UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FFCLRP – DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENTOMOLOGIA

*Termorregulação em abelhas sem ferrão (Hymenoptera,
Apidae, Meliponini): produção ativa de calor e
metabolismo energético*

Yara Sbrölin Roldão Sbordoni

Tese apresentada à Faculdade de
Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão
Preto da USP, como parte das
exigências para a obtenção do título
de Doutora em Ciências, Área:
Entomologia.

**Ribeirão Preto
2015**

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FFCLRP – DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENTOMOLOGIA

*Termorregulação em abelhas sem ferrão (Hymenoptera,
Apidae, Meliponini): produção ativa de calor e
metabolismo energético*

Yara Sbrölin Roldão Sbordoni

Orientador: Prof. Dr. Fábio Santos Nascimento

Tese apresentada à Faculdade de
Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão
Preto da USP, como parte das
exigências para a obtenção do título
de Doutora em Ciências, Área:
Entomologia.

**Ribeirão Preto
2015**

AUTORIZO A DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

FICHA CATALOGRÁFICA

Roldão-Sbordoni, Yara Sbrolin.

Termorregulação em abelhas sem ferrão (Hymenoptera, Apidae, Meliponini): produção ativa de calor e metabolismo energético.

Ribeirão Preto, 2015.

109 p.: 23 il. 30 cm

Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto - USP. Área de concentração: Entomologia.

Orientador: Nascimento, F. S.

1. Temperatura. 2. Termorregulação. 3. Produção de calor. 4. Metabolismo energético.

Aos meus queridos pais, Dalton e Nelza,

Dedico.

Agradecimentos

Na minha caminhada desses últimos anos, posso dizer que aprendi muito e que conheci pessoas maravilhosas... TODOS possuem um lugar no meu coração!

Agradeço à Deus, pela dádiva da vida e por permitir que eu viva de uma maneira tão intensa o meu presente! Agradeço também a todos os Orixás pelas bênçãos e proteção.

Agradeço imensamente a minha família, meus pais queridos e minhas irmãs que nunca me abandonaram, nem nos momentos em que eu me senti sozinha. Vocês são meu porto seguro na vida, para sempre. Amo vocês!!!

Ao meu querido esposo por todo o carinho, incentivo, dedicação e ajuda (principalmente nos últimos meses, rs). Muito obrigada meu amor! Amo você!!!

Ao Prof. Dr. Fábio Santos Nascimento pela oportunidade de desenvolver esse trabalho, pela orientação, dedicação e pela paciência. Sei que além de orientador, tenho um amigo. Muito obrigada!

Agradeço ao querido Dr. Sidnei Mateus, que além de um ótimo técnico e colaborador do trabalho é um super amigo. Muito obrigada por toda ajuda no desenvolvimento deste trabalho, pelas conversas, pelo incentivo e dedicação.

Aos colaboradores deste trabalho, sem os quais não seria possível o desenvolvimento do mesmo. Dr. Guilherme Gomes, pela dedicação e amizade e Prof. Dr. Wilfried Klein, pela dedicação e apoio. Obrigada!

À minha querida amiga Joyce, que sempre está presente. Muito obrigada pela amizade, pelas conversas e por estar sempre pronta a ajudar. Adoro você demais!

Agradeço às minhas queridas amigas, Maria Juliana e Maria Cláudia, por toda a força e carinho comigo! Adoro vocês! Muito obrigada! Agradeço também com muito carinho a todos os amigos do laboratório: Daniela, Gláucya, Aline “Borbinha”, Aline “Candinha”, Lohan, Hipólito, Lindinberg (Gui), Ivelize, Salsas e Ayrton que tornaram essa caminhada muito mais leve e divertida. Obrigada!

Às secretárias do Programa de Pós-Graduação, Renata e Vera, pela paciência, ajuda e amizade. Vocês são especiais meninas! Obrigada!

Agradeço aos demais professores que sempre estão contribuindo para a minha formação. Prof. Dr. Carlos Alberto Garófalo, Prof. Dr. Ronaldo Zucchi e Prof. Dr. Michael Hrnir, muito obrigada pelas conversas, ideias e incentivo.

À Universidade de São Paulo e a Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto pela estrutura e ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia pelo apoio.

Agradeço à CAPES pela bolsa concedida durante o desenvolvimento deste trabalho.

Dream on
(Aerosmith)

Every time that I look in the mirror
All these lines on my face getting clearer
The past is gone
It went by like dusk to dawn
Isn't that the way
Everybody's got their dues in life to pay

Yeah, I know nobody knows
Where it comes and where it goes
I know it's everybody's sin
You got to lose to know how to win

Half my life's in books' written pages
Live and learn from fools and from sages
You know it's true
All the things you do come back to you

Sing with me, sing for the years
Sing for the laughter and sing for the tears
Sing with me, if it's just for today
Maybe tomorrow the good Lord will take you away

Well, sing with me, sing for the years
Sing for the laughter and sing for the tears
Sing with me, if it's just for today
Maybe tomorrow the good Lord will take you away

Dream on, dream on, dream on
Dream until your dream comes true
Dream on, dream on, dream on
And dream until your dream comes true

Dream on! Dream on! Dream on!
Dream on! Dream on! Dream on! Dream on!!!

Sumário

LISTA DE FIGURAS.....	i
LISTA DE TABELAS.....	iv
RESUMO.....	vi
ABSTRACT.....	vii
CAPÍTULO 1. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
1. Introdução	2
1.1. A tribo Meliponini.....	4
1.2. Temperatura do ninho, temperatura corpórea e termorregulação.....	7
1.3. Metabolismo e taxa metabólica.....	11
1.4. Justificativa, objetivos e organização da tese	12
Referências Bibliográficas.....	15
CAPÍTULO 2. MECANISMOS DE TERMORREGULAÇÃO.....	24
2. Introdução.....	25
2.1. Objetivos.....	31
2.2. Material e Métodos.....	32
2.2.1. Registro das temperaturas.....	32
2.2.2. Produção de calor.....	34
2.3. Resultados.....	38
2.3.1. Registro das temperaturas no período seco: <i>Plebeia droryana</i>	38
2.3.2. Registro das temperaturas no período seco: <i>Frieseomelitta varia</i>	42
2.3.3. Registro das temperaturas no período seco: <i>Melipona scutellaris</i>	46
2.3.4. Registro das temperaturas no período chuvoso: <i>Plebeia droryana</i>	49
2.3.5. Registro das temperaturas no período chuvoso: <i>Frieseomelitta varia</i>	52
2.3.6. Registro das temperaturas no período chuvoso: <i>Melipona scutellaris</i>	55

2.3.7. Termogênese da cria.....	58
2.3.8. Temperatura da superfície corpórea.....	62
2.4. Discussão.....	70
Referências Bibliográficas.....	75
 CAPÍTULO 3. METABOLISMO ENERGÉTICO DE INDIVÍDUOS.....	81
3. Introdução.....	82
3.1. Objetivos.....	85
3.2. Material e Métodos.....	86
3.2.1. Metabolismo energético.....	86
3.3. Resultados.....	90
3.4. Discussão.....	99
Referências Bibliográficas.....	103
 CAPÍTULO 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	106

Lista de Figuras

- Figura 1.** Esquema de um ninho de *Melipona*. Batume inferior com canais de drenagem. (Modificado de Posey & Camargo, 1985) 10
- Figura 2.** Colônias de abelhas sem ferrão. (A) Termômetros na colônia de *Melipona scutellaris*: na área de cria e na periferia do ninho. (B) Colônia de *Melipona scutellaris* isolada externamente com isopor e com sensores conectados à data-loggers e (C) Colônia de *Frieseomelitta varia*..... 34
- Figura 3.** Imagem da termocâmera em *Melipona scutellaris* à 25°C, exemplificando as marcações no favo de cria para verificar as temperaturas registradas..... 38
- Figura 4.** Variação da temperatura no período seco em colônias de *Plebeia droryana*. Temperaturas médias (A), mínimas (B) e máximas (C) registradas no ambiente (externa), na sala do laboratório e nas três colônias experimentais..... 41
- Figura 5.** Comparação das temperaturas médias (A) e das variações diárias de temperatura (B) no período seco em *Plebeia droryana*..... 42
- Figura 6.** Variação da temperatura no período seco em colônias de *Frieseomelitta varia*. Temperaturas médias (A), mínimas (B) e máximas (C) registradas no ambiente (externa), na sala do laboratório e nas três colônias experimentais..... 44
- Figura 7.** Comparação das temperaturas médias (A) e das variações diárias de temperatura (B) no período seco em *Frieseomelitta varia*..... 45
- Figura 8.** Variação da temperatura no período seco em colônias de *Melipona scutellaris*. Temperaturas médias (A), mínimas (B) e máximas (C) registradas no ambiente (externa), na sala do laboratório e nas três colônias experimentais..... 48
- Figura 9.** Comparação das temperaturas médias (A) e das variações diárias de temperatura (B) no período seco em *Melipona scutellaris*..... 49

