbatimão, identificada como *Stryphnodendron adstringens*, encontra-se registrada sob o nº 25.429, sendo que parte do material floral dessa planta foi destinada à montagem do acervo palinológico.

4.4. Avaliação visual da intensidade da floração do barbatimão

Com o objetivo de relacionar a intensidade de floração do barbatimão com a mortalidade das crias, semanalmente, durante a coleta de dados, dois observadores percorreram todas as áreas onde estavam localizados os apiários e avaliaram visualmente a intensidade de florescimento do barbatimão. Cada observador concedeu um valor em porcentagem, a partir dos quais se atribuiu um valor médio da intensidade de florescimento das plantas na área.

4.5. Composição química do pólen e do substituto de pólen

Com o objetivo de verificar o índice de proteína do pólen durante a florada do barbatimão, foram utilizados coletores de pólen com tela de 4,5 mm de diâmetro e semanalmente foram coletadas amostras de pólen de uma colônia de cada apiário. Após a coleta do pólen, foram retiradas as impurezas, e ele foi seco em estufa e armazenado em freezer para posterior avaliação da proteína.

Para comparar a composição do substituto de pólen com o pólen, foi coletada uma amostra do substituto utilizado nos alimentadores coletivos. Também foram coletadas semanalmente várias subamostras dos resíduos do substituto remanescente nos alimentadores coletivos.

Para a quantificação desse nutriente, foi utilizado o Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia, da Universidade Federal de Viçosa. Na determinação da proteína bruta, utilizou-se o método Kjeldahl para quantificar o nitrogênio total. Para convertê-lo em proteína total, multiplicou-se pelo fator de correção 6,25. Para a determinação da matéria seca, as amostras foram submetidas a secagem por oito horas em estufa a 105°C.

4.6. Avaliação das áreas de cria e de pólen nas colônias experimentais

Foram feitos quatro mapeamentos de áreas de cria e de pólen das colônias de ambos tratamentos ao longo do experimento. O primeiro mapeamento foi feito no início do experimento, no dia 11/09, o segundo mapeamento foi no dia 24/09, o terceiro mapeamento no dia 17/10 e o quarto, no final do experimento, no dia 29/10.

Os mapeamentos consistiram em colocar cada quadro com cria ou pólen de cada colônia, sob um saco plástico transparente e, com uma caneta hidrocor, contornar as bordas das áreas de cria e de pólen nos dois lados dos favos das 40 colônias dos tratamentos T1 e T2 (Fig. 4). Após o mapeamento dos favos, cada plástico era identificado com a data do mapeamento, o número do apiário e o da colônia.

Para medir as áreas de pólen e de cria de cada um dos plásticos, usou-se um programa desenvolvido pelo professor Elpídio Inácio Fernandes

Filho, do Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa, denominado Quantporo, criado para mensurações de áreas em imagens digitais. Com o auxílio de um scanner, foram transferidas as áreas mapeadas para arquivos digitais individualizados, nos quais era feita a medida das áreas em centímetro quadrado. Para se certificar da margem de precisão nas medições, foi feita uma aferição no Quantporo, utilizando a imagem de várias figuras de diferentes formas, mas de áreas conhecidas. Comparando-se estas obtidas por meio do programa com as áreas padrões, alcançou-se uma precisão da ordem de 99,56% .



Figura 4 – Mapeamento de área de cria e de pólen

4.7. Avaliação da quantidade relativa de pólen retido no coletor de pólen

Para avaliar quanto de pólen era retido nos coletores, visando verificar se havia diferenças na coleta de pólen quando era fornecido o substituto de pólen nas proximidades do apiário, colocou-se em uma das colônias de cada

apiário um coletor de pólen, no qual era coletado semanalmente todo o pólen e/ou as bolotas do substituto de pólen, levando em conta que nos coletores de pólen no tratamento T1, além do substituto de pólen, poderiam ser retidas também bolotas de pólen. Dessas amostras, foram retiradas subamostras, contendo 0,5 g da mistura.

Cada uma das subamostras foi homogeneizada, dispersando-se os pólenes das bolotas com um bastão. Após estarem os grãos de pólen e/ou substituto de pólen bem separados, ou seja, sem estarem na forma de grumos, foram adicionados 10 ml de água filtrada e fez-se três réplicas de lâmina não-permanente, contendo uma gota da suspensão, obtida após a homogeneização dos grãos de pólen. Em cada lâmina eram contados ao acaso, em média, 500 grãos de pólen, quantificando quantos grãos de pólen de barbatimão estavam nas amostras.

Para a determinação da frequência de grãos de pólen do barbatimão contidos nas amostras, foi quantificado o número desses grãos em cinco campos visuais, escolhidos aleatoriamente, obtendo-se uma média em cada uma das lâminas analisadas, utilizando-se lente objetiva 40x e lente ocular 10x.

O pólen do barbatimão das flores coletadas serviu como principal referência para identificação do pólen das amostras, obtido nos coletores. Esse material foi fixado em ácido acético glacial concentrado para acetolização (Erdtman, 1960). Estabeleceu-se, dessa forma, a frequência de grãos de pólen do barbatimão em comparação com os outros pólenes presentes nas amostras.

4.8. Quantificação das crias viáveis durante o período experimental

Para avaliar a mortalidade da cria, tomou-se como parâmetro a quantidade de crias que semanalmente conseguiam completar a metamorfose, passando de larva de quinto instar para pupa, tendo-se em vista que seria difícil avaliar diretamente a quantidade de crias mortas pelo barbatimão, uma vez que as operárias normalmente removem as crias mortas. Para fazer essa avaliação, semanalmente foi retirado um favo com cria desoperculada de cada colônia e sobre ele foi colocado um pedaço de papel celofane 30 x 20cm, mapeando com uma caneta hidrocor 100 células contendo crias (Fig. 5), de preferência com cinco dias de vida. Em cada um dos mapeamentos eram identificados o favo, a colônia e a data.

Após sete dias, com a ajuda dos mapeamentos realizados anteriormente, efetuava-se a contagem do número de crias que haviam atingido o estágio de pupa e que estavam normais, ou seja, sem sintomas de doença. Contava-se também aquelas que estavam ainda no estágio de pré-pupa e que apresentavam os sintomas da Cria Ensacada Brasileira. Também registrava-se quantas crias haviam sido removidas total ou parcialmente.



Figura 5 – Pontuação de crias para a avaliação da mortalidade de cria

4.9. Análise estatística

Devido às variâncias não serem homogêneas em cada período de coleta dos dados em todos os casos, foi utilizada a análise de variância hierárquica por ordenação.

O uso da análise hierárquica é resultado da possibilidade de diferenças entre apiários confundirem o efeito do tratamento (adição de substituto de pólen) como resultado do manejo, da distribuição das fontes de alimento e das características das colméias. Por meio desse tipo de análise, a variação, devido a diferenças entre apiários, é retirada da variância devido ao erro experimental, tornando o teste mais poderoso, e pode ser testada separadamente. Apesar de separados da análise, os testes referentes a esse fator não foram apresentados porque não se referem à hipótese central deste trabalho.

5. RESULTADOS

5.1. Sintomas das crias doentes

Ao longo do experimento, observou-se a mortalidade de crias apresentando sintomas típicos da Cria Ensacada Brasileira, ou seja, células com opérculos perfurados ou totalmente abertas, contendo crias mortas invariavelmente no período de muda de pré-pupa para pupa, com acúmulo de líquido ecdisial entre o tegumento, proporcionando o aparecimento de uma forma de saco (Fig. 6), quando a cria morta era removida do favo por meio de uma pinça presa à região cefálica.



Figura 6 - Larva de operária apresentando sintomas típicos da doença Cria Ensacada Brasileira (forma de saco com acúmulo de líquido ecdisial)

5.2. Identificação do barbatimão e de outras plantas em florescimento na área

O barbatimão encontrado na área de estudo foi o *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Conville, da família Leguminosae, tendo como nome vulgar barbatimão. Segundo Ferri (1969), essa espécie se caracteriza como arbusto ou árvore com o tronco revestido por espessa camada de súber que se destaca facilmente, ramos curtos, grossos, rugosos, tormentosos, ferruginosos, mostrando nas extremidades cicatrizes deixadas pelas folhas que caem, com estípulas pequenas, grossas e caducas; folhas alternas, grandes, bipinadas, com cerca de 30cm de comprimento, folíolos quase todos alternos; flores muito pequenas, espigas densas, cerca de 10 cm de comprimento; frutos legumes de 10 cm de comprimento, grossos, quase cilíndricos; sementes oblongas, levemente achatadas (Fig.7).

Também foram identificadas amostras de outras plantas, no local do experimento, que floresceram no mesmo período do barbatimão, sendo elas: Cagaita (*Eugenia dysenterica* Berg Myrtaceae); Angiquinho do cerrado (*Mimosa pteridifolia* Brenth Leguminosae); Pequi (*Caryocar brasiliense* Camb *Cariocaraceas*).



