

Construção de gaiola para abelhas *Apis mellifera iberiensis* em laboratório

Construction of cage for *Apis mellifera iberiensis* bees in the laboratory

DOI:10.34117/bjdv9n5-008

Recebimento dos originais: 06/04/2023

Aceitação para publicação: 02/05/2023

Raulene Rodrigues Lobo

Mestre em Veterinária

Instituição: Instituto Tocantinense Presidente Antônio Carlos (ITPAC - AFYA)

Endereço: Nova Manacá, Manacapuru - AM, CEP: 69400-000

E-mail: raulenelobo@gmail.com

José Luis Fernandes Teixeira

Doutorando em Ciência Animal

Instituição: Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro

Endereço: Quinta dos Prados, Escolas das Ciências Agrárias e Veterinárias

Departamento de Zootecnia, CEP: 5000-801, Vila Real

E-mail: joseteixeira@utad.pt

Carla Alexandre Ferreira Coutinho Tomás

Ensino Médio Completo

Instituição Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro

Endereço: Quinta de Prados, CEP: 5000-801, Vila Real, Vila Real

E-mail: ita@utad.pt

Miguel José Rodrigues Vilas Boas

Doutor em Química

Instituição: Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Instituto Politécnico de Bragança

Endereço: Campus de Santa Apolónia, CEP: 5300-253 Bragança, Portugal

E-mail: mvboas@ipb.pt

Paulo António Russo Almeida

Doutor em Ciência Animal

Instituição: Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro - Vila Real

Endereço: Quinta de Prados, CEP: 5000-801, Vila Real, Vila Real

E-mail: prusso@utad.pt

Geferson Fischer

Pós-doutorado em Ciências Veterinárias

Instituição; Universidade Federal de Pelotas - Laboratório de Virologia e Imunologia

Endereço: Universidade Federal de Pelotas, Campus Capão do Leão, Campus

Universitário, S/N, Capão do Leão - RS, CEP: 96160-000

E-mail: geferson.fischer@gmail.com

Gilberto Davila Vargas

Doutor em Zootecnia

Instituição: Universidade Federal de Pelotas

Endereço: Universidade Federal de Pelotas, Campus Capão do Leão, Campus
Universitário, S/N, Capão do Leão - RS, CEP: 96160-000

E-mail: gdavilavargas@gmail.com

RESUMO

Diversos estudos têm sido desenvolvidos para obtenção de um ambiente laboratorial adequado, que permita a elaboração de experimentos *in vitro* com abelhas *Apis mellifera*, de forma a reproduzir o seu ambiente natural e avaliar diferentes variáveis que interferem no seu ciclo de vida. No entanto, desenvolver uma metodologia padronizada adequada ainda é um grande obstáculo a ser superado. Diversos materiais e métodos são utilizados para fins de pesquisa, mas ainda apresentam algumas limitações. Assim, este trabalho teve como principal objetivo propor uma metodologia de elaboração de gaiolas e alimentadores com material reciclável, possíveis de ser autoclavados a 130°C por 30 minutos sendo a pressão de acordo com o protocolo do laboratório) e reutilizados. O material utilizado para a confecção das gaiolas foi o copo plástico transparente de 300 ml, com perfurações nas laterais (12 furos) e na parte superior (4 furos) para permitir a ventilação dentro da estufa. Para a alimentação foram utilizados 14 suplementos distribuídos da seguinte forma 8 com suplementos energéticos e 4 com suplementos proteicos e um a gaiola com mel e outra somente com água potável. Como objetivo de simular o ambiente da colônia foi introduzida uma tira de cera laminada no centro da gaiola, para permitir a agregação das abelhas e acesso aos alimentadores. Para o manejo de retirada das abelhas mortas foi confeccionada uma abertura na tampa inferior da gaiola, com um dispositivo que permitiu a abertura e o fechamento do mesmo. Essas modificações auxiliam na condução de estudos *in vitro* de forma prática e segura para os operadores, sem causar fatores de estresse nas abelhas e reproduzir mais fielmente o ambiente natural das colônias. Este estudo utilizou 14 gaiolas com 50 abelhas que alcançaram 22 dias de longevidade com isso demonstrou otimizar os trabalhos realizados em laboratório, neste caso direcionado ao estudo das abelhas *Apis mellifera*, mas que poderá, em fases posteriores, ser devidamente adaptado a outros insetos sociais.