Figura 10. Variação da temperatura no período chuvoso em colônias de *Plebeia droryana*. Temperaturas médias (A), mínimas (B) e máximas (C) registradas no ambiente (externa), na sala do laboratório e nas três colônias experimentais..... **51**

Figura 11. Comparação das temperaturas médias (A) e das variações diárias de temperatura (B) no período chuvoso em *Plebeia droryana*..... **52**

Figura 12. Variação da temperatura no período chuvoso em colônias de *Frieseomelitta varia*. Temperaturas médias (A), mínimas (B) e máximas (C) registradas no ambiente (externa), na sala do laboratório e nas três colônias experimentais..... **54**

Figura 13. Comparação das temperaturas médias (A) e das variações diárias de temperatura (B) no período chuvoso em *Frieseomelitta varia*..... **55**

Figura 14. Variação da temperatura no período chuvoso em colônias de *Melipona scutellaris*. Temperaturas médias (A), mínimas (B) e máximas (C) registradas no ambiente (externa), na sala do laboratório e nas três colônias experimentais..... **57**

Figura 15. Comparação das temperaturas médias (A) e das variações diárias de temperatura (B) no período chuvoso em *Melipona scutellaris*..... **58**

Figura 16. Termogênese da cria. Excesso de temperatura nas caixas experimentais e na caixa controle em diversas temperaturas (temperaturas incubadas)..... **60**

Figura 17. Comparação entre as temperaturas superficiais dos indivíduos presentes na área de cria e dos favos de acordo com as temperaturas de incubação..... **64**

Figura 18. Imagens térmicas das espécies estudadas (A) *Plebeia droryana*, (B) *Frieseomelitta varia* e (C) *Melipona scutellaris* à 32,5°C..... **67**

Figura 19. Abelhas incubadoras. (A) Área de cria de *Frieseomelitta varia* à 32,5°C. (B) Área de cria de *Melipona scutellaris* à 27,5°C..... **69**

Figura 20. Temperaturas superficiais torácicas das abelhas incubadoras e de abelhas não incubadoras presentes na área de cria à 27,5°C..... **70**

Figura 21. Exemplificação da seringa fechada, nesta imagem com abelhas *Frieseomelitta varia*..... **87**

Figura 22. Taxas metabólicas médias das 10 repetições realizadas individualmente e com o grupo de 5 indivíduos para as três espécies de abelhas estudadas..... **92**

Figura 23. Taxas metabólicas das 7 repetições do grupo de 5 indivíduos $\pm$ erro padrão, em diferentes temperaturas para as espécies *M. scutellaris* (preto), *F. varia* (vermelho) e *P. droryana* (verde)..... **94**

Lista de Tabelas

Tabela 1. Temperaturas registradas e variação diária durante o período seco em colônias de <i>Plebeia droryana</i>	39
Tabela 2. Temperaturas registradas e variação diária durante o período seco em colônias de <i>Frieseomelitta varia</i>	43
Tabela 3. Temperaturas registradas e variação diária durante o período seco em colônias de <i>Melipona scutellaris</i>	47
Tabela 4. Temperaturas registradas e variação diária durante o período chuvoso em colônias de <i>Plebeia droryana</i>	50
Tabela 5. Temperaturas registradas e variação diária durante o período chuvoso em colônias de <i>Frieseomelitta varia</i>	53
Tabela 6. Temperaturas registradas e variação diária durante o período chuvoso em colônias de <i>Melipona scutellaris</i>	56
Tabela 7. Temperaturas registradas nos experimentos de termogênese da cria.....	61
Tabela 8. Temperaturas médias, mínimas e máximas registradas na superfície do favo na área de cria dentro das colônias em diferentes temperaturas de incubação (estufa) nas três espécies estudadas.....	66
Tabela 9. Médias da taxa metabólica das três espécies estudadas. Estão representados os valores da massa, perda evaporativa de água, o volume de oxigênio, de dióxido de carbono e quociente respiratório	91
Tabela 10. Análises estatísticas mostrando dados significativos entre os valores de VO ₂ , VCO ₂ , perda hídrica e QR, entre os fatores espécie e n (individual ou grupo de 5 indivíduos) durante o experimento em temperatura ambiente.....	92
Tabela 11. Análises estatísticas mostrando dados significativos entre os valores de VO ₂ , VCO ₂ , perda hídrica e QR, durante o experimento em diversas temperaturas.....	94

Tabela 12. Médias da taxa metabólica de grupos de 5 indivíduos das três espécies estudadas submetidas à diversas temperaturas..... **95**

Tabela 13. Comparação entre os fatores espécie vs. temperatura (Bonferroni t-test) para o volume de oxigênio em diversas temperaturas..... **96**

Tabela 14. Comparação entre os fatores espécie vs. temperatura (Bonferroni t-test) para o volume de dióxido de carbono em diversas temperaturas..... **97**

Tabela 15. Comparação entre os fatores espécie vs. temperatura (Bonferroni t-test) para a perda evaporativa de água em diversas temperaturas..... **98**

Resumo

As abelhas sociais são classificadas como animais heterotérmicos, ou seja, podem ser endotérmicas e ectotérmicas de acordo com a necessidade do ninho ou do indivíduo. As abelhas sem ferrão eram conhecidas por apresentarem uma termorregulação passiva, onde o invólucro, seria o responsável pela manutenção da temperatura na área de cria. Entretanto, acreditava-se em uma produção de calor ativo como apresentado em abelhas *Apis mellifera*, embora nunca tenha sido estudado. O objetivo principal do presente trabalho foi verificar a produção de calor ativo por meio das operárias adultas e da cria e relacionar essa produção de calor com a termorregulação passiva e o consumo de oxigênio. Foram utilizadas colônias de abelhas sem ferrão *Melipona scutellaris*, *Frieseomelitta varia* e *Plebeia droryana* mantidas em laboratório. Os resultados obtidos mostraram que a temperatura na área de cria foi sempre maior que na periferia do ninho. Foi verificado que os imaturos produzem calor metabólico e que o invólucro é o responsável pelo isolamento do calor produzido. Além disso, as operárias presentes nas áreas de cria apresentaram temperaturas superficiais torácicas elevadas, sugerindo um incremento na produção de calor na área de cria. Foi observado que as abelhas consomem menos oxigênio quando estão em grupo do que individualmente, sugerindo uma cooperação entre as abelhas ou uma redução de stress em grupo entre as abelhas que pode estar relacionada com a termorregulação colonial. Este trabalho traz novas possibilidades para os estudos de termorregulação, pois confirma a produção de calor ativo em abelhas sem ferrão, até no momento desconhecido.

Abstract

Social bees are classified as heterothermic animals, may be both endothermic and ectothermic according to the necessity of the colony or the individual. The stingless bees are known because the passive thermoregulation, which the involucre would be responsible for maintenance of the brood area temperature. However, it has been believed in an active heat production as shown in honeybees, although it not studied so far. The aim of the present study was to verify the active heat production through adult workers and brood, and to correlate the heat production with the passive thermoregulation and the oxygen consumption. We used colonies of stingless bees *Melipona scutellaris*, *Frieseomelitta varia* and *Plebeia droryana* maintained in laboratory. Our results showed that the brood area temperature was higher than the nest periphery temperature. We also verified that the immature produces metabolic heat, and that the involucre is responsible by the isolation of the produced heat. Furthermore, the workers engaged on the brood area had their thoracic surface temperatures higher than other workers, which suggest the increasing of the heat production in the brood area. Bees consumed less oxygen “in group” than when they are individually tested. This study brings new possibilities to the thermoregulation studies, because it confirms the active heat production in stingless bees.