Figura 7 – Barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*) em área degradada, próximo aos apiários

5.3. Avaliação visual do florescimento do barbatimão

Na Figura 8, é apresentada uma avaliação visual da intensidade de florescimento do barbatimão encontrado próximo aos apiários. O período de floração foi similar em ambos tratamentos, o que variou foi a população de barbatimão em floração, que apresentava visualmente maior concentração no T1, principalmente no apiário A4. Os valores apresentados em porcentagem mostram que, no início dos procedimentos experimentais no campo, as plantas de barbatimão já se apresentavam, em média, com 20% da sua capacidade de florescimento. Embora esses resultados sejam estimativos, pode-se avaliar quão disponível poderia estar a oferta de pólen dessa planta nos diferentes períodos de ocorrência da Cria Ensacada Brasileira nos apiários experimentais. O máximo de florescimento observado ocorreu no início de outubro, terminando a florada no final desse mesmo mês.

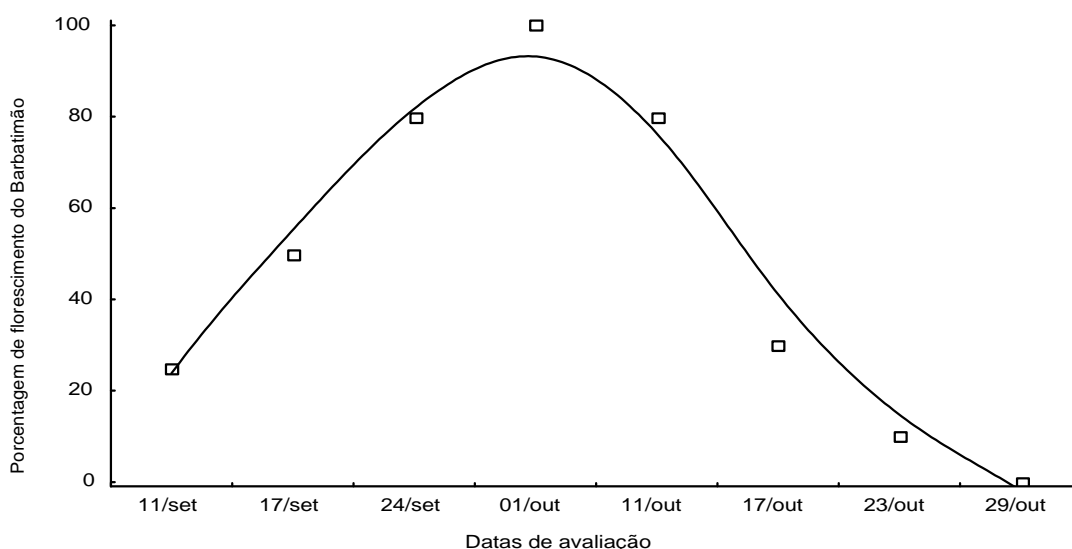


Figura 8 - Avaliação visual média de florescimento (em porcentagem) das plantas de barbatimão ao longo de sete semanas. A linha representa o ajuste por quadrados mínimos.

5.4. Avaliação da composição química do pólen e do substituto de pólen

O substituto de pólen fornecido na forma de uma mistura ultrafina de farelo de soja, farelo de milho e farinha de trigo, em partes iguais, mostrou na avaliação protéica valores próximos aos do pólen, conforme pode ser observado na Tabela 1.

As amostras de resíduos do substituto de pólen que restavam nos alimentadores coletivos também foram analisadas para constatar se as campeiras estavam fazendo uma discriminação de uma determinada parte do substituto de pólen no alimentador, o que poderia ocorrer devido a uma maior preferência por um dos componentes do composto. Os resultados desses resíduos mostraram valores próximos àqueles obtidos do substituto de pólen.

Tabela 1 - Análise quantitativa da proteína do pólen, retido nos coletores, do substituto de pólen e do resíduo do substituto de pólen, obtidos nos alimentadores coletivos, durante o período experimental

NUTRIENTES	PROTEINA (%)
PÓLEN	20,60
SUBSTITUTO DE PÓLEN	24,85
RESÍDUO	24,60

5.5. Desenvolvimento da área de cria e de pólen

Na figura 9, pode-se observar, para os dois tratamentos, a variação da área média de crias medidas em quatro épocas diferentes durante o experimento.

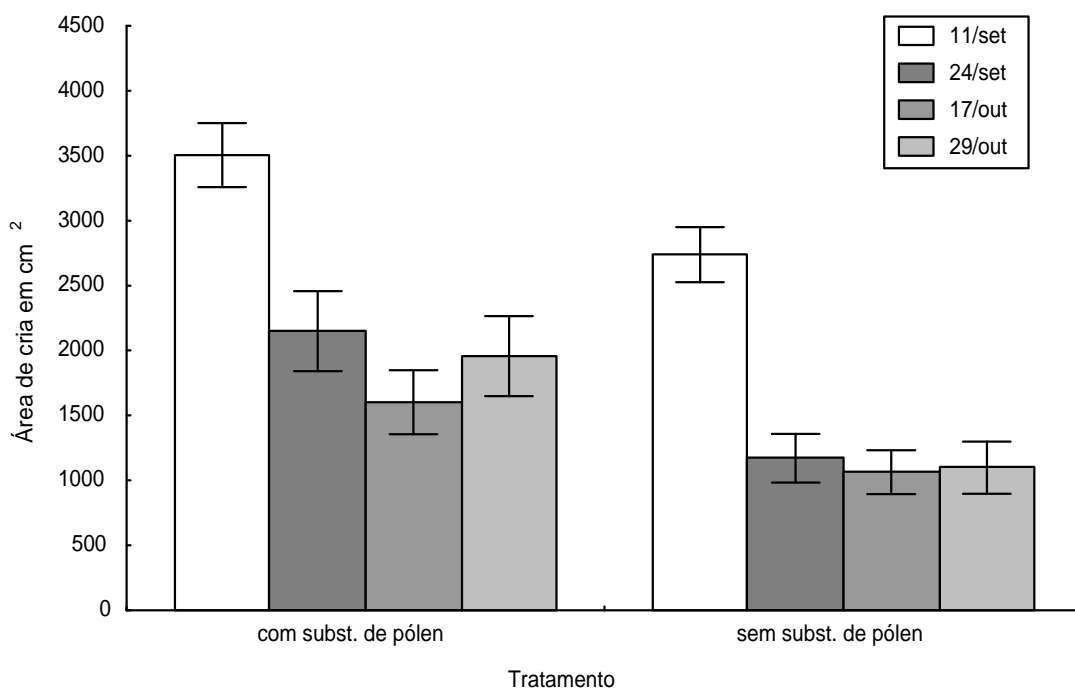


Figura 9 – Comparação da área média de cria das colméias instaladas em apiários que tinham disponível, em alimentadores coletivos, o substituto de pólen daquelas sem o substituto de pólen. As barras representam o erro padrão.

Comparando a quantidade média de crias entre os tratamentos, pode-se constatar que ocorreram diferenças significativas (Tabela 2), quando comparados os valores obtidos nas mesmas datas do mapeamento, ou seja, em todos os quatro mapeamentos a quantidade média de crias nas colônias que tiveram a oportunidade de coletar o substituto de pólen foi maior do que naquelas que coletaram somente pólen das flores. No entanto, houve uma diminuição significativa na área de cria entre o primeiro e o segundo mapeamentos tanto no tratamento com substituto de pólen ($t=4,168$; $gl=13$;

$p < 0,001$), na ordem de $1,394,14\text{cm}^2$ (38,67%), quanto o sem substituto de pólen ($t=5,684$; $gl=17$; $p < 0,001$), na ordem de $1,437,50\text{cm}^2$ (57%). Em ambos tratamentos, comparando o primeiro mapeamento com os demais, também houve uma grande redução de área de cria. Nos três últimos mapeamentos, ocorreram algumas variações na área medida de cria, mas no T1 essa variação ficou próxima de 1900cm^2 e no T2 próximo de 1000cm^2 .

Tabela 2 - Diferença da área de cria entre os tratamentos com substituto de pólen (T1) e sem substituto de pólen (T2) nas diferentes datas de mapeamentos

Data Mapeamento	Diferença (%)	F	GL erro	P
11/09	27,9	6,220	1,30	0,018
24/09	83,6	7,076	1,27	0,013
17/10	50,8	4,100	1,27	0,053
29/10	78,3	4,180	1,22	0,053

Com relação à área de pólen, que no tratamento T1 poderia ser pólen e/ou substituto de pólen, armazenado nas mesmas células dos favos, observa-se na Figura 10 que houve uma diferença marginalmente significativa da área de pólen entre o primeiro e o segundo mapeamentos ($t=2,145$; $gl=13$; $p=0,051$), ocorrendo uma redução drástica na área de pólen e/ou substituto de pólen na ordem de 550cm^2 (cerca de 58%). No tratamento sem substituto de pólen (T2), embora não houvesse diferença significativa entre o primeiro e o segundo mapeamentos ($t=0,375$; $gl=17$; $p=0,709$), observou-se um aumento na ordem de 140cm^2 .