Palavras-chave *Apis mellifera*, gaiolas, *in vitro*, manutenção.

ABSTRACT

Several studies have been developed to obtain an adequate laboratory environment, which allows the development of *in vitro* experiments with *Apis mellifera* bees, in order to reproduce the natural environment and evaluate different variables that interfere in the life cycle. However, developing an adequate standardized methodology is still a major obstacle to be overcome. Several materials and methods are used for research purposes, but still have some limitations. Thus, this work had as main objective to develop and present a methodology for the elaboration of cages and feeders with recyclable material, which can be autoclaved and reused. The material used to make the cages was the transparent plastic container, with wholes on the sides and on the top to allow ventilation. To reproduce the environment of the colony, a strip of laminated wax was introduced in the center of the cage, to allow the aggregation of bees and to provide access to feeders. For

the management of removal of dead bees, an opening was made in the bottom cover of the cage, with a device that allowed to open and close the cage. These modifications help to conduct *in vitro* studies in a practical and safe way for operators, without causing stress factors in bees and more faithfully reproducing the natural environment of the colonies. This study aimed to optimize the work carried out in the laboratory, in this case directed to the study of *Apis mellifera*, but which may, in later stages, be properly adapted to other social insects.

Keywords: *Apis mellifera*, cages, *in vitro*, maintenance.

1 INTRODUÇÃO

Os estudos conduzidos em laboratório com abelhas *Apis mellifera spp.* ainda apresentam alguns obstáculos para os investigadores. A apicultura é uma atividade realizada há milhares de anos datada de aproximadamente 2.400 a.C. Os primeiros relatos desta atividade são atribuídos aos povos egípcios que utilizavam potes de barro para alojar as abelhas. Apesar dos egípcios serem considerados pioneiros na apicultura os gregos já usavam recipientes confeccionados com palha trançada em formato de colmo para colocar os enxames o que deu origem ao nome colmeia.

A *Apis mellifera* (abelha europeia) tem origem na Ásia e na Europa sendo as colônias formadas por diferentes castas a Rainha (responsável pela ovoposição), o zangão (função de fecundar a rainha) e as operárias que realizam diferentes tarefas (SENAR, 2010). A distribuição geográfica da *Apis Mellifera* é bem heterogênea desde de savana, florestas tropicais, deserto, regiões litorâneas e montanhosas tendo uma ampla diversidade de clima e vegetação proporcionou várias subespécies ou raças de abelhas capazes de adaptação em diferentes condições ambientais (Pereira, et al 2003).

As abelhas realizam uma atividade de grande relevância para a biodiversidade através da polinização. Além de sua importância no equilíbrio biológico elas despertam o interesse em outros setores importantes como é o caso do setor apícola, um fato que promove o estreitamento da sua relação com o homem por via da exploração econômica cujo desenvolvimento sendo constante.

As abelhas do gênero *Apis mellifera* surgiram a partir de um grupo de vespas que modificaram sua dieta alimentar, anteriormente baseada em insetos e ácaros para usarem como fonte de nutrientes em sua alimentação o néctar e o pólen que segundo Paulino (2008 apud WINSTON, 1987), ao longo da evolução da espécie passou por modificações anatômicas e fisiológicas como forma de adaptação ao novo hábito alimentar.