*"Como a abelha trabalha na escuridão,
o pensamento trabalha no silêncio
e a virtude no segredo."*

Mark Twain

CAPÍTULO 1

Introdução geral

Resumo

Nos animais, as duas principais estratégias térmicas são a ectotermia, onde a temperatura corporal é determinada por fatores externos e a endotermia, onde há uma regulação fisiológica da temperatura corporal. Em alguns insetos, como as abelhas, encontra-se uma terceira estratégia térmica denominada heterotermia, ou endotermia temporal, a qual os indivíduos regulam temporariamente sua temperatura corporal. Além da heterotermia, as abelhas sociais possuem a capacidade de regular a temperatura dentro de seus ninhos, o que pode ser chamado de endotermia colonial. Para o desenvolvimento bem sucedido da cria é fundamental que exista uma temperatura adequada na área de cria para cada espécie. A temperatura da área de cria é mantida por meio de mecanismos de aquecimento e resfriamento. Enquanto em abelhas melíferas esta termorregulação ocorre de forma ativa (produção de calor pelos indivíduos), nas abelhas sem ferrão (Apidae, Meliponini), até o momento acreditava-se que ocorria apenas por meio passivos (local de nidificação, adaptações estruturais, entre outros). As abelhas sem ferrão são encontradas em regiões tropicais e subtropicais, assim, estão presentes em todo o território brasileiro. O objetivo deste trabalho foi observar a variação de temperatura dentro de ninhos das três espécies estudadas e verificar a produção de calor dentro dos ninhos, apresentando uma termorregulação ativa em abelhas sem ferrão.

1. Introdução

A vida ativa dos animais limita-se a uma faixa restrita de temperaturas que varia de alguns graus abaixo de 0°C até aproximadamente 50°C. Deste modo, não há uma maneira simples de classificar as várias reações metabólicas de um organismo com o ambiente térmico (Kay, 1998; Schmidt-Nielsen, 2002; Moyes & Schulte, 2010).

As duas principais estratégias térmicas são denominadas ectotermia e endotermia. Na ectotermia, é necessária a troca de calor entre o animal e o ambiente, sendo a principal fonte de calor a radiação solar. Entretanto, animais endotérmicos são capazes de manter uma temperatura corpórea elevada, pois conseguem controlar e regular a temperatura de seus organismos, equilibrando

o ganho e perda de calor. A produção de calor pelo metabolismo do organismo é um aspecto fundamental dessa regulação, ou seja, variando a taxa metabólica do organismo, o animal endotérmico pode alterar a intensidade da produção de calor mantendo uma temperatura corpórea constante (Moritz & Southwick, 1992; Heinrich, 1993; Pough *et al.*, 1993; Schmidt-Nielsen, 2002; Moyes & Schulte, 2010).

Os insetos são geralmente pertencentes ao grupo dos ectotérmicos, embora os insetos sociais da ordem Hymenoptera (que abrange as abelhas, vespas e formigas), apresentem uma estratégia térmica diversificada denominada heterotermia. A heterotermia é uma estratégia térmica de endotermia temporal que consiste em uma combinação de mecanismos entre endotermia e ectotermia (Heinrich, 1993; Moyes & Schulte, 2010). Assim, devido à sua temperatura corporal ser próxima à temperatura ambiente quando está em inatividade, as abelhas são ectotérmicas, mas entretanto, quando estão em atividades motoras são capazes de regular a sua temperatura corporal acima ou abaixo da temperatura ambiente, sendo consideradas assim endotérmicas (Heinrich, 1981; 1993; Carvalho, 2009).

A diferença entre a fisiologia e o comportamento termorregulatório pode ser difícil de ser avaliado, devido que muitos insetos podem ser endotérmicos ou ectotérmicos, dependendo das circunstâncias do ambiente (Carvalho, 2009). Assim, a termorregulação em alguns insetos conferiu uma vantagem que provavelmente contribuiu para o desenvolvimento da organização social, para a conquista de diversos ambientes (como desertos e florestas tropicais) e para a polinização e consequente sucesso das espécies vegetais. A termorregulação em insetos tem sido objeto de investigação há muitos anos (Heinrich, 1993;

Carvalho, 2009). Além disso, as abelhas sociais apresentam capacidade de regulação do micro clima dentro dos ninhos conhecida como endotermia intracolonial (Heinrich, 1993). A manutenção da homeostase do ninho é um aspecto importante nas abelhas sociais, uma vez que a sobrevivência da cria depende do controle da umidade relativa e da termorregulação intracolonial. A capacidade de termorregulação intracolonial é decorrente, em parte, das características estruturais do ninho, que auxiliam na isolamento térmica, como também da endotermia dos indivíduos durante suas atividades no ninho (Heinrich, 1993; Carvalho, 2009).

1.1. A tribo Meliponini

De acordo com a classificação de Michener (2000), as abelhas estão agrupadas na superfamília Apoidea que, por sua vez, é constituída por diversas famílias, entre elas a família Apidae. A subfamília Apinae ou abelhas corbiculadas é dividida em diversas tribos, sendo as mais conhecidas: (1) Tribo Euglossini, conhecidas comumente como “abelhas das orquídeas”, (2) Tribo Bombini, onde estão presentes as mamangavas, (3) Tribo Apini, que é o grupo mais popularmente conhecido e representado pelas abelhas melíferas e, (4) Tribo Meliponini, que agrupa vários gêneros, entre eles os gêneros *Melipona*, *Frieseomelitta*, *Plebeia*, entre outros (Michener, 2000).

As abelhas do grupo Meliponini corresponde às abelhas denominadas “sem ferrão” por apresentarem ferrão atrofiado ou vestigial (Michener, 2000). A organização social dessas abelhas é constituída por duas castas, onde a rainha é responsável pela postura dos ovos e as operárias pela manutenção do ninho (Michener, 1974; Nogueira-Neto, 1997). As abelhas sem ferrão são encontradas

nas regiões tropicais e subtropicais, o que inclui todo o território brasileiro, demonstrando assim grande habilidade de adaptação à muitas temperaturas e ambientes. Existem mais de 400 espécies diferentes de Meliponini distribuídas pela região neotropical.

A estruturação da arquitetura do ninho é uma característica peculiar dos meliponíneos. Os ninhos possuem várias estruturas (que variam conforme a espécie) como o tubo de entrada, batume, potes de alimento, células de cria, invólucro e, em determinadas espécies do gênero *Trigona*, um escutelo (Michener, 1974; Sakagami, 1982). A área de cria é a estrutura de maior relevância no ninho, uma vez que nela estão presente os imaturos. De acordo com a espécie, os favos podem ser em forma de cacho, como é o caso da *Frieseomelitta varia*, ou em forma de discos horizontais, como em *Melipona scutellaris* e *Plebeia droryana* (Michener, 1974; Sakagami, 1982; Nogueira-Neto, 1997). Além disso, pode-se encontrar em espécies de abelhas sem ferrão células reais, que são células de tamanho maior, onde são geradas rainhas virgens para a colônia. Contudo, no gênero *Melipona* não ocorre a construção desse tipo de células, assim rainhas, operárias e machos se desenvolvem e emergem dentro de células de cria de tamanho similar (Sakagami, 1982; Kerr *et al.*, 1996; Nogueira-Neto, 1997; Michener, 2000; Jarau *et al.*, 2010).

A alimentação da maioria das espécies de abelhas é constituída por néctar, fonte de carboidratos, e pólen, que contém não apenas proteínas, como também lipídios e carboidratos das flores (Seeley, 2006). Porém, existem espécies de meliponíneos que são exceção, como a *Trigona hypogea*, *T. necrophaga* e *T. crassipes* que são necrófagas, utilizando carcaças frescas de animais para sucção de sais e maceração (Mateus & Noll, 2004).

Infelizmente, as ações predatórias do homem diminuem cada vez mais o número de colônias de abelhas nativas nas matas brasileiras (Roubik, 1989; Aidar & Campos, 1998). Além disso, existe outro fator que também auxilia nessa diminuição, as mudanças climáticas. O recente aquecimento global tem impactos ambientais intensos que afetam a biodiversidade de várias regiões do planeta (Marengo *et al.*, 2009a). Frente às mudanças climáticas atuais e ao aquecimento global previsto para as próximas décadas (Marengo *et al.*, 2009b), o conhecimento dos mecanismos de termorregulação animal é um assunto de bastante relevância. Estes estudos não somente são importantes para entender e prever o impacto das mudanças climáticas para as comunidades ecológicas, como também podem inspirar métodos alternativos de arquitetura e construção econômica e autossustentável para o ser humano (Turner, 2002; Gould & Gould, 2007).