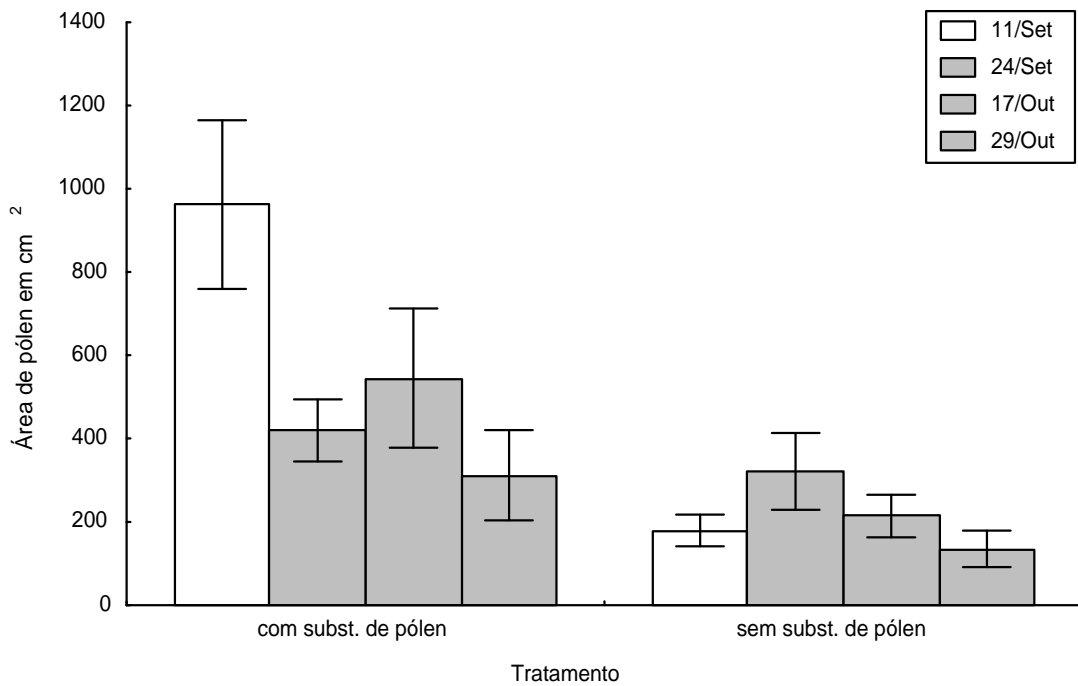


Figura 10 - Comparação da área média (cm²) de pólen das colônias que tinham disponível, próximo ao apiário, o substituto de pólen, em alimentadores coletivos, daquelas sem o substituto de pólen.

Ao comparar a média das áreas de pólen das colônias do tratamento T1 e do T2 em cada data de mapeamento, pode-se verificar (tabela 3) que no primeiro e terceiro mapeamentos ocorreram diferenças significativas. Embora no segundo e no quarto não tenham ocorrido diferenças significativas, as áreas foram 23,4% e 56,6% superior ao T2, respectivamente.

Tabela 3 - Diferença da área de pólen entre os tratamentos com substituto de pólen (T1) e sem substituto de pólen (T2) nas diferentes datas de mapeamentos

Data Mapeamento	Diferença (%)	F	GL erro	P
11/09	81,3	18.200	1,30	<0,001*
24/09	23,4	0.472	1,27	0,498
17/10	60,8	4.703	1,21	0,039*
29/10	56,6	1.441	1,22	0,243

*. *houve diferença estatística*

5.6. Avaliação do pólen obtido nos coletores

A análise do pólen nos coletores de pólen dos apiários experimentais, nos diferentes tratamentos, mostrou a presença de vários tipos polínicos, entre eles o pólen do barbatimão (Fig. 11), constatando-se que a oferta de substituto de pólen não evitou que as abelhas coletassem o pólen na natureza, inclusive o pólen tóxico dessa planta.



Figura 11 – Diferentes tipos polínicos, entre eles o do barbatimão (no detalhe)

Esse fato explica a existência de mortalidade nos apiários tratados com substituto de pólen (T1), principalmente no apiário A4, onde a população de plantas do barbatimão era visualmente maior que nos demais apiários, proporcionando maior coleta de pólen do barbatimão e justificando, conseqüentemente, a maior mortalidade das crias. Das cinco colônias deste apiário do T1, a perda de enxames por abandono foi quase total, restando no final do experimento apenas uma colônia.

Na Figura 12, pode-se observar a maior porcentagem do pólen de barbatimão, encontrada nas amostras coletadas nos apiários do T2, no dia 01/10, que foi de 30%, coincidindo com o pico de floração do barbatimão (Fig. 8).

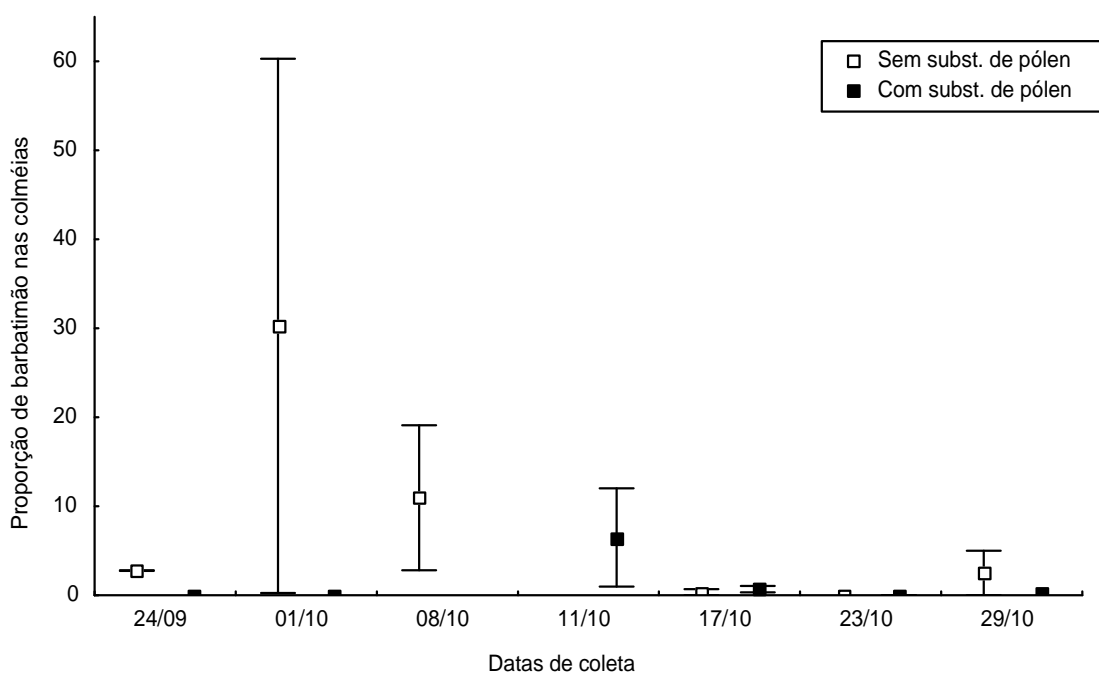


Figura 12 - Porcentagem de grãos de pólen de barbatimão encontrados nas amostras, em diferentes datas, nas colméias que tinham disponível, próximo ao apiário, o substituto de pólen (T1) daquelas sem o substituto de pólen (T2).

Enquanto que, no mesmo período, as colônias alimentadas com substituto de pólen apresentaram, nas amostras, valores insignificantes da

presença do pólen do barbatimão em um total de 1.500 grãos de pólen analisados em três lâminas. Nos apiários do T1, constatou-se a presença de partículas de substituto de pólen misturado ao pólen (Fig. 13), evidenciando que houve a coleta do substituto pelas abelhas campeiras das colônias do T1, embora não tenha sido possível quantificar adequadamente essa contribuição.