São necessárias condições laboratoriais e metodologias adequadas que permitam a manutenção das abelhas em ambiente confinado o mais próximo possível do natural. De acordo com Williams et al. (2013), a manutenção de abelhas adultas *in vitro* consiste em alojá-las em gaiolas que possibilitem as avaliações das abelhas em confinamento de forma individual ou em grupo, em ambiente controlado. Esta metodologia permite avaliar diferentes aspectos como administração de produtos parasitários Maistrello et al. (2008), toxicologia Johnson et al. (2009), interação parasita-hospedeiro Forsgren & Fries (2010) e fisiologia Alaux et al. (2010). Além disso, a manutenção de abelhas *in vitro* permite a avaliação da sua longevidade Brighenti et al. (2008); Turcatto (2011) bem como a verificação de comportamento e resposta à estímulos mecânicos Carvalho et al. (2009). Com o mesmo objetivo vários pesquisadores utilizaram diferentes materiais para confecção das gaiolas como Turcatto (2011) que usou material plástico e microtubos adaptados para suplementação, já Brighenti et al. (2008) e Carvalho et al. (2009), usaram o PVC (Policloreto de vinilo) e ambos introduziram tecido de filó como vedação na parte superior e forneceram água destilada embebida em algodão. Pereira et al. (2007) e Kulencevic & Rothenbuhler (1972), optaram por madeira na confecção das gaiolas com laterais de vidro e piso telado e na suplementação líquida usaram orifícios na parte superior e a pastosa em tampas plásticas. Analisando os diferentes materiais e metodologias empregadas por pesquisadores na confecção de gaiolas, o nosso objetivo foi aprimorar as metodologias usadas, visando à manutenção de abelhas *Apis mellifera iberiensis* operárias recém-nascidas *in vitro*, utilizando materiais simples, como copo e microtubos de material plástico e estruturando de forma a garantir conforto para as abelhas e praticidades aos pesquisadores.

2 METODOLOGIA

A primeira fase da pesquisa *in vitro* em laboratório utilizou abelhas *A. m. iberiensis* previamente selecionadas no campo de colônias saudáveis do apiário (41°N. e 7°W) da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD/ Portugal). Após a seleção, os caixilhos de cria operculada (Figura 1) foram retirados das colônias e transportados para o Laboratório Apícola (LabApis/UTAD), com posterior acondicionamento em um núcleo (Figura 2) a fim de aplicar maior cuidado possível para os opérculos entre o apiário e o laboratório.

Figura 1: Seleção de cria operculada no apiário.



Fonte: Arquivo do autor, 2019.

Figura 2: Núcleo.



Fonte: Arquivo do autor, 2019.

Após a chegada ao laboratório, foram instaladas telas metálicas nos caixilhos operculados, com dimensões de 29,3/29,5 cm (Figura 3), para proteção e contenção das abelhas em ambos os lados do quadro. com objetivo de evitar o seu acesso ao alimento, naturalmente presente no caixilho, após o nascimento. Posteriormente a realização deste processo, os caixilhos foram mantidos em estufa a 35°C e com 70% de umidade até as abelhas operárias emergirem.

Figura 3a: Telas de proteção metálica.



Fonte: Arquivo do autor, 2019.

Figura 3b: Caxilho com a proteção metálica.



Fonte: Arquivo do autor, 2019.

As abelhas que emergiram dos caixilhos após 10 horas foram acondicionadas em gaiolas de copos plásticos. A estrutura da gaiola foi baseada em um modelo descrito por Willian et al. (2013), com algumas modificações. Foram utilizados copos plásticos transparentes de 300 ml (Figura 4), que permitiram o acondicionamento adequado para 50 abelhas. Nestas estruturas foram feitos orifícios laterais e superiores em série, para permitir a ventilação proveniente do interior da estufa em que as gaiolas foram acondicionadas durante a fase experimental. Ainda com a preocupação de reproduzir um ambiente semelhante ao da colônia, uma tira de cera laminada foi introduzida na gaiola originada a partir do corte dimensionado de uma lâmina de cera usada comumente nos apiários. Este corte deve possuir dimensões proporcionais às dimensões do copo utilizado, a saber, neste caso, comprimento de 3 cm de largura e 12 cm de comprimento (Figura 5).