A abelha *Melipona scutellaris* é conhecida popularmente como Uruçu do Nordeste. É uma abelha típica do Nordeste brasileiro, região onde se encontram muitas espécies de abelhas sociais nativas e com tradição no manejo e na criação racional destas, conhecida como meliponicultura (Kerr *et al.*, 1996; Maracajá, 2006). Contudo, essas abelhas também estão presentes na região Sudeste, onde pode-se notar a adaptação destas a regiões um pouco mais frias que o Nordeste brasileiro. As abelhas *M. scutellaris* são de fácil criação e geralmente as colônias são de aproximadamente 300 a 600 indivíduos (Lindauer & Kerr, 1960; Nogueira-Neto, 1970). As abelhas *Plebeia droryana*, assim como as abelhas *Frieseomellita varia*, são típicas dessa região do país, mas se adaptam bem em algumas regiões do Centro-Oeste brasileiro. As abelhas do gênero *Plebeia* e *Frieseomellita* são tipicamente utilizadas para a produção de

mel nestas regiões e evidenciam uma facilidade de adaptação a muitas regiões do país, sendo estas, quentes ou com temperaturas mais amenas. Além disso, os ninhos de *Frieseomelitta varia* costumam ser populosos (aproximadamente 20.000 indivíduos) (Nogueira-Neto, 1970; Nogueira-Neto, 1997; Moure *et al.*, 2007).

1.2. Temperatura do ninho, temperatura corpórea e termorregulação

Para o bom desenvolvimento das atividades de uma colônia de inseto social, em analogia com animais homeotérmicos, a capacidade termorregulatória desses insetos levou a certa independência fisiológica de previsíveis e imprevisíveis variações climáticas no ambiente externo, e provavelmente é uma das causas para seu sucesso ecológico (Wilson, 1971; Heinrich, 1993; Jones & Oldroyd, 2007). Em razão à sua independência térmica, indivíduos de colônias de insetos sociais conseguem permanecer ativos em temperaturas as quais insetos não-sociais de tamanho similar não resistem ao frio ou procuram abrigo para fugir do calor (Heinrich, 1993; Jones & Oldroyd, 2007).

O modelo para o controle da temperatura do ninho e, provavelmente, o inseto social melhor estudado quanto a sua capacidade termorregulatória é a abelha *Apis mellifera*. Essa abelha nidifica em cavidades naturais ou artificiais e mesmo em temperaturas ambientais acima de 40°C (Lindauer, 1954) ou abaixo de 0°C (Southwick, 1987) a temperatura dentro do ninho varia somente entre 33 e 36°C (Seeley, 1985; Fahrenholz *et al.*, 1989; Heinrich, 1993; Kleinhenz *et al.*, 2003; Tautz *et al.*, 2003; Jones *et al.*, 2005; Jones & Oldroyd, 2007). As colônias mantêm essa temperatura estável por meio de atividades físicas das operárias. Assim, em períodos frios, as operárias aquecem o ninho por meio da produção

de calor metabólico (Heinrich, 1980; 1993; Heinrich & Esch, 1994; Jones & Oldroyd, 2007) e em períodos quentes, em temperaturas acima de 36°C, as abelhas vibram as asas para gerar uma corrente de ar ou utilizam água para evaporação e assim resfriar o ninho (Winston, 1987). Jones & Oldroyd (2007) classificaram esse tipo de regulação da temperatura como termorregulação ativa, pois nesse mecanismo as abelhas melíferas utilizam atividades fisiológicas como por exemplo a ativação dos músculos do tórax (Heinrich & Esch, 1994). Essa termorregulação ativa é decisiva para o desenvolvimento da cria (Lindauer, 1954; Seeley, 1985; Heinrich, 1993; Kleinhenz *et al.*, 2003; Jones & Oldroyd, 2007).

Indivíduos durante seu estágio pupal expostos às temperaturas acima ou abaixo da considerada faixa ótima sofrem deficiências morfológicas, fisiológicas ou comportamentais quando adultos (Himmer, 1927; Heinrich, 1993; Mardan & Kevan, 2002; Tautz *et al.*, 2003; Jones *et al.*, 2005; Roldão, 2011).

Em comparação com as abelhas *Apis mellifera*, pouco se sabe a respeito das temperaturas ótimas no interior do ninho ou aos potenciais mecanismos de termorregulação em abelhas sem ferrão. Até o momento, uma pequena parte da grande variedade de espécies de abelhas sem ferrão foi investigada quanto à sua capacidade termorregulatória, a maioria dos estudos compreendem as temperaturas que ocorrem dentro dos ninhos.

Como em outros insetos sociais, a temperatura do ninho é um parâmetro decisivo para a sobrevivência da colônia em abelhas sem ferrão. A produção e o desenvolvimento bem sucedido da cria dependem de temperaturas estáveis com poucas oscilações (Velthuis *et al.*, 1999; Roubik & Peralta, 1983; Jones & Oldroyd, 2007). Zucchi & Sakagami (1972), Roubik & Peralta (1983) e Jones &

Oldroyd (2007) mostraram que em abelhas sem ferrão o controle da temperatura era devido à função de uma estrutura específica do ninho presente em muitas espécies de abelhas sem ferrão, o invólucro (mistura de cera e resina), que envolve a área de cria e que pode ser visto como uma adaptação estrutural que auxilia na retenção de calor. Assim, o mecanismo de regulação da temperatura em abelhas sem ferrão foi denominado por Jones & Oldroyd (2007) de termorregulação passiva. Porém, o fator provavelmente mais importante para certificar temperaturas relativamente constantes na área de cria, pouco influenciada pelas variações na temperatura do ambiente, é a escolha de um lugar apropriado para o ninho (Jones & Oldroyd, 2007). O isolamento térmico de árvores e do chão (locais onde geralmente as abelhas sem ferrão nidificam) faz com que oscilações na temperatura do ambiente sejam diminuídas, resultando em temperaturas mais estáveis dentro das cavidades (Wille & Michener, 1973; Sedgeley, 2001; Wiebe, 2001; Willis & Brigham, 2007).

Além desse isolamento natural, várias espécies de meliponíneos aumentam a independência térmica dos seus ninhos por meio de camadas protetoras feitas de cera, resinas e barro como, por exemplo, o invólucro, o escutelo e o batume, sendo assim um isolamento estrutural (Zucchi & Sakagami, 1972; Wille & Michener, 1973; Michener, 1974; Figura 1). Foi verificado por Roldão (2011) que além dessas isolações térmicas, os imaturos presentes na área de cria possuem um papel importante na produção de calor.

Figura 1. Esquema de um ninho de *Melipona*. Batume inferior com canais de drenagem. (modificado de Posey & Camargo, 1985).

Contudo, as abelhas possuem uma termorregulação fisiológica, principalmente para atividades com bastante gasto metabólico como a atividade de voo. Por esse motivo, o tórax é a estrutura corpórea cuja temperatura da superfície corpórea atrai maior atenção quanto à produção de calor. Harrison (1987), Roberts & Harrison (1998) e Kovac *et al.* (2009) observaram que a temperatura da superfície do tórax foi superior às temperaturas de outras partes do corpo. Pacheco & Kerr (1989) encontraram em *Apis mellifera* temperaturas de 34,3°C na superfície do tórax de operárias saindo da colônia, uma temperatura de 1,6°C mais alta em comparação com a cabeça e o abdômen destes mesmos indivíduos. A temperatura da superfície corpórea é muito utilizada para tentar entender os mecanismos termorregulatórios das abelhas

dentro de seus ninhos, embora, até o momento, tais estudos tenham utilizado como modelo somente a espécie *Apis mellifera* (Stabentheiner *et al.*, 2010).

1.3. Metabolismo e taxa metabólica

Os fatores limitantes para a vida em cavidades, como a das abelhas sem ferrão, são a ventilação e a troca eficiente de oxigênio e dióxido de carbono (Turner, 2001; Jones & Oldroyd, 2007). Nas abelhas, parte da troca de gases certamente é realizada por meio da entrada do ninho (Moritz & Crewe, 1988; veja Figura 1). No entanto, Nogueira-Neto (1948) demonstrou que a maior parte da aeração dos ninhos foi realizada por estruturas, principalmente o batume (Figura 1). Assim, as estruturas dos ninhos de abelhas sem ferrão sugerem um sistema de ventilação no qual o ar aquecido pela atividade metabólica das abelhas adultas e da cria perde calor, trocando dióxido de carbono por oxigênio ao longo do processo e realizando, assim, o ciclo respiratório da colônia.

A respiração e o metabolismo são processos essenciais que caracterizam o potencial ecológico das espécies. Essa sensibilidade metabólica e termal determina as relações entre o inseto e o ambiente (Kovac *et al.*, 2014). Além disso, a taxa metabólica padrão é um importante parâmetro de metabolismo energético na vida dos insetos, ou seja, isso representa os gastos energéticos de simples subsistência, determinando a padronização da energia mínima gasta por indivíduo e relacionando o gasto de energia com as atividades particulares de cada indivíduo (Kovac *et al.*, 2007; Kovac *et al.*, 2014).