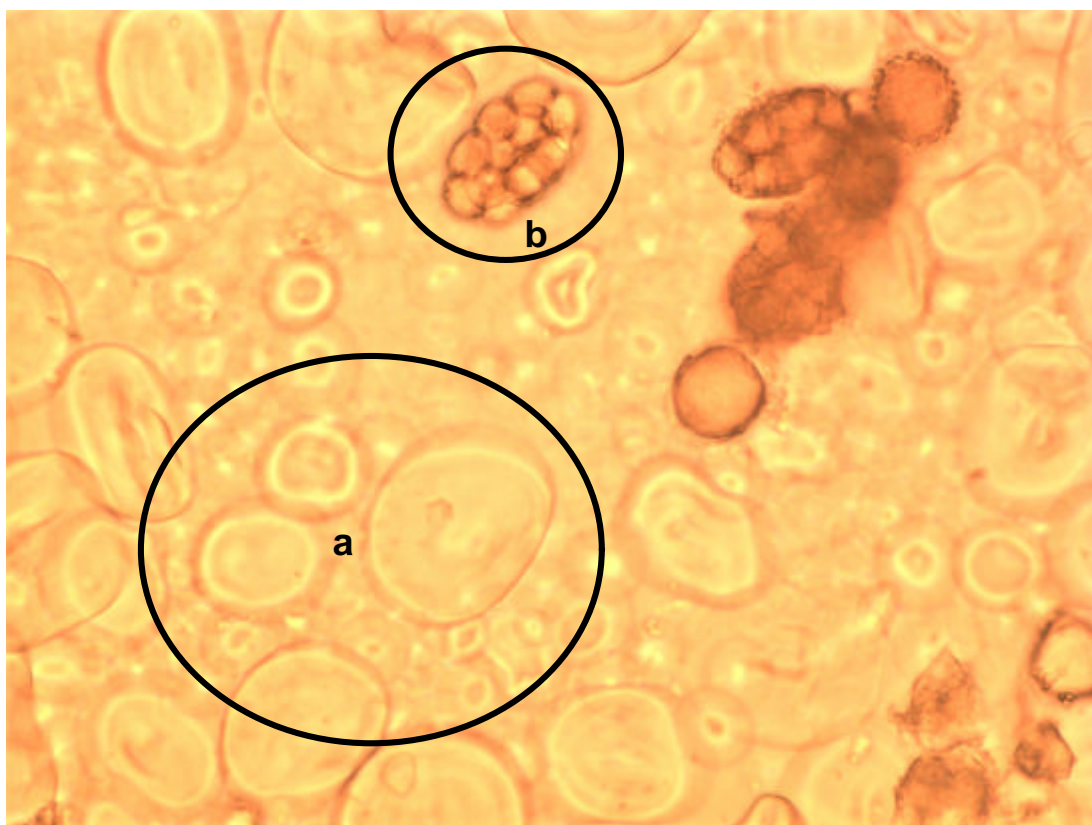


Figura 13 – Partículas de substituto de pólen (a); pólen de barbatimão (b)

Pela análise dos pólenes nos coletores, observou-se que nas colméias que não foram alimentadas durante o experimento com substituto de pólen (T2), estas apresentaram diferença significativa durante o pico de floração do barbatimão (01/10) (Tabela 4). Nesse período, foi encontrada a maior frequência de pólen de barbatimão que foi de 18,4. Em contrapartida, no mesmo período, as colônias suplementadas (T1) apresentaram uma

freqüência bem inferior, de 0,1. Nos demais dias de coleta, não houve diferença significativa.

Tabela 4 – Médias de freqüência do número de grãos de pólen encontrados nos cinco campos visuais nas amostras, em diferentes datas, nas colméias que tinham disponível, próximo ao apiário, o substituto de pólen (T1) daquelas sem o substituto de pólen (T2). (DP é o desvio padrão).

Freqüência do pólen de barbatimão nas amostras*							
Data	T1		T2		T	GL	P
	Médias	D. P.	Médias	D. P.			
24/09	0,000	± 0,000	0,600	± 0,843	-1,561	13	0,142
01/10	0,100	± 0,316	18,400	± 23,632	-2,449	18	0,025**
17/10	0,467	± 0,915	0,200	± 0,422	0,858	23	0,400
23/10	0,000	± 0,000	0,050	± 0,224	-1,000	38	0,324

* *Algumas das coletas tiveram variâncias muito heterogêneas, o que não permitiu o teste de todas elas.*

** *Estatisticamente significativo*

5.7. Sobrevivência de crias durante a floração do barbatimão

Nos apiários do T1, a taxa de sobrevivência das crias durante a floração de barbatimão não apresentou um comportamento totalmente homogêneo. Nos apiários A1, A2 e A3, as médias de sobrevivência de crias foram as que mais se equivaleram talvez por terem uma densidade de barbatimão mais parecida entre si, A1=92,5% A2= 94,0% A3= 91,1%. Diferente dos demais, o apiário A4 apresentou menor média de taxa de sobrevivência de cria entre os tratamentos (65,3%). Essa alta mortalidade repercutiu nos resultados, baixando a média de sobrevivência das crias do T1 em comparação com o T2.

Das sete avaliações de sobrevivência realizadas durante o experimento, em três delas, as colônias alimentadas com substituto de pólen

(T1) apresentaram diferença significativa (Fig. 14) na sobrevivência de cria. Na primeira avaliação, no dia 11/09, obteve-se a maior taxa de sobrevivência de cria durante o experimento, em ambos tratamentos, apesar da sobrevivência ser significativamente maior no T1. Na segunda avaliação, no dia 17/09, mesmo com T1 sendo significativamente maior, foi observado que ambos tratamentos tiveram uma grande queda na sobrevivência das crias. Na sexta avaliação, realizada no dia 17/10, o T1 também apresentou maior sobrevivência de cria em relação ao T2.

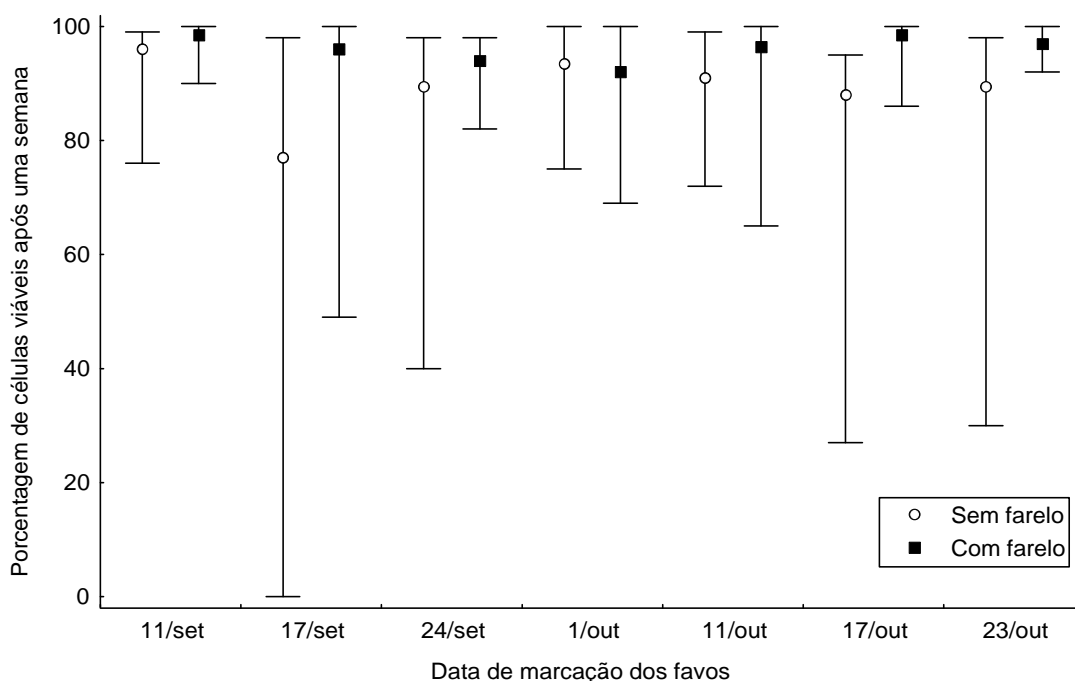


Figura 14 - Mediana da sobrevivência de crias (em porcentagem) durante o florescimento do barbatimão nas colônias que tinham à disposição alimentadores com substituto de pólen (T1), próximo aos apiários, daquelas sem o substituto de pólen (T2). As barras representam limites para detecção de dados discrepantes.

Tabela 5 - Viabilidade de cria entre os tratamentos com substituto de pólen (T1) e sem substituto de pólen (T2)

Análise de variância hierárquica por Rank				MÉDIAS	
Data	F	GL _{erro}	P	T1	T2
11/09	12,38	27	0,015*	96,0	90,2
17/09	7,51	25	0,011*	82,8	67,2
24/09	1,69	21	0,208	86,7	83,7
01/10	0,03	22	0,855	89,6	81,1
11/10	1,94	26	0,175	85,8	85,1
17/10	4,66	21	0,043*	84,8	79,0
23/10	1,09	21	0,308	90,9	74,8

**houve diferença entre os tratamentos*

Durante o experimento, observou-se, em ambos tratamentos, embora não tenham sido quantificadas, alterações comportamentais das colônias, tais como falta de coleta de pólen e/ou substituto de pólen, ausência de postura e abandono de colméia. Dos seis enxames que abandonaram as colméias, em ambos tratamentos, quatro pertenciam ao apiário A4. Essas alterações devem-se possivelmente aos efeitos da Cria Ensacada Brasileira, dificultando a coleta de alguns dados, principalmente devido à alta mortalidade de cria e abandono de colônias, ocasionando uma grande variabilidade de dados.