Figura 4: Copo plástico de 300ml.



Fonte: Arquivo do autor, 2019.

Figura 5: Tira de cera laminada.



Fonte: Arquivo do autor, 2019.

A fixação da cera nas gaiolas, através da abertura transversal (Figura 6) na sua parte superior, foi feita com palitos de madeira (Figura 7) de comprimento equivalente ao diâmetro do copo utilizado (Figura 8). Estes palitos foram instalados de forma perpendicular à cera, na posição horizontal. Na parte inferior da gaiola a cera foi fixada com palito duplo, o que permitiu a retirada de abelhas mortas de dentro da gaiola. Para garantir a segurança contra eventuais fugas de abelhas e também para o auxílio do manuseio periódico, na parte inferior da gaiola foi colocada uma tampa com abertura de forma retangular (225 x 200 mm) sendo realizado um corte em apenas 3 lados do retângulo e uma linha pelo lado externo, favorecendo o manuseio e garantindo total fechamento após cada procedimento de retirada das abelhas mortas na gaiola (Figura 8/9).

Figura 6: Corte transversal.



Fonte: Arquivo do autor, 2019.

Figura 7: Palitos para fixação superior e inferior.



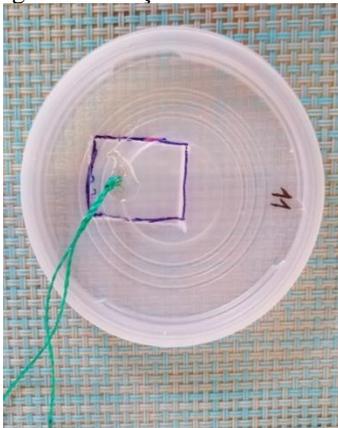
Fonte: Arquivo do autor, 2019.

Figura 8: Fixação da cera laminada



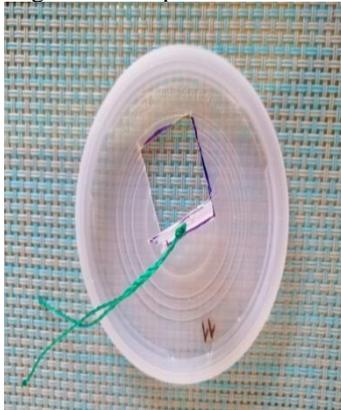
Fonte: Arquivo do autor, 2019.

Figura 8: Fixação da cera laminada.



Fonte: Arquivo do autor, 2019.

Figura 9: Tampa com abertura.



Fonte: Arquivo do autor, 2019.

No fornecimento dos suplementos foram utilizados microtubos tipo *ependorf* de 2ml que foram feitos 3 orifícios com diâmetro entre 3,8 e 4,0 mm (Figura 10) possibilitou uma distribuição e acesso das abelhas confinadas aos suplementos (Figura 11).

Figura 10: Microtubo tipo *ependorf* (alimentador).

Fonte: Arquivo do autor, 2019.

Figura 11: Suplementos nos alimentadores.

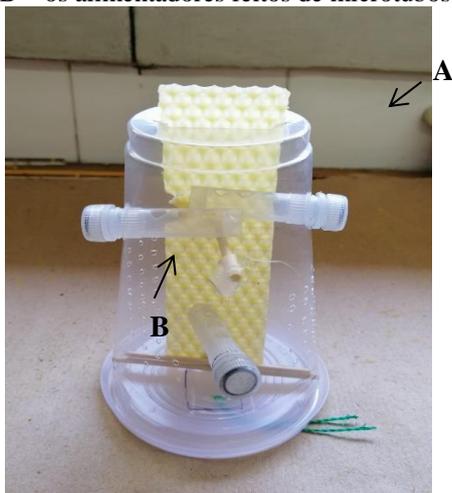


Fonte: Arquivo do autor, 2019.