O sistema de respirometria é uma ferramenta versátil e eficaz para a descoberta científica, pois a taxa metabólica de um animal é afetada por muitos parâmetros, sendo estes externos, como a temperatura e concentrações de

gases, assim como internos, como o estado hormonal e o nível de atividade (Lighton & Halsey, 2011).

Em abelhas sem ferrão, a capacidade termorregulatória das operárias foi inferida por meio de estudos do metabolismo aeróbio (Proni & Hebling, 1996; Françoso Jr. & Bicudo, 2000; Proni & Macieira, 2004; Macieira & Proni, 2005; Loli, 2008). Em *Melipona bicolor*, medidas do consumo de oxigênio das operárias indicaram que colônias com 500 indivíduos adultos dependem cerca de 300 W (equivalente a $\cong 6$ kg de glicose) por dia para manter a temperatura dentro do ninho a 4°C acima daquela encontrada no ambiente (Françoso Jr., 1999). Assim, mudanças nas taxas respiratórias ao longo do dia (Proni & Macieira, 2004; Loli, 2008) e diferenças entre essas taxas durante períodos, como o de verão e inverno (Proni & Hebling, 1996; Macieira & Proni, 2005), apontam para uma termorregulação ativa dos meliponíneos. Esses resultados demonstram um ciclo no gasto de energia dos indivíduos. De acordo com Zucchi & Sakagami (1972), Proni & Hebling (1996) e Torres *et al.* (2007), a temperatura na área de cria aumentou depois que as operárias elevaram sua taxa respiratória nas espécies de abelhas sem ferrão estudadas (*Trigona spinipes*, *Tetragonisca angustula*).

Todos esses estudos apontam algum tipo de relação do metabolismo energético com a termorregulação das abelhas sem ferrão, assim, proporcionando mais uma oportunidade para entender como são os mecanismos dessa regulação da temperatura.

1.4. Justificativa, objetivos e organização da tese

Pensando na capacidade de resiliência das abelhas sem ferrão frente a um aquecimento global e demais mudanças climáticas, é decisivo compreender as

respostas comportamentais e a termorregulação de diversas espécies, assim como o impacto das mudanças na temperatura ambiental no desenvolvimento das colônias. Devido à grande diversidade de espécies nesse grupo de abelhas sociais, em que cada uma tem sua função particular e importante no ecossistema (Michener, 1974; 2000; Roubik, 1989; Silveira *et al.*, 2002; Camargo & Pedro, 2008), foi necessário a escolha das três espécies para conhecer a capacidade termorregulatória. O estudo de algumas espécies pode contribuir para determinar estratégias de conservação das abelhas sem ferrão, e consequentemente ajudar na preservação do ecossistema que depende da presença desses polinizadores (Turner, 2002; Gould & Gould, 2007). Assim, estudos como este são importantes para entender e prever o impacto das mudanças climáticas para as comunidades ecológicas. Tendo em vista as mudanças climáticas previstas para as próximas décadas (Marengo *et al.*, 2009a), os mecanismos de termorregulação das abelhas sem ferrão são assunto de principal importância.

Existem duas hipóteses (provavelmente complementares) sobre como as abelhas sem ferrão condicionam uma temperatura na área de cria mais elevada. Roubik & Peralta (1983) sugeriram que os imaturos, as larvas e pupas seriam a fonte do calor. As temperaturas da área de cria foram registradas em *Melipona seminigra* e *Melipona rufiventris*, que apresentaram temperaturas de 31 a 32°C, enquanto a temperatura ambiente oscilou entre 23 e 30°C. Apesar das temperaturas torácicas de abelhas adultas no ninho variarem entre 33 a 36,4°C e, assim superarem as temperaturas encontradas na área de cria, os autores duvidaram que houvesse uma influência significativa das operárias nas temperaturas do ninho, não realizando experimentos com a área de cria sem

indivíduos adultos (Roubik & Peralta, 1983). Roldão (2011) verificou que em *Melipona scutellaris* existiu produção de calor pelos imaturos em aproximadamente 0,6°C, utilizando apenas imaturos para os testes.

A segunda hipótese indica que as operárias produziram ativamente o calor necessário para elevar a temperatura na área de cria. Esse mecanismo é bem conhecido em abelhas melíferas, citado anteriormente, onde as operárias geram calor metabólico por meio de vibrações torácicas (Kleinhenz *et al.*, 2003; Stabentheiner *et al.*, 2003; Jones & Oldroyd, 2007).

Para melhor organização dos resultados obtidos, a tese foi dividida em capítulos, que têm como principal objetivo investigar os mecanismos de regulação da temperatura em abelhas sem ferrão. Visto a relevância do assunto em virtude das atuais mudanças ambientais, surgiram questões que orientaram o trabalho e permitiram testar as hipóteses acima citadas:

- ❖ Conhecer e analisar os mecanismos de termorregulação das espécies de abelhas sem ferrão e compreender a capacidade termorregulatória dessas abelhas.
- ❖ Verificar a relação entre termorregulação das abelhas sem ferrão com o metabolismo energético das mesmas e a temperatura da superfície corpórea.
- ❖ Comparar os dados obtidos nas diferentes espécies estudadas, uma vez que as mesmas possuem diferenças entre estruturas do ninho, tamanho e funções peculiares de cada espécie.

Referências Bibliográficas

AIDAR, D. S. & CAMPOS, L. A. O. 1998. **Manejo e manipulação artificial de colônias de *Melipona quadrifasciata* Lep. (Apidae: Meliponinae).** Anais da Sociedade Entomológica do Brasil. **27(1)**: 157-159.

CAMARGO, J. M. F. & PEDRO, S. R. M. 2008. **Meliponini Lepeletier, 1836.** In: J. S. Moure, D. Urban & G. A. R. Melo (Org.). **Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region.** Curitiba: Sociedade Brasileira de Entomologia. 272-578p.

CARVALHO, M. D. F. 2009. **Temperatura da superfície corpórea e perda de calor por convecção em abelhas (*Apis mellifera*) em uma região semi-árida.** Dissertação de Mestrado. Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Mossoró/RN. 47p.

FAHRENHOLZ, L.; LAMPRECHT, I. & SCHRICKER, B. 1989. **Thermal investigations of a honeybee colony: thermoregulation of the hive during summer and winter and heat production of members of different bee castes.** Journal of Comparative Physiology B. **159**: 551-560.

FRANÇOZO JR., O. A. 1999. **Estudo comparativo do metabolismo aeróbico de *Melipona bicolor* Lepeletier (Hymenoptera: Apidae: Meliponinae).** Tese de doutorado. Universidade de São Paulo. Brasil.

FRANCOSO JR., O. A. & BICUDO, J. E. P. W. 2000. **Estudo comparativo e evolutivo do metabolismo aeróbio de *Melipona bicolor* Lepeletier (Hymenoptera: Apidae: Meliponinae).** In: Resumos do IV Encontro Sobre Abelhas, Ribeirão Preto, Brasil. 86-93p.

GOULD, J. L. & GOULD, C. G. 2007. **Animal Architects: Building and the Evolution of Intelligence.** New York: Basic Books.

HARRISON, J. M. 1987. **Roles of individual honeybee workers and drones in colonial thermogenesis.** The Journal of Experimental Biology. **129**: 53-61.

HEINRICH, B. 1980. **Mechanisms of body-temperature regulation in honeybees, *Apis mellifera*. I. regulation of head temperature.** The Journal of Experimental Biology. **85**: 61-72.

HEINRICH, B. 1981. **The mechanisms and energetics of honeybee swarm temperature regulation.** The Journal of Experimental Biology. **91**: 25-55.

HEINRICH, B. 1993. **The hot-blooded insects: strategies and mechanisms of thermoregulation.** Cambridge-MA: Harvard University Press. 600p.

HEINRICH, B. & ESCH, H. 1994. **Thermoregulation in bees.** American Scientist. **82**: 164-170.

HIMMER, A. 1927. **Ein Beitrag zur Kenntnis des Wärmehaushalts im Nestbau sozialer Hautflügler.** Z. Vgl. Physiol. **5**: 375-389.

JARAU, S.; VAN-VEEN, J. W.; TWELE, R.; REICHLE, C.; GONZALES, E. H.; AGUILAR, I.; FRANCKE, W. & AYASSE, M. 2010. **Workers make the queens in *Melipona* bees: identification of geraniol as a caste determining compound from labial glands of nurse bees.** Journal of Chemical Ecology. **36**: 565-569.