Após o experimento, observou-se que as colônias que não receberam o substituto de pólen (T2) apresentavam-se fracas e com pouca população, sendo necessária a união de colônias ou mesmo o seu descarte do plantel de produção, enquanto que a dos T1 foram transferidas para uma nova área, com floração, onde seguiram o manejo normal de produção.

6. DISCUSSÃO

O pólen de uma planta pode ser diferente quimicamente de um pólen similar coletado em outra área, e os níveis de proteína do pólen podem variar de 8 a 40% (Herbert, 1992). No presente trabalho, a média de valor protéico do pólen foi de 20,6%. Sampaio (1991) também determinou a composição química do pólen coletado pela *Apis mellifera* no estado do Paraná, obtendo níveis protéicos que oscilavam de 13,84 a 27,84%.

Essa diversidade de valores protéicos do pólen deve-se às abelhas campeiras que o coletam de diferentes espécies de plantas, pH, fertilidade e tipo de solo, ocasionando variedade no valor nutritivo, conforme a sua origem. A análise do substituto de pólen mostra que a taxa de proteína de 24,60% assemelha-se ao valor do pólen coletado na região que foi de 20,6%. O valor protéico da dieta artificial oferecida às colônias do T1 também está próximo do considerado ideal por Herbert *et. al.* (1977), ao constatarem que 23% de proteína estariam em níveis considerados ótimos para dietas fornecidas à *Apis mellifera*.

Em relação ao conteúdo protéico do resíduo acumulado nos alimentadores, não houve diferença comparado com o do substituto de pólen, indicando que esse resíduo é produto da formação de grumos maiores

do substituto de pólen, devido à manipulação das abelhas durante a coleta. Esses grumos não foram coletados devido ao tamanho e não pelo conteúdo dos componentes do substituto de pólen.

A maior área de cria dos quatro mapeamentos, do tratamento que recebeu o substituto de pólen, em relação ao que não recebeu, deve-se possivelmente à oferta de alimentação extra, feita previamente com 105kg de substituto de pólen em alimentadores coletivos, e a continuidade do seu fornecimento ao longo do experimento. A presença do substituto de pólen depositado nos favos poderia ter desenvolvido nas colônias mecanismos que simularam um período de floração, estimulando a rainha a aumentar a postura. Outro fator que colaborou para maior área de cria foi a menor mortalidade no tratamento com substituto de pólen em relação ao sem substituto de pólen.

Embora as colônias do T1 tenham iniciado o experimento com área de cria significativamente maior que do T2, observou-se que houve uma redução acentuada na área de cria do primeiro mapeamento em relação ao demais dentro do mesmo tratamento, possivelmente devido à crescente progressão do florescimento do barbatimão, intensificando seu efeito tóxico à medida que aumentava a sua floração. O crescimento na área de cria só retornou no último mapeamento (29/10), quando não havia floração de barbatimão.

A maior área de pólen no primeiro mapeamento (dia 11/09) do T1, comparando com o T2, pode ser atribuída também à oferta da dieta artificial, propiciando maior coleta às abelhas campeiras, possivelmente devido ao grande número de células vazias nas colônias que se encontravam em um período de entressafra, levando as abelhas campeiras a maior

forrageamento. Dreller *et al.* (1999) endossam essa explicação ao citarem a influência da presença de espaços vazios nos alvéolos e da pouca quantidade de pólen armazenado, como fatores importantes que induzem a coleta de pólen.

No terceiro mapeamento, a diferença significativa na área de pólen sugere que nesse período (17/10) houve uma redução na área de cria, ocasionando menor consumo do pólen e, conseqüentemente, aumento na área de pólen. No segundo e quarto mapeamentos da área de pólen, apesar da diferença não ter sido estatisticamente significativa, o T1 foi 23,4% e 56,6% superior ao T2, respectivamente, sugerindo que o substituto de pólen foi atrativo e coletado durante o período em que ficou disponível nos alimentadores.

Observou-se durante as medições que na área de pólen do T2, houve um crescimento do primeiro para o segundo mapeamentos, logo reduzindo até o final do experimento. Esse aumento da área de pólen, no dia 24/09, poderia ser atribuído à diminuição da postura, provocada pela doença Cria Ensacada Brasileira, ocasionando a redução da área de cria. Com a diminuição do número de crias para serem alimentadas, o pólen armazenado foi menos consumido ao mesmo tempo que a coleta se mantinha, permitindo o aumento na área de pólen.

Para Doull (1975) e Chalmers (1980), o consumo de substituto de pólen se mantém ou mesmo aumenta em uma colônia à medida que se intensifica a produção de cria devido ao maior requerimento de proteína, independente da oferta de pólen. Embora as colônias do T1 mantivessem a coleta constante do substituto de pólen ao longo do experimento, as áreas de pólen e/ou substituto de pólen seguintes foram reduzindo, o que poderia ser

explicado devido a uma possível deficiência de aminoácidos no substituto de pólen, ou à presença de tanino no pólen do barbatimão, que ao inibir as enzimas proteolíticas no ventrículo das abelhas pode ter reduzido a digestibilidade do alimento (pólen + substituto de pólen), levando as abelhas a consumirem mais o substituto de pólen para preencher o seu requerimento nutricional. Entretanto, essa redução nas áreas de cria e de pólen, no tratamento T1, não poderia ser atribuída exclusivamente a esses fatores, mas também a uma situação atípica, provocada pelo efeito da doença Cria Ensacada Brasileira que, como consequência da mortalidade de cria, ocasionou a menor postura e o déficit de abelhas nutrizas e campeiras, reduzindo a coleta de pólen e, conseqüentemente, de sua área. Essas alterações na rotina da colônia desestabilizaram a relação positiva, constatada por muitos autores, entre áreas de crias e de pólen (Todd & Reed, 1970; Al-Tikrity *et al.* 1972; Fewell & Page 1993, Eckert *et al.*,1994, Couto, 1996).

Segundo Todd & Reed (1970), se a cria desoperculada é o estimulador da coleta de pólen, as medidas de área de cria deveriam ser um bom indicador da coleta de pólen. A adequação do uso do pólen ou do substituto de pólen é normalmente avaliada pela determinação da quantidade de alimento consumido ou pela medida de produção de cria (Herbert *et al.* 1970, 1977). Cremonez (2001) reforça tal afirmação ao relatar que a determinação da área de cria é uma medida adequada porque reflete a qualidade da dieta consumida: alimento escasso ou com teor nutritivo baixo resulta em diminuição de postura pela rainha e, conseqüentemente, de área de cria.

Nas primeiras observações de taxa de sobrevivência das crias, as diferenças significativas entre as médias dos tratamentos, nos dias 11/09 e 17/09, podem ser atribuídas principalmente a dois fatores: a porcentagem de floração do barbatimão, que nesse período era de 20 e 50%, respectivamente, talvez não tenha sido atrativa para induzir suficientemente as abelhas do T1 a coletarem pólen do barbatimão em níveis que a sua toxidez pudesse efetivamente surtir efeito.

Outro fator a ser considerado foi o efeito do fornecimento prévio de 105kg de substituto de pólen, nos alimentadores, 15 dias antes do início do experimento. As abelhas ao coletarem o substituto de pólen formaram uma grande área nos favos das colônias e a contínua disponibilidade de substituto de pólen nos alimentadores, próximos aos apiários, poderiam ter reduzido a coleta de pólen nas plantas dispersas na natureza, inclusive a do barbatimão. No período de pico do florescimento do barbatimão, entre os dias 24/09 e 11/10, quando foi encontrada a maior porcentagem de pólen de barbatimão nos coletores das colônias, mesmo não apresentando diferença significativa, a sobrevivência das crias foi sempre ligeiramente superior no T1 do que no T2.

Na sexta avaliação de sobrevivência das crias, no dia 17/10, a diferença significativa entre a média de sobrevivência das crias do T1 pode ter sido em função do período final da floração que estava em torno de 10% e, conseqüentemente, da redução da disponibilidade do pólen de barbatimão nas proximidades dos apiários experimentais. Aliado a este fator, houve o aumento de área de pólen que, devido a uma maior coleta do substituto de pólen, poderia ter ocasionado a maior diluição do pólen de barbatimão que porventura tenha sido coletado.

A análise comparativa entre os tratamentos mostrou que o substituto de pólen apresentou eficácia na redução da mortalidade de cria no início e no final da floração do barbatimão. Observou-se que a redução dos efeitos do pólen do barbatimão permitiu que as colônias do T1, ao final do experimento, tivessem maior área de cria e maior população de abelhas. Embora não tenha sido possível quantificar, elas se recuperaram mais rapidamente do que as do T2, concordando com Couto *et al.* (1989) que ao alimentar colméias confinadas com dieta constituída de farelos de soja, de trigo e de milho também constataram que as colônias que receberam esse substituto de pólen se recuperaram mais rapidamente.