Foram fornecidas as abelhas operárias em cada gaiola (Figura 12) um suplemento diferente, em uma gaiola foi disponibilizado somente um alimentador com água e em outra uma gaiola com mel e nas outras gaiolas foram distribuídas da seguinte forma 8 com suplementos energéticos e 4 com suplementos proteicos. Os suplementos alimentares foram fornecidos às abelhas em alimentadores de pequeno volume para evitar que se deteriorem. Os alimentadores, que são introduzidos diariamente por substituição nas respectivas gaiolas, tal procedimento foi realizado diariamente e com horário definido, descreve-se da seguinte forma: na primeira fase é realizado o abastecimento dos alimentadores e são dispostos em suportes para este fim que posteriormente foram pesados para obtenção do peso inicial.

As gaiolas foram retiradas da estufa para substituição dos alimentadores e contabilização de abelhas mortas registro e armazenagem (-34°C). Os alimentadores que foram retirados e pesados para obtenção do peso final para avaliar posteriormente o consumo de cada suplemento fornecido.

Figura12. A - Gaiola para acondicionamento de abelhas, desenvolvida a partir de copo plástico com lâmina de cera alveolada e B – os alimentadores feitos de microtubos plásticos, tipo *eppendorf*.



Fonte: Arquivo do autor, 2019.

No alojamento das 14 gaiolas procurou reduzir a variância utilizando abelhas de origem na mesma colônia, caso contrário fez-se a homogeneização das abelhas recém-nascidas (no máximo com 10h de vida), antes de as distribuir e alojá-las em número de 50 abelhas por gaiola. As gaiolas foram mantidas durante toda a fase do experimento totalizando 22 dias de longevidade em completa escuridão, em estufa ventilada e climatizada a 30°C e 60 a 70% de humidade. No manuseio diário foi utilizado luz vermelha, invisível para as abelhas.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Este estudo teve como principal objetivo o desenvolvimento de uma metodologia (gaiola) que simulasse, *in vitro* e reproduzisse de forma mais viável ao ambiente natural de abelhas *A. mellifera* dentro da colônia.

O primeiro fator considerado no desenvolvimento da gaiola para contenção de abelhas *A. mellifera* foi o material utilizado para sua confecção, de modo que fosse acessível economicamente e facilmente disponível no mercado. Além disso, elegeu-se como material o copo plástico que proporcionou uma higienização adequada e facilitada, bem como sua reutilização. Estes fatores divergem da gaiola desenvolvida por Pereira et al., (2007) que utilizaram madeira como matéria prima, que não é tão acessível, dificulta a confecção e manuseio, mas concorda com o descrito por Huang et al. (2014) que, ao testarem diferentes materiais para a construção de gaiolas e alimentadores, concluíram que o material plástico e o metálico com vidro, além de alimentador em forma de

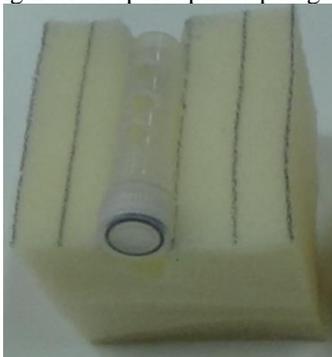
seringa, foi a combinação que proporcionou os melhores resultados no alojamento das abelhas.

Outro fator a ser considerado foi a utilização de alimentadores que permitissem administração dos suplementos das mais variadas formas seja líquida, pó ou pastosa podendo ser suplementos proteicos, energéticos ou vitaminas. O nosso estudo divergiu do descrito por Huang et al.(2014), que utilizaram diferentes modelos de caixas e alimentadores e concluíram que o uso da seringa foi a mais adequada para administração de suplementação líquida.

Os alimentadores adotados neste estudo permitiram o acesso eficaz das abelhas aos suplementos utilizados, proporcionando a introdução da proboscíde, impedindo que adentrassem no alimentador evitando assim o afogamento nos casos de administração dos suplementos líquidos ou a impregnação em seu corpo em suplementos pastosos e não conseguirem realizar uma higiene adequada, já que impediram que as abelhas adentrassem o alimentador. Esta metodologia é diferente daquela desenvolvida por Resende et al. (2019) que, para o fornecimento de água e suplementação líquida, usaram tampas plásticas com um chumaço de algodão em seu interior. Outra vantagem deste sistema de alimentação é a fácil higienização da lavagem e do autoclavamento, o que permite a sua esterilização e reutilização.