JONES, J. C.; HELLIWELL, P.; BEEKMAN, M.; MALESZKA, R. & OLDROYD, B. P. 2005. **The effects of rearing temperature on developmental stability and learning and memory in the honeybee, *Apis mellifera*.** Journal of Comparative Physiology A. **191**: 1121-1129.

JONES, J. C. & OLDROYD, B. P. 2007. **Nest Thermoregulation in Social Insects**. Advances in Insect Physiology. **33**: 153-191.

KAY, I. 1998. **Introduction of animal physiology**. Springer-Verlag New York. 215p.

KERR, E. W.; CARVALHO, G. A. & NASCIMENTO, V. A. 1996. **Abelha Uruçu: Biologia, Manejo e Conservação**. Belo Horizonte, MG: Acangaú, 1 ed. 145p.

KLEINHERZ, M.; BUJOK, B.; FUCHS, S. & TAUTZ, J. 2003. **Hot bees in empty brood nest cells: heating from within**. The Journal of Experimental Biology. **206**: 4217-4231.

KOVAC, H.; STABENTHEINER, A.; HETZ, S. K.; PETZ, M. & CRAILSHEIM, K. 2007. **Respiration of resting honeybees**. Journal of Insect Physiology. **53**: 1250-1261.

KOVAC, H.; STABENTHEINER, A. & BRODSCHNEIDER, R. 2009. **Contribution of honeybee drones of different age to colonial thermoregulation**. Apidologie. **40**: 82-95.

KOVAC, H.; KÄFER, H.; STABENTHEINER, A. & COSTA, C. 2014. **Metabolism and upper thermal limits of *Apis mellifera carnica* and *A. m. ligustica***. Apidologie. **45**: 664-677.

LIGHTON, J. R. B. & HALSEY, L. G. 2011. **Flow-through respirometry applied to chamber systems: Pros and cons, hints and tips**. Comparative Biochemistry and Physiology (Part A). **158**: 265-275.

LINDAUER, M. 1954. **Temperaturregulierung und wasserhaushaltimbienenstaat**. Zeitschrift für vergleichende Physiologie. **36**: 391-432.

LINDAUER, M. & KERR, W. E. 1960. **Communication between the workers of stingless bees.** Bee World. **41(2)**: 29-41.

LOLI, D. 2008. **Termorregulação colonial e energética individual em abelhas sem ferrão *Melipona quadrifasciata* Lepeletier (Hymenoptera, Apidae, Meliponini).** Tese de Doutorado. Instituto de Biociências. Universidade de São Paulo. São Paulo – SP. 229p.

MACIEIRA, O. J. D. & PRONI, E. A. 2004. **Capacidade de resistência a altas e baixas temperaturas em operárias de *Scaptotrigona postica* (Latreille) (Hymenoptera, Apidae) durante os períodos de verão e inverno.** Revista Brasileira de Zoologia. **21(4)**: 893-896.

MACIEIRA, O. J. D. & PRONI, E. A. 2005. **Influência da temperatura na taxa respiratória de abelhas forrageiras *Trigona spinipes* (Fabricius) (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae) durante períodos de verão e inverno.** Revista Brasileira de Zoologia. **22(4)**: 1159-1163.

MARACAJÁ, P. B. 2006. **Distribuição geográfica de espécies meliponíneas criadas no Rio Grande do norte.** Monografia. Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Mossoró/RN. 20p.

MARDAN, M. & KEVAN, P.G. 2002. **Critical temperatures for survival of brood and adult workers of giant honeybee, *Apis dorsata* (Hymenoptera: Apidae).** Apidologie. **33**: 295-301.

MARENGO, J. A., JONES, R., ALVES, L. M & VALVERDE, M. C. 2009a. **Future change of temperature and precipitation extremes in South America as derived from the PRECIS regional climate modeling system.** International Journal of Climatology. **29**: 2241-2255.

MARENGO, J. A.; AMBRIZZI, T.; ROCHA, R. P.; ALVES, L. M.; CUADRA, S. V.; VALVERDE, M. C.; TORRES, R. R.; SANTOS, D. C. & FERRAZ, S. E. T. 2009b. **Future change of climate in South America in the late twenty-first century: intercomparison of scenarios from three regional climate models.** *Climate Dynamics*. **35**: 1089-1113.

MATEUS, S. & NOLL, F. B. 2004. **Predatory behavior in anecrophagous bee *Trigona hypogea* (Hymenoptera; Apidae; Meliponini).** *Naturwissenschaften*. **91**: 94-96.

MICHENER, C. D. 1974. **The social behavior of the bees – a comparative study.** Harvard Univ. Press. Cambridge, Massachusetts. 404p.

MICHENER, C. D. 2000. **The bees of the world.** Baltimore and London, The John Hopkins. University Press. Cambridge, Massachusetts. 913p.

MORITZ, R. F. A. & CREWE, R. M. 1988. **Air ventilation in nests of two African stingless bees *Trigona denoiti* and *Trigona gribodoi*.** *Experientia*. **44**: 1024-1027.

MORITZ, R. F. A. & SOUTHWICK, E. E. 1992. **Bees as Superorganisms: an Evolutionary Reality.** Berlin, Heidelberg. New York: Springer. 395p.

MOURE, J. S.; URBAN, D.; MELO G. A. R. 2007. **Catalogue of bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical region.** Sociedade Brasileira de Entomologia. 1058p.

MOYES, C. D. & SCHULTE, P. M. 2010. **Princípios da fisiologia animal.** Porto Alegre, RS: Artmed, 2ª edição. 757p.

NOGUEIRA-NETO, P. 1948. **Notas bionômicas sobre meliponíneos. I. Sobre a ventilação dos ninhos e as construções com ela relacionadas (Hymenoptera, Apoidea).** *Revista Brasileira de Biologia*. **8**: 465-488.

NOGUEIRA-NETO, P. 1970. **A criação de abelhas indígenas sem ferrão**. São Paulo, SP: Chácaras e quintais, 1 ed. 365p.

NOGUEIRA-NETO, P. 1997. **Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão**. São Paulo, SP: Nogueirapis. 445p.

PACHECO, R. L. F. & KERR, W. E. 1989. **Temperatura em abelhas da espécie *Melipona compressipes fasciculata***. Ciência e Cultura. **41(5)**:490-495.

POSEY, D. A., & CAMARGO, J. M. F. 1985. **Additional notes on the classification and knowledge of stingless bees (Meliponinae, Apidae, Hymenoptera) by the Kayapó Indians of Gorotire, Pará, Brazil**. In: Annals of Carnegie Museum. **54(8)**: 247-274.

POUGH, F. H.; HEISER, J. B. & MCFARLAND, W. N. 1993. **Homeostase e energia: equilíbrio de água, regulação da temperatura e uso de energia. A vida dos vertebrados**. In: POUGH, F. H.; HEISER, J. B. & MCFARLAND, W. N. **A vida dos vertebrados**. São Paulo, SP: Atheneu. **4**: 155-163.

PRONI, E. A. & HEBLING, M. J. A. 1996. **Thermoregulation and respiratory metabolism in two Brazilian stingless bee subspecies of different climatic distribution, *Tetragonisca angustula fiebrigi* and *T. a. angustula* (Hymenoptera: Apidae: Meliponinae)**. Entomologia Generalis. **20**: 281-289.

PRONI, E. A. & MACIEIRA, O. J. D. 2004. **Ritmo circadiano da taxa respiratória de *Tetragonisca angustula fiebrigi* (Schwarz), *T. a. angustula* (Latreille) e *Trigona spinipes* (Fabricius) (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae)**. Revista Brasileira de Zoologia. **21**: 987-993.

ROBERTS, S. & HARRISON, J. F. 1998. **Mechanisms of thermoregulation on flying bees**. American Zoologist. **38**: 459-502.

ROLDÃO, Y. S. 2011. **Termorregulação colonial e a influência da temperatura no desenvolvimento da cria em abelhas sem ferrão *Melipona scutellaris* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)**. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto – SP. 90p.

ROUBIK, D. W. & PERALTA, F. J. A. 1983. **Thermodynamics in nests of two *Melipona* species in Brazil**. ACTA Amazônica. **13(2)**: 453-466.

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

SAKAGAMI, S. F. 1982. **Stingless bees**. In: HERMAN, H. R. **Social Insects**. London: Academic Press. Volume III. 361-423p.