Uma possível explicação do efeito benéfico no aumento da taxa de sobrevivência de cria, devido ao uso do substituto de pólen, pode ser atribuída a dois fatores principais: primeiro, a oferta de substituto de pólen em alimentadores próximos às colônias e sua coleta prévia pelas abelhas campeiras, antes da florada do barbatimão, ocasionou o seu armazenamento nos alvéolos dos favos, levando a redução da coleta de pólen disponível na natureza, entre eles a do barbatimão. Barker (1971) relaciona a influência do estoque de pólen disponível na colônia com a atividade de forrageamento, muito embora Herbert & Shimanuki (1978) tenham observado que as abelhas teriam uma preferência maior pelo pólen do que pelo substituto. No entanto, Free (1967) e Sheeley & Poduska (1968) mencionam que colônias que receberam substituto de pólen coletaram menos pólen. Camazine (1993) sugere que as abelhas nutrizas, por meio da trofalaxia de alimento protéico, regulam a quantidade de pólen coletado, informando as abelhas campeiras sobre a necessidade de coleta de pólen da colônia. Fewell & Winston (1992)

e Camazine (1993) relatam que a coleta de pólen adicional serve para induzir a redução da atividade de coleta das abelhas campeiras.

O segundo fator no aumento da taxa de sobrevivência de cria refere-se à quantidade de substituto de pólen coletado concomitantemente com o pólen tóxico do barbatimão. O consumo total do substituto de pólen foi de 210 kg no T1 e essa oferta pode ter levado a uma redução na quantidade de pólen tóxico em relação ao volume total de alimento coletado, que poderia ocasionar a diluição do primeiro e, portanto, a diminuição do seu efeito tóxico nas crias de abelhas. As colônias em época de florada coletam grande quantidade de alimento que, segundo Seeley (1985), é de aproximadamente 15 a 30 kg de pólen por ano.

Apesar de ter sido ofertado substituto de pólen às abelhas dos apiários tratados, elas não deixaram de coletar o pólen tóxico do barbatimão, como mostrou a análise das amostras de pólen. Mesmo quando coletado em pequenas quantidades, o pólen do barbatimão é capaz de matar as crias de *Apis mellifera*, como foi constatado em todos os apiários do T1, ratificando os resultados obtidos por Carvalho (1998) ao verificar que concentrações de 0.08, 0.10, 0.20, 0.50 e 1.00% de pólen de *Stryphnodendron* spp na dieta não permitiram que as crias chegassem até a fase de pupa, morrendo antes desse estágio. Isso explica a mortalidade das crias nos apiários do T1, cuja baixa concentração foi suficiente para causar mortalidade.

Alguns pesquisadores (Merril, 1924; Garófalo, 1977) têm mostrado que uma porcentagem de ovos e de larvas inviáveis é removida durante o processo de desenvolvimento. Segundo Garófalo (1977), essas crias são removidas, em maior frequência, até o quarto dia da fase de larva, quando se

encontram inviáveis (como no caso de zangões diplóides e larvas defeituosas).

No presente trabalho, o mapeamento das crias ocorreu aproximadamente no quinto dia, quando os possíveis ovos e crias inviáveis já teriam, em grande parte, sido removidos pelas operárias, através do comportamento higiênico. Assim, as células vazias encontradas, após o mapeamento, foram ocasionadas pela mortalidade provocada pela doença Cria Ensacada Brasileira.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

- A alimentação com substituto de pólen, oferecida durante a floração do barbatimão, mostrou-se um manejo alternativo para a redução da mortalidade das crias de *Apis mellifera*, causada pela doença Cria Ensacada Brasileira.
- O fornecimento do substituto de pólen aumentou a área de cria.
- Embora as colônias que tivessem disponível o substituto de pólen coletassem menos pólen, elas não deixaram de coletar o pólen do barbatimão.
- Em locais com alta concentração de barbatimão, o fornecimento de substituto de pólen não foi eficiente para a redução da mortalidade das abelhas, causada pela Cria Ensacada Brasileira.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- Aboud-Zaid, M.I. & M.A. Adb-Alfattah. 1988.** New pollen supplements for feeding honeybees and their effect on brood rearing and honey production. *Bulletin de la Societe Entomologique d'Egyte*. 68:207-214.
- Al-Tikrity, W. S., A. W. Benton, R.C. Hillman & W.W. Clarke Jr. 1972.** The relationship between the amount of unsealed brood in honeybee colonies and their pollen collection. *Journal of Apicultural Research*, 11: 9-12.
- Asencot, M. & Lensky, Y. 1988.** The effect of soluble sugars in stored royal jelly on the differentiation of female honey bee (*Apis mellifera* L.) larvae to queens. *Insect Biochem.*, 18 :127-33. In I. C. da Silva, Avaliação de dietas para criação de operárias e zangões de *Apis mellifera* L. (africanizadas) (Hymenoptera : Apidae) em condições de laboratório. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Viçosa.
- Bailey, L. & B. V. Ball. 1991.** Honey bee pathology. Academic Press, London, 193 p.
- Barker, R. J. 1971.** The influence of food inside the hive on pollen collection by a honeybee colony. *Journal of Apicultural Research*, 10:23-26.

- Barrero, F.M.C., D. Message, P. de Marco Jr., R.S. Raad & J.R.O. Escudine, 2000.** Atratividade de diferentes substitutos de pólen à abelha *Apis mellifera* (Africanizada). UFV, Presidente da APIVAC, UFF.
- Bieberdorf, F.W., A. L. Gross & R. Weichlein. 1961.** Free amino acid content of pollen. *Annals of Allergy*, 19:867-876. In J.M. Graham (ed), *The hive and the honey bee*. Hamilton, IL: Dadant & Sons Inc.
- Camazine, S. 1993.** The regulation of pollen foraging by honey bees: how foragers assess the colony's need for pollen. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 32: 265-272. In C. Dreller & D. R. Tarpy, Perception of the pollen need by foragers in a honeybee colony, *Animal Behaviour*, 59:91-96.
- Carvalho, A.C.P de. 1998.** Pólen de *Stryphnodendron polyphyllum* como agente causador da cria ensacada brasileira em *Apis mellifera* L. Dissertação de Mestrado, UFV.
- Chalmers, W.T. 1980.** Fish meals as pollen-protein substitutes for honeybees. *Bee Wild*, 61:89-96, Canada.
- Chiang, Y. H., K. S. Choi, I. H. Choi & M.J. Shin. 1991.** Comparasion of chemical composition and palatability to honey bees of pollen supplements produced in Korea. *Korean Journal of Apiculture*, 6:1-7.
- Corbet, S.A., I.H. Williams & J. L. Osborne. 1991.** Bees and the pollination of crops and wild flowers in the European community. *Bee World*, 72:45-59.
- Couto, L.A. 1987.** Efeito do fornecimento de ração sobre a produção de cria e alimento e sua herdabilidade em colméias de *Apis mellifera* infestadas com o ácaro *Varroa jacobsoni*. Jaboticabal (SP), dissertação de mestrado, FCAV-UNESP. 132p.

- Couto, L.A. 1996.** Efeito da alimentação sobre a colméia de *Apis mellifera*. In XI Simpósio Estadual de apicultura do Paraná, Pato Branco, Paraná, Anais... 68-71.
- Couto, R. H. N., L. A. Salles & L. A. Couto. 1989.** Produção de cria e alimento em colméias de *Apis mellifera* confinadas e tratadas com ração protéica. *Ecosistema*, p.213-218.
- Couto, R.H.N. Neto & L.A. Couto. 1997.** Alimentos e alimentação para as abelhas. In VII Encontro Baiano de Apicultores, Salvador, p. 20-22.
- Crailshem, K., L.H.W. Schneider, N. Hrassnigg, G. Bühlmann, U. Brosch, R. Gmeinbauer, B. Schöffmann. 1992.** Pollen consumption and utilization in worker honeybees (*Apis mellifera carnica*): dependence on individual age and function. *Journal of Insect Physiology*. 38:409-410.
- Cremonez, T.M. 2001.** Influência da nutrição sobre aspectos da fisiologia e nutrição de abelhas *Apis mellifera*. Tese de Doutorado. Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto-USP. 87p.
- Dietz, A. & M.H. Haydak. 1965.** Causes of nutrient deficiency in stored pollen for development of newly emerged honey bees. *Proc. Intern. Jubilee Beekeeping Congr. 20th*, Bucharest, 222-25.
- Dietz, A. 1969.** Initiation of pollen consumption and pollen movement through the alimentary canal of newly emerged honey bees. *J. Econ. Entomol.*, 62:43-46.
- Dietz, A. 1975.** Nutrition of the adult honey bee, 125-147. In J.M. Graham (ed.), *The hive and the honey bee*. Hamilton, IL: Dadant & Sons Inc.
- Doull, K.M. 1974.** Effects of attractants and phagostimulants in pollen and pollen supplement on the feeding behavior of honey bees in the hive. *J. Apic. Res.* 13:47-54.