Para viabilização dos procedimentos de manuseio dos alimentos durante os experimentos, sugere-se a confecção de unidades extras de alimentadores, bem como de um suporte para pesagem dos suplementos (Figura 13) para sua acomodação durante o processo de abastecimento e pesagem, proporcionando facilidade e segurança contra possíveis acidentes que ocasionem perda de material. Este suporte pode ser confeccionado a partir de uma esponja com cava suficiente para abrigar a quantidade de alimentadores necessários para cada experimento (Figura 14).

Figura 13.Suporte para a pesagem



Fonte: Arquivo do autor, 2019.

Figura 14. Suporte para acomodação dos alimentadores.



Fonte: Arquivo do autor, 2019.

A colocação de uma pequena lâmina de cera alveolada na porção superior da gaiola, visando reproduzir os caixilhos na colônia, proporcionou às abelhas melhor acesso aos alimentadores, que foram colocados perpendicularmente através das laterais das gaiolas, e permitiu um ambiente próximo ao que ocorre dentro da colônia à campo, garantindo maior comodidade as abelhas e proporcionando sua agregação diferenciando dos outros trabalhos dos quais não havia a introdução de cera nas gaiolas Pereira et al. (2007); Brighenti et al. (2008); Carvalho et al. (2009); Turcatto (2011); Resende et al. (2019).

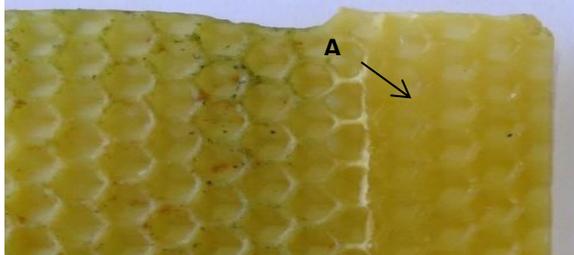
Este modelo de gaiola utilizado em nosso experimento também possibilitou observar a realização de algumas tarefas das abelhas operárias na colônia: as abelhas roeram a cera e retiraram-na para fora da gaiola através dos orifícios utilizados para ventilação, demonstrando bom comportamento higiênico (15). Além disso, “puxaram a cera” (deposição de cera produzidas pelas abelhas na cera laminada), comportamento que se observa nas colônias, principalmente quando são introduzidos quadros com cera laminada onde posteriormente serão depositados néctar e pólen, demonstrando comodidade as abelhas (Figura 16).

Figura.15 – Limpeza das gaiolas pelas obreiras.



Fonte: Arquivo do autor, 2019.

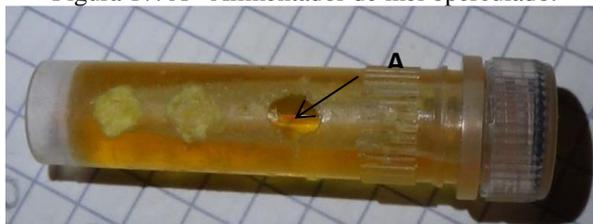
Figura 16. A - Cera alveolada –“puxada” pelas abelhas operária



Fonte: Arquivo do autor, 2019.

Em alguns casos, também se observou a operculação (Figura 17) dos alimentadores quando houve administração de suplemento energético (mel). Esta tarefa normalmente é realizada, na colônia, nos favos onde as abelhas depositam néctar e pólen como forma de armazenamento do alimento, demonstrando que a gaiola propiciou um ambiente muito próximo daquele que ocorre à campo, uma vez que realizaram, *in vitro*, tarefas do cotidiano.

Figura 17. A - Alimentador de mel operculado.