SCHMIDT-NIELSEN, K. 2002. **Fisiologia Animal: adaptação e meio ambiente**. São Paulo, SP: Santos. 5 ed. 611p.

SEDGELEY, J. A. 2001. **Quality of cavity microclimate as a factor influencing selection of maternity roosts by a tree-dwelling bat, *Chalinolobus tuberculatus*, in New Zealand**. Journal of Applied Ecology. **38**: 425-438.

SEELEY, T.D. 1985. **The information-center strategy of honeybee foraging**. Fortschritte der Zoologie. **31**: 75-90.

SEELEY, T. D. 2006. **Controle da Temperatura**. In: SEELEY, T. D. **Ecologia da Abelha: um estudo de adaptação na vida social**. Porto Alegre, RS: Paixão. 1 ed. **8**: 149-170.

SILVEIRA, F. A.; MELO, G. A. R. & ALMEIDA, E. A. B. 2002. **Abelhas Brasileiras: Sistemática e Identificação**. Belo Horizonte, MG: Fundação Araucária. 253p.

SOUTHWICK, E. E. 1987. **Cooperative metabolism in honeybees: an alternative to antifreeze and hibernation.** Journal of Thermal Biology. **12**: 155-158.

STABENTHEINER, A.; PRESSL, H.; PAPST, T.; HRASSNIGG, N. & CRAILSHEIM, K. 2003. **Endothermic heat production in honeybee winter clusters.** The Journal of Experimental Biology. **206**: 353-358.

STABENTHEINER, A.; KOVAC, H. & BRODSCHNEIDER, R. 2010. **Honeybee colony thermoregulation – regulatory mechanisms and contribution of individuals in dependence on age, location and thermal stress.** Plos One. **5(1)**: 1-13.

TAUTZ, J., MAIER, S., GROH, C., RÖSSLER, W. e BROCKMANN, A. 2003. **Behavioral performance in adult honey bees is influenced by the temperature experienced during their pupal development.** PNAS. **100(12)**: 7343-7347.

TORRES, A.; HOFFMANN, W. & LAMPRECHT, I. 2007. **Thermal investigations of a nest of the stingless bee *Tetragonisca angustula* Illiger in Colombia.** Thermochemica Acta. **458**: 118-123.

TURNER, J. S. 2001. **On the mound of *Macrotermes michaelseni* as an organ of respiratory gas exchange.** Physiological and Biochemical Zoology. **74**: 798-822.

TURNER, J. S. 2002. **The extended organism: the physiology of animal-built structures.** Harvard: Harvard University Press.

VELTHUIS, H. H., KOEDAM, D. & IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. 1999. **The rate of brood cell production in the stingless bee *Melipona bicolor* fluctuates with nest box temperature.** Revista de Etologia. **2**: 141-145.

WIEBE, K. L. 2001. **Microclimate of tree cavity nests: is it important for reproductive success in Northern flickers?** The Auk. **118**: 412-421.

WILLE, A. & MICHENER, C. D. 1973. **The nest architecture of stingless bees with special reference to those of Costa Rica (Hymenoptera: Apidae).** Journal of Tropical Biology. **21**: 1-278.

WILLIS, C. K. R. & BRIGHAM, R. M. 2007. **Social thermoregulation exerts more influence than microclimate on forest roost preferences by a cavity-dwelling bat.** Behavioral Ecology and Sociobiology. **62(1)**: 97-108.

WILSON, E. O. 1971. **The Insect Societies.** Cambridge: Harvard University Press.

WINSTON, M. L. 1987. **The biology of the honeybee.** Harvard University Press Cambridge, Massachusetts. Londres, Inglaterra. 281p.

ZUCCHI, R. & SAKAGAMI, S. F. 1972. **Capacidade termo-reguladora em *Trigona spinipes* em algumas espécies de abelhas sem ferrão (Hymenoptera: Apidae: Meliponinae).** In: Homenagem a Warwick E. Kerr. Rio Claro. p. 301-309.

*"Se as abelhas desaparecerem da face da terra,
a humanidade terá apenas mais quatro anos de existência.*

*Sem abelhas não há polinização,
não há reprodução da flora,
sem flora não há animais,
sem animais não haverá raça humana"*

Albert Einstein

CAPÍTULO 2

Mecanismos de termorregulação

Resumo

A termorregulação das abelhas, até o momento, foi dividida em mecanismos ativos e passivos. Nas abelhas sem ferrão, acreditava-se que a manutenção da temperatura era realizada passivamente por meio de uma estrutura do ninho, o invólucro, enquanto nas abelhas melíferas, a regulação da temperatura ocorria de forma ativa. O objetivo deste capítulo foi registrar e analisar as temperaturas dentro dos ninhos das espécies estudadas, isto é, temperaturas dos favos e dos indivíduos, para se compreender os mecanismos de termorregulação nas abelhas sem ferrão. Foram registradas as temperaturas de dentro do ninho nos períodos seco e chuvoso por meio de sensores que forneceram as temperaturas a cada 5 minutos. Simultaneamente, foram registradas as temperaturas do ambiente. Além disso, foram registradas as temperaturas dos favos e dos indivíduos adultos presentes na área de cria por meio de uma câmera de infravermelho. A produção de calor por parte dos imaturos também foi avaliada, de forma a observar a colaboração dos mesmos para os mecanismos de termorregulação. De acordo com os dados apresentados, as temperaturas das áreas de cria para todas as espécies estudadas foram sempre maiores em relação às temperaturas da periferia do ninho e do ambiente. As investigações realizadas indicaram uma produção de calor metabólico pelos imaturos na área de cria, juntamente com a produção de calor realizada pelas abelhas incubadoras adultas presentes na área de cria. Dessa forma, os resultados indicaram que a cria tem um papel importante para a termogênese da colônia e que as abelhas sem ferrão possuem mecanismos complementares de termorregulação.

2. Introdução

A termorregulação evoluiu como um mecanismo adaptativo que mantém o metabolismo dos organismos entre um gradiente de temperatura ideal, compatível com a sobrevivência (Heinrich, 1981). O controle da temperatura dentro do ninho e a socialidade das abelhas estão envolvidas, pois viver em grupo permite a termorregulação do ninho e assim sua manutenção em um ambiente externo com temperatura variável torna-se essencial para a vida social e para a sobrevivência da colônia (Seeley, 2006).

Em um estudo sobre *Bombus terrestris*, Weidenmüller *et al.* (2002) relataram que o microclima do ninho era independente do ambiente,

promovendo crescimento e assim a sobrevivência das colônias. Os autores acrescentaram ainda que o controle do microclima seria pertinente a uma combinação de *design* do ninho e atividades das operárias. Portanto, os padrões térmicos de uma espécie de abelhas para outra não podem ser generalizados, uma vez que há uma grande variedade de comportamentos e arquiteturas de ninhos (Loli, 2008).

As abelhas da espécie *Apis mellifera* sempre foram consideradas eficientes termorreguladoras, enquanto acreditava-se que os meliponíneos eram muito dependentes do ambiente e das estruturas do ninho para manter uma temperatura constante internamente (Michener, 1974; Pacheco & Kerr, 1989; Jones & Oldroyd, 2007). Porém, já existem estudos que indicam uma termorregulação eficaz em abelhas sem ferrão, suficiente para manter a área de cria em desenvolvimento e exercer as demais funções dentro do ninho (Roubik & Peralta, 1983; Zucchi & Sakagami, 1972; Moo-Valle *et al.*, 2000; Torres *et al.*, 2007; Loli, 2008; Sung *et al.*, 2008; Roldão, 2011; Vollet-Neto, 2011; Halcroft *et al.*, 2013). Esses estudos marcam o início da investigação das adaptações térmicas de um pequeno número de espécies de abelhas sem ferrão. Zucchi & Sakagami (1972) estudaram sete espécies de abelhas sem ferrão e encontraram pelo menos três níveis de capacidades termorregulatórias, incluindo abelhas que possuem ou não a estrutura do invólucro, assim como outras estruturas do ninho como o batume. Essas diversas adaptações térmicas auxiliam na compreensão da evolução do comportamento da termorregulação e das diversas estratégias térmicas utilizadas pelas abelhas com sucesso.

Além da manutenção e do controle da temperatura dentro da colônia serem de extrema relevância para o desenvolvimento da cria, a sobrevivência de

abelhas jovens (recém-emergidas) que são ectotérmicas (veja capítulo 1), ou seja, dependem diretamente da temperatura, umidade e quantidade de oxigênio do ambiente colonial, pois ainda não são capazes da heterotermia como as abelhas adultas mais velhas. Assim, a termorregulação colonial também beneficiaria abelhas jovens além dos imaturos presentes na área de cria (Loli, 2008; Carvalho, 2009).