- Doull, K.M. 1975.** Pollen supplements, relationships between supplements, pollen and broodrearing. *American Bee F.* 115:14-15.
- Dreller, C. , R. E. Page Jr. & M.K. Fondrk. 1999.** Regulation of pollen foraging in honey bee colonies : effects of young brood, stored pollen, and empty space. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 45 :227-233.
- Dustmann, J.H & W. V.D. Ohe. 1988.** Effect of cold snaps on the build up of honeybee colonies (*Apis mellifera* L.) in spring time. *Apidologie*, 19:245-254.
- Eckert, C. D., M.L. Winston & R.C. Ydenberg. 1994.** The relationship between population size, amount of brood, and individual foraging behaviour in the honey bee, *Apis mellifera* L. In C. Dreller. & D. R. Tarp, Perception of the pollen need by foragers in a honeybee colony, *Animal Behaviour*, 59:91-96.
- Eischen, F.A., W.C. Rothenbuler & J.M. Kulinovic. 1983.** Brood rearing associated with a range of worker-larva ratios in the honey bees. *J. Apic. Res.* 22: 163- 168.
- Erdtman, G. 1960.** The acetolysis method – a revised description. *Svensk Botanisk Tidskrift*, Stockolm, 39:561-564.
- Ferri, M.G. 1969.** Plantas do Brasil : espécie do cerrado. Ed.edgard Blücher Ltd. p. 192-193.
- Fewell, J.H. & M.L. Winston. 1992.** Colony state and regulation of pollen foraging in the honey bee, *Apis mellifera* L. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 30:387-393. In C. Dreller & D. R. Tarp, Perception of the pollen need by foragers in a honeybee colony, *Animal Behaviour*, 59:91-96.
- Fewell, J.H. & R.E. Page. 1993.** Genotip variation in foraging responses to environmental stimuli by honey bees, *Apis mellifera*. *Experientia*, 49,

- 1106-1112. In C. Dreller & D. R. Tarpy, Perception of the pollen need by foragers in a honeybee colony, *Animal Behaviour*, 59:91-96.
- Free, J.B. 1967.** Factors determining the collection of pollen by honeybee foragers. *Animal Behaviour*, 15:134-144.
- Free, J.B. 1980.** Organização social das abelhas (*Apis*). São Paulo, Edusp, 78 p.
- Free, J.B. 1993.** Insect pollination of honey bees. 2 ed, Academic Press, New York, 684p.
- Garófalo, C.A. 1977.** Brood Viability in normal colonies of *Apis mellifera*. *Journal of Apicultural Research*, vol. 16 :3-13.
- Groot, A.P. De. 1953.** Protein and amino acid requirements of the honey bee. *Physiol. Comp. Oecol.* 3:1-90.
- Hagedorn, H.H. & F.E. Moeller. 1967.** The rate of pollen consumption by newly emerged honey bees. p. 159-162. In Graham, J.M. (ed), *The hive and honey bee*, chapter 6, Dadant & Sons. Hamilton, Illinois.
- Haydak, M.H. 1935.** Brood rearing by honey bees confined to a pure carbohydrate diet. *J. Econ. Entomol.*, 28:657-60.
- Haydak, M.H. 1970.** Honey bee nutrition. *Annual Review of Entomology*, 15:143-156.
- Herbert, E.W., W.G. Bickley & H. Shimanuki. 1970.** The brood rearing capacity of caged honey bees fed dandelion and mixed pollen diets. *Journal Economic Entomology*. 63:215-218.
- Herbert, E.W., H. Shimanuki & D. Caron. 1977.** Optimum protein levels required by honey bees (Hymenoptera, Apidae) to initiate and maintain brood rearing. *Apidologie*, 8 :141-146.

- Herbert, E.W. & H. Shimanuki. 1978.** Consumption and brood rearing by caged honeybees fed pollen substitutes fortified with various sugars. *Journal of Apicultural Research* 17:27-31.
- Herbert, E.W. & H. Shimanuki. 1980.** An evaluation of seven potential pollen substitutes for honey bees. *Apicultural Research*, 349-350.
- Herbert, E.W., H. Shimanuki & B.S. Shasha. 1980.** Brood rearing and food consumption by honeybee colonies fed pollen substitutes supplemented with starch-encapsulated pollen extracts. *Journal of Apicultural Research* 19:115-118.
- Herbert, E.W. 1992.** Honey bee nutrition, pp. 197-233. In J.M. Graham [ed.], *The hive and the honey bee*. Dadant, Hamilton, IL.
- Johansson, T.S.K. & M.P. Johansson. 1977.** Feeding honeybees and substitutes. *Bee World*, 58:105-118, 135 :161-164.
- Knox, D., H. Shimanuki & E.W. Herbert. 1971.** Diet and the longevity of adult honey bees. *Journal of Economic Entomology*. 64:1415-1416.
- Lehner, Y. 1983.** Nutritional considerations in choosing protein and carbohydrate sources for use in pollen substitutes for honeybees. *J. of Apic. Res.*, 22:242-248.
- Lengler, S., C.B. Lengler, R. Neumaier & G.L. Castagnino. 1996.** Efeito residual da alimentação suplementar no desenvolvimento de colméias de abelhas africanizadas no outono. In XI Simpósio Estadual de Apicultura do Paraná, Pato Branco, p. 178-179.
- Levin, M.D. & G.E. Bohart. 1955.** Selection of pollens by honey bees. *American Bee Journal*, p. 392-402.
- Lotmar, R. 1938.** Untersuchungen ueber den Eisenstoffwechsel der Insekten besonders der Honigbiene. *Rev. Suisse Zool.*, 45, 237-71. In M. H.

Haydak, Honey bee nutrition, Annual Review of Entomology, 15 :153-157, 1970.

Martins, E.M.O. 1980. Distribuição geográfica do gênero *Stryphnodendron* com descrição de nova espécie (Leg., Mim). Rev. Brasil., 40:729-732.

Maurizio, A. 1954. Pollenernahrung und Lebensvorgänge bei der Honigbiene (*Apis mellifera* L.). Landw. Fb. Schweiz 68:115-182. In Y. Lehner, Nutritional considerations in choosing protein and carbohydrate sources for use in pollen substitutes for honeybees, Journal of Apicultural Research 22:242-248.

Merrill, J.H. 1924. Sealed and unsealed brood. Am. Bee J. 64 :424-425. In T. Schmickl & K. Crailsheim, Cannibalism and early capping : strategy of honey bee colonies in times of experimental pollen shortages, J. Comp. Physiol. A., 187 :541-547.

Message, D., B.V. Ball & I.C. Silva. 1995. A serious brood disease affecting africanized honeybees (*Apis mellifera*). In Apimondia Congress, 34, Lausanne. Proceedings...Lausanne: Apimondia, 1995. 203p.

Message, D. 1997. Management and disease problems of africanized bees in Brasil. Parkstone, The Central Association of Bee-Keepers, 15p.

Morse, R. A. 1975. Bees and beekeeping. Cornell University Press, Ithaca, NY.

Peng, Y-S.C. & Jay, S.C. 1977. Larval rearing by worker honey bees lacking their mandibular glands. Rearing by small numbers of worker bees. Can. Entomol., 109 :1175-80. In I. C. da Silva, Avaliação de dietas para criação de operárias e zangões de *Apis mellifera* L. (africanizadas) (Hymenoptera : Apidae) em condições de laboratório, dissertação de mestrado, Universidade Federal de Viçosa, 1995.

- Sampaio, E.A.B. 1991.** Caracterização do pólen apícola processado ingerido e armazenado na colméia – pão de abelhas, de algumas localidades do Paraná. Mestrado, Universidade Federal do Paraná, 188p.
- Santos, M.L. de A. 2000.** Análise dos constituintes químicos do pólen e da inflorescência de *Stryphnodendron polyphyllum* em relação à Cria Enscada Brasileira em *Apis mellifera*. Dissertação de Mestrado, UFV, 59p.
- Schmidt, J.O. 1982.** Pollen foraging preferences of honey bees. Southwestern Entomol. 7:255-259.
- Seeley, T. D. 1985.** Honey bee ecology. Princeton University Press, Princeton, N. J. In L. Cremonese, D. De Jong & M.G. Bitondi, Quantification of hemolymph proteins as a fast method for testing protein diets for honey bees (Hymenoptera: Apidae). Journal of Economic Entomology, 91:1284-1289.
- Sheesley, B. & B. Poduska. 1968.** Supplemental feeding of honey bees – colony strength and pollination results. Amer. Bee. J. 108:357-359.
- Shuel, R.W. & Dixon, S.E. 1960.** The early establishment of dimorphism in the female honeybee *Apis mellifera* L. Insects Soc. 7 : 265-82. In I. C. da Silva, Avaliação de dietas para criação de operárias e zangões de *Apis mellifera* L. (africanizadas) (Hymenoptera : Apidae) em condições de laboratório. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Viçosa, 1995.
- Standifer, L.N., W.F. McCaughey, F.E. Todd & A. R. Kemmerer. 1960.** Relative availability of various proteins to the honey bee. Ann. Entomol. Soc. Amer. 53: 618- 625.