Fonte: Arquivo do autor, 2019.

A confecção de uma tampa com corte realizado nos 3 lados do retângulo na parte inferior da gaiola com auxílio de uma linha fixada na parte externa demonstrou praticidade favorecendo o manuseio e garantindo total fechamento após cada procedimento de retirada das abelhas mortas, uma vez que não houve estresse nas abelhas operárias que permaneceram na gaiola. O ambiente controlado demonstrou ser livre de estresse, simulando o naturalmente vivido pelas abelhas à campo, é um requisito fundamental em pesquisas laboratoriais que necessitem de manipulação de abelhas *in vitro*.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O desenvolvimento de uma gaiola para contenção de abelhas *A. mellifera*, bem como de um sistema de alimentadores a partir de materiais simples e baratos, como copo plástico e microtubos, demonstrou ser uma metodologia viável. Isso pôde ser comprovado pela prática das abelhas, em ambiente controlado e sob condições adequadas de

ventilação, temperatura e umidade, de diversas ações que realizam nas colônias a campo, como faxina (cera, linhas e partes de abelhas mortas) puxar a cera e operculação em um dos orifícios do alimentador com mel.

A abertura na tampa para retirada das abelhas mortas facilitou o manejo e evitou o estresse das abelhas que permaneceram vivas dentro da gaiola que permaneceram calmas realizando as atividades normais na gaiola. Isso comprova o potencial deste método para avaliações *in vitro* de abelhas *Apis mellifera* e cria a possibilidade de uso em meliponídeos e outros insetos sociáveis.

Este estudo teve como principal objetivo o desenvolvimento de uma metodologia (gaiola) que simulasse, *in vitro*, que reproduzisse de forma mais viável ao ambiente natural de abelhas *A. mellifera* dentro da colônia. Esta metodologia possibilitará estudos em laboratório, sob condições controladas, e de modo a eliminar fatores externos que possam interferir no tempo de vida útil de uma abelha.

AGRADECIMENTOS

A Capes – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível pelo financiamento da bolsa de Doutorado fundamental para realização desse trabalho.

Agradeço a professora Anabela Alves e a técnica Lígia Lourenço pela disponibilidade e apoio na realização deste trabalho do laboratório de histologia e anatomia patológica- Universidade de Trás – os -Montes e Alto Douro/UTAD. A assistente técnica Idalina Mesquita Aboleleira, pela contribuição nesse trabalho no laboratório Apícola da Universidade de Trás – os -Montes e Alto Douro – LABAPIS- UTAD

Ao meu esposo Eustaquio Alves pela dedicação e compreensão na realização desse trabalho.

Ao meu grande amigo Danniel Rocha Bevilaqua pelo apoio e orientação na finalização deste trabalho.

REFERÊNCIAS

Alaux, C., Ducloz, F., Crauser, D. & Le Conte, Y. (2010). Diet effects on honey bee immunocompetence. *Biology Letters*, 6(4), 562-565. DOI: <https://doi.org/10.1098/rsbl.2009.0986>.

Brighenti, C. R. G., Cirillo, M. A. & Brighenti, D. M. (2008). Análise longitudinal na determinação do fotoperíodo adequado para criação de abelhas em laboratório. *Revista Brasileira de Biometria*, 26, (3), 111-124.

Carvalho, S. M., Carvalho, G.A., Carvalho, C. F., Bueno Filho J. S. S. & Baptista, A. P. M. (2009). Toxicidade de acaricidas/inseticidas empregados na citricultura para a abelha africanizada *Apis mellifera* L., 1758 (Hymenoptera: apidae). *Arquivos Instituto Biológico*, 76(4), 597-606. DOI: <https://doi.org/10.1590/1808-1657v76p5972009>.