As temperaturas no interior dos ninhos de algumas espécies de abelhas sem ferrão já foram relatadas, principalmente a temperatura da área de cria devido a importância de um bom desenvolvimento dos imaturos para o crescimento e a manutenção da colônia. É sabido que as temperaturas na área de cria das abelhas sem ferrão são, na maioria das vezes, maiores e mais estáveis em relação à temperatura ambiente e a temperatura da periferia do ninho (Zucchi & Sakagami, 1972; Michener, 1974; Roubik & Peralta, 1983; Moo-Valle *et al.*, 2000; Hilário & Imperatriz-Fonseca, 2003; Hilário, 2005). A hipótese sugerida por Engels *et al.* (1995) descreve a temperatura elevada na área de cria como um resultado da ativação dos músculos de voo das operárias, como acontece no gênero *Apis*, e sua manutenção seria proporcionada pelas estruturas peculiares da arquitetura do ninho de abelhas sem ferrão (Roubik & Peralta, 1983; Halcroft *et al.* 2013).

Pensando em uma faixa ideal de temperaturas para as abelhas sociais, dois níveis precisam ser considerados: nível individual, visto que os adultos têm a capacidade de regular sua temperatura corporal (heterotermia – veja capítulo 1) e nível colonial, uma vez que abelhas nos estágios de larvas e pupas são estritamente ectotérmicas, ou seja, dependeriam da temperatura na área de cria para sobreviver.

A temperatura de ninhos de *Tetragonisca angustula* foi observada na Colômbia por Torres *et al.* (2007) que utilizaram resistores (similares aos utilizados neste trabalho) em áreas internas da colônia, entre elas, o invólucro, área de cria, área dos potes de alimento e o ducto de entrada. A área de cria apresentou temperaturas mais elevadas (30,3°C) enquanto na área dos potes de alimento apresentou temperatura média de 19,6°C. Além disso, Moo-Valle *et al.* (2000) registraram temperaturas de ninhos de *Melipona beecheii*, em que a temperatura mínima da área de cria foi 25,4°C, no momento em que a temperatura ambiente se encontrava a 22,9°C, assim, observou-se que a temperatura da área de cria sempre se mantém elevada perante a temperatura ambiente. Em *Bombus* foram verificadas temperaturas na área de cria próximas de 32°C (Weidenmüller *et al.*, 2002), sendo que acima de 35°C a condição de temperatura é considerada letal para a cria (Himmer, 1927).

Além dos dois tipos de mecanismos para a regulação da temperatura (passivo e ativo), sugeridos por Jones & Oldroyd (2007) e citados no capítulo anterior, é necessário entender que os mecanismos de termorregulação incluem mecanismos comportamentais, fisiológicos e ecológicos. Assim, fatores como o tamanho corpóreo, estruturas do ninho e o tipo de nidificação podem influenciar na termorregulação (Roubik & Peralta, 1983; Engels *et al.*, 1995; Carvalho, 2009).

A escolha do local de nidificação para o mecanismo de controle da temperatura é de extrema importância, uma vez que este local funcionaria como o primeiro isolante térmico para os ninhos (Jones & Oldroyd, 2007; Halcroft *et al.* 2013). O local de nidificação é escolhido de acordo com algumas características como a distância da colônia mãe (a fim de reduzir a disputa entre os recursos

disponíveis naquela área), altura do solo, entre outras (Winston, 2003; Seeley, 2006).

As abelhas *Trigona (Plebeia) denoiti* ocorrem no continente africano e nidificam em cavidades no solo cerca de 1 metro de profundidade. Moritz & Crewe (1988) verificaram que a temperatura dentro do ninho é em torno de 32°C, enquanto a temperatura externa foi de 60°C. Os autores atribuíram essa grande diferença de temperatura ao local de nidificação da espécie, embora não tenham investigado possíveis mecanismos de termorregulação ativa. Assim, após a primeira isolamento térmica (local de nidificação), a homeostase termal pode ser atribuída, em parte, por meio das estruturas do ninho que auxiliam no isolamento térmico como o invólucro e o batume (Zucchi & Sakagami, 1972). Além disso, as abelhas sem ferrão caracterizadas pela ausência do invólucro (*Frieseomelitta varia*; *Leurotrigona muelleri*; Zucchi & Sakagami, 1972; Torres *et al.*, 2009) sofrem mais a influência da temperatura externa, assim não conseguem controlar as oscilações de temperatura na área de cria como as abelhas que constroem um invólucro.

Os mecanismos de isolamento da temperatura não são uma peculiaridade das abelhas sem ferrão, pois em ninhos de vespa *Polybia occidentalis*, as células vazias (sem imaturos) protegem a cria das alterações de temperatura. Além disso, essas células auxiliam na manutenção de altas temperaturas, atuando como um isolante térmico (Hozumi *et al.*, 2008). Uma característica muito utilizada pelas formigas para manter a cria em condições ideais de temperatura e umidade é a mudança de local das pupas dentro do ninho a fim de acondicionar os imaturos em locais mais adequados para o seu pleno desenvolvimento (Hölldobler & Wilson, 1990).

Apesar de todas essas adaptações estruturais citadas acima e estratégias térmicas como a heterotermia colonial, as abelhas possuem uma termorregulação fisiológica ou individual, principalmente para atividades com maior gasto metabólico como a atividade de voo. Por esse motivo, a região do tórax apresenta sempre uma temperatura maior em relação à cabeça e ao abdômen (Pacheco & Kerr, 1989; Roberts & Harrison, 1998; Kovac *et al.*, 2009). No entanto, a termorregulação não apresenta apenas benefícios. Para o indivíduo ela representa também custos, como por exemplo, risco de mortalidade, gasto energético e direcionamento para outras funções dentro do ninho que podem ser relacionadas com a redução do *fitness* colonial (Angilletta, 2009).

Somente o uso de filmadoras sensíveis a infravermelho permitem capturar as temperaturas de abelhas individuais executando suas tarefas dentro do ninho, assim, revelando o mecanismo de termorregulação desses insetos sociais (Stabentheiner & Schmaranzer, 1987; Bujok *et al.*, 2002; Kleinherz *et al.*, 2003; Stabentheiner *et al.*, 2003). De acordo com Grodzicki & Caputa (2014), a idade das abelhas influencia na sua preferência termal. Assim, a oportunidade de conhecer o perfil térmico das abelhas se torna imprescindível para a compreensão das atividades dentro do ninho relacionadas ao comportamento termal. Stabentheiner *et al.* (2010) observaram as temperaturas da superfície corpórea de indivíduos adultos e dos favos das abelhas *Apis mellifera* relacionando o perfil térmico com o polietismo temporal (relação idade e divisão de trabalho) das abelhas. Deste modo, foi verificado que a temperatura da superfície do tórax foi maior do que o restante do corpo. Os autores acrescentaram ainda que a atividade endotérmica das abelhas é um de muitos

fatores para estabilizar a homeostase termal na colônia e em insetos que conseguem ser endotérmicos como as abelhas, os músculos de voo são a fonte de produção de calor ativo.

Nos últimos anos, a temperatura da superfície corpórea é cada vez mais utilizada a fim de entender os mecanismos de termorregulação, porém muito explorado até o momento nas abelhas *Apis mellifera* (Stabentheiner *et al.*, 2010).

2.1. Objetivos

Como citado anteriormente (veja Capítulo 1), existem duas hipóteses sobre a produção de calor dentro dos ninhos de abelhas sem ferrão: a produção de calor por parte dos imaturos (inicialmente investigada em Roldão [2011]) e a produção de calor por parte dos indivíduos adultos, relacionando essa produção de calor com a heterotermia colonial e observando que está sempre envolvida com a área de cria. Portanto, neste capítulo foi investigada a temperatura dentro dos ninhos das espécies *Plebeia droryana*, *Frieseomelitta varia* e *Melipona scutellaris* e a temperatura da superfície corpórea de indivíduos e favos, assim como a termorregulação colonial. Portanto, os objetivos específicos que nortearam esse estudo foram:

- ❖ Registrar as temperaturas internas das colônias *Plebeia droryana*, *Frieseomelitta varia* e *Melipona scutellaris* em duas partes do ninho, área de cria e periferia do ninho.
- ❖ Registrar as temperaturas externas (ambiente e sala) às colônias para comparação com as temperaturas