- Standifer, L.N., R.H. MacDonald & M.D. Levin.1970.** Influence of the quality of protein in pollens and of a pollen substitute on the development of the hypopharyngeal glands of honeybees. *Annals of the Entomological Society of America*, 63:909-910.
- Szymas, B., Z. Wilkaniec & F. Wojtowski. 1993.** Utilization of protein feeds in nutrition of honeybees. Wykorzystanie pasz białkowych w żywieniu pszczół miodnych. *Roczniki Akademii Rolniczej w Poznaniu, Zootechnika*, 264:109-118.
- Szymas, B. & A. Przybył.1995.** Application of potato protein in the feeding of honey bees (*Apis mellifera L.*). *Pszczelnicze-zeszyty-naukowe*, 39:49-53.
- Tood, F.E. & C. B. Reed. 1970.** Brood measurement a valid index to the value of honey bees as pollinators. *Journal of Economic Entomology*, 63:148-149.
- Townsend, G.F. & M.V. Smith. 1969.** Pollen storage for bee feed. *American Bee Journal*, 109:14-15.

APÊNDICE

1. Resultado das medições das áreas de crias no tratamento com Substituto de pólen (T1)

APIÁRIO	COL	11/09/01	24/09/01	17/10/01	29/10/01	Média
A1	15	1624,43	-	-	1266,5	1445,465
A1	77	3717,75	2230,39	3147,54	4222,43	3329,528
A1	1848	2727	-	465,99	3827,47	2340,153
A1	1851	3753,55	2275,76	2076,12	-	2701,81
A1	1909	3661,06	2679,21	3007,99	2822,96	3042,805
A2	18	3471,28	2529,24	2068,2	2149,97	2554,673
A2	777	2640,03	2187,65	1219,06	1202,68	1812,355
A2	886	3490,42	2697,97	1905,55	2424,44	2629,595
A2	912	3888,01	3630,93	2081,47	886,02	2621,608
A2	913	3529,22	1696,82	1662,48	1390,09	2069,653
A3	37	6071,02	1558,33	2253,3	1753,48	2909,033
A3	395	4882,22	2785,76	1030,2	492,42	2297,65
A3	745	3701,71	4333,16	512,35	-	2849,073
A3	837	5466,1	907,93	701,45	1428,29	2125,943
A3	1687	2969,4	569,8	291,48	-	1276,893
A4	1	2784,87	-	-	1578,42	2400,416
A4	73	2663,51	-	-	-	
A4	102	4164,4	-	-	-	
A4	347	1627,36	-	-	-	
A4	788	3250,24	-	-	-	

2. Resultados das medições das áreas de crias do tratamento sem substituto de pólen (T2)

APIÁRIO	COL	11/09/01	24/09/01	17/10/01	29/10/01	Média
A5	289	-	0	1189,39	1224,03	804,4733
A5	500	3279,73	1359,48	992,84	1659,24	1337,187
A5	1081	2586,49	1241,65	380,3	-	810,975
A5	1183	4574,03	956,71	2020,72	2120,01	1699,147
A5	1268	1397,22	1334,89	720,05	1469,1	1174,68
A6	80	3453,45	1507,79	1563,68	226,73	1099,4
A6	923	3442,45	437,35	838,23	367,1	547,56
A6	1148	-	1006,7	1277,98	1453,6	1246,093
A6	1675	2717,52	2117,52	1966,03	2118,19	2067,247
A6	1892	4182	1842,99	-	-	1842,99
A7	153	2379,41	2069,2	1018,06	1533,03	1540,097
A7	633	2259,75	2487,69	2494,95	1278,61	2087,083
A7	744	2917,28	1622,56	101,38	-	861,97
A7	769	1393,79	463,08	210,95	403,82	359,2833
A7	1197	1473,8	-	483,61	590,52	537,065
A8	5	2848,63	2838,84	628,14	821,81	1429,597
A8	1255	3017,57	1122,21	1699,89	2894,7	1905,6
A8	1578	1852,49	594,97	1704,42	-	1149,695
A8	1765	2252,98	401,46	1955,85	-	1178,655
A8	1797	3251,46	-		503,11	503,11

3. Resultado das medições das áreas de pólen no tratamento com substituto de pólen (T1)

APIÁRIO	COL	11/09/01	24/09/01	17/10/01	29/10/01	Médias
A1	15	107,49	685,79	-	32,71	275,33
A1	77	1260,52	-	648,96	496,78	802,0867
A1	1848	466,87	123,62	-	245,8	278,7633
A1	1851	179,04	126,82	151,4	-	152,42
A1	1909	151,54	835,89	245,6	420,38	413,3525
A2	18	2028,63	835,89	2426,69	1017,88	1577,273
A2	777	336,86	0	291,12	-	209,3267
A2	886	1097,77	521,35	655,82	30,89	576,4575
A2	912	935,85	548,74	814,95	230,79	632,5825
A2	913	1188,59	610,45	657,67	1190,68	911,8475
A3	37	1117,63	535,65	976,18	-	876,4867
A3	395	673,91	207,48	245,21	-	375,5333
A3	745	259,11	573,7	479,71	-	437,5067
A3	837	306,02	377,28	37,83	70,43	197,89
A3	1687	0	725,25	-	-	362,625
A4	1	2407,83	-	-	314,01	1360,92
A4	73	2298,35	-	-	-	2298,35
A4	102	109,73	-	-	-	109,73
A4	347	3211,61	-	-	-	3211,61
A4	788	1103,78	-	-	-	1103,78

4. Resultados das medições das áreas de pólen do tratamento sem substituto de pólen (T2)

APIÁRIO	COL	11/09/01	24/09/01	17/10/01	29/10/01	Médias
A5	289	-	1322,13	335,47	66,66	574,7533
A5	500	214,42	404,97	168,93	140,89	232,3025
A5	1081	55,9	21,85	96,55	-	58,1
A5	1183	246,11	674,78	694,22	513,49	532,15
A5	1268	61,92	14,22	139,94	146,88	90,74
A6	80	459,73	259,34	0	62,08	195,2875
A6	923	125,94	519,47	536,91	397,86	395,045
A6	1148	-	1432,5	0	12,05	481,5167
A6	1675	135,15	270,12	764,1	546,54	428,9775
A6	1892	255,86	10,15	0	-	88,67
A7	153	642,95	0	311,18	21,05	243,795
A7	633	41,67	444,95	218,04	0	176,165
A7	744	266,48	148,32	251,41	-	222,07
A7	769	90,87	310,03	113,06	197,87	177,9575
A7	1197	216	0	0	0	54
A8	5	0	309,12	79,15	30,39	104,665
A8	1255	196,87	230,26	302,84	161,01	222,745
A8	1578	65,79	0	6,77	0	18,14
A8	1765	14,89	52,55	254,23	0	80,4175
A8	1797	136,05	0	0	0	34,0125

5. Sugestões para o uso do substituto de pólen

- O custo do substituto de pólen para a Associação dos Apicultores de Carangola foi, em média, R\$ 0,90/kg. Em relação à sua confecção, deve-se adquirir ingredientes (milho, soja e farinha de trigo) de boa qualidade. A moagem deve ser ultrafina, de preferência com tela utilizada em moinho de trigo (0,060 mm) para obter-se um produto com a granulometria semelhante a da farinha de trigo.
- Seu uso torna-se compensador durante a floração do barbatimão, reduzindo os efeitos do pólen tóxico dessa planta nas colônias, diminuindo a mortalidade das crias. Isso permite que, no período final da floração, as colônias se recuperem mais rapidamente, tornando-se aptas à produção, quando comparadas com as que não foram alimentadas com substituto de pólen.

6. Sugestões aos apicultores

- Se possível, transfira as colônias para áreas sem a presença do barbatimão;
- Utilize, nos apiários que permanecerem nas áreas infestadas, um alimentador coletivo, no máximo para 30 colônias;
- Faça alimentação prévia com substituto de pólen, aproximadamente 15 dias antes de iniciar a floração do barbatimão;
- Alimente periodicamente as colônias até o período final da floração do barbatimão; nunca deixe faltar o substituto de pólen nos alimentadores;
- Jamais utilize qualquer tipo de quimioterápicos para combater a doença Cria Ensacada Brasileira.

7. Modelo de alimentador coletivo de substituto de pólen