Forsgren, E. & Fries, I. Comparative virulence of *Nosema ceranae* and *Nosema apis* in individual European honey bees. *Veterinary Parasitology*, 170, (3-4), 212-217, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.02.010>

Huang, K. S., Csaki T., Doublet, V., Dussaubat, C., Evans, J. D., Gajda A. M., Gregorc, A., Hamilton, M.C., Kamler, M., Lecocq, A., Muz, M. N., Neumann, P., Özkirim, A. S., Sohr, A. R., Tanner, G., Tozkar, C. Ö., Williams, G. R., Wu, L., Zheng, H. & Chen, Y. P. (2014) Evaluation of Cage Designs and Feeding Regimes for Honey Bee (Hymenoptera: Apidae) Laboratory Experiments. *Journal of Economic Entomology*, 107, 54-62. DOI: <https://doi.org/10.1603/EC13213>.

Johnson, R. M., Pollock, H. S. & Berenbaum, M. R. (2009). Synergistic interactions between in-hive miticides in *Apis mellifera*. *Journal of Economic Entomology*, 102(2), 474-479. DOI: <https://doi.org/10.1603/029.102.0202>.

Kulincevik, J.M. & Rothenbuhler, W.C. (1972). Laboratory and field measurements of hoarding behavior in the honey bee. *Journal of Apicultural Research*, 12(3), 179-182. DOI <https://doi.org/10.1080/00218839.1973.11099746>.

Maistrello, L., Lodesani, M., Costa, C., Leonardi, F., Marani, G., Caldon, M., Mutinelli, F. & Granato, A. (2008). Screening of natural compounds for the control of nosema disease in honey bees. *Apidologie*, 39, 436-445. DOI: <https://doi.org/10.1051/apido:2008022>.

PAULINO, F. D. G. Alimentação em *Apis Mellifera* L.: EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS E ALIMENTOS 2008. Palestra apresentada no 1. Simpósio de Nutrição e Alimentação Animal realizada na XIII. Semana Universitária da Universidade Estadual do Ceará, 2008.

Pereira, F.M., Freitas, B.M., Neto, J. M.V., Lopes, M. T. R., Barbosa, A.L., Camargo, R. C. R., Ribeiro, V. Q. & Rocha, R. S. (2007). Efeito Tóxico De Alimentos Alternativos Para Abelhas *Apis Mellifera*. *Ciência Rural*, 37(2), 533-538. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782007000200037>.

Pereira, F.M, Lopes, M.T.R, Camargo, R.C.R, Vilela, S.L.O. Sistemas de Produção: Produção de Mel. Embrapa Meio Norte. ISSN 1678-8818 Versão Eletrônica Jul/2003. Acesso 07 do junho de 2022. Disponível

em:https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/territorio_sisal/arvore/CONT000fckg3dhb02wx5eo0a2ndx6qshyx.html

Resende, L, F, S., Brighenti, C, R, G., Brighenti, D, M. & Carvalho, L.M. (2019). Modelos de sobrevivência para avaliação de intoxicação por repelentes a base de Neem em *Trigona spinipes*. *Ciência Agrícola*, 17(1), 37-48. DOI: <https://doi.org/10.28998/rca.v17i1.5183>

SENAR (2010). Abelhas *Apis mellifera*: instalação do apiário / Serviço Nacional de Aprendizagem Rural. 2. ed. Brasília

Turcatto, A.P. Desenvolvimento e análise do efeito de dietas protéicas como suplementação nutricional para abelhas *Apis mellifera*. 2011. 74f. . Dissertação (Mestrado em Ciências) - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Universidade de São Paulo.

Williams, G, R., Alaux, C., Costa, C., Csáki, T., Doublet, V., Elisenhardt, D., Fries, I., Kuhn, R., McMahon, D. P., Medrzycki, P., Tomás & Murray., Myrsini & Natsopoulou., Neumann, P., Oliver, R., Paxton, R. J., Pernal, Stephen. F., Shutler, D., Tanner, G., Steen, J. J.M.V.D. & Brodschneider. (2013). Standard methods for maintaining adult *Apis mellifera* in cages under in vitro laboratory conditions. *Journal of Apicultural Research*; 1,1-36. DOI: <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.52.1.04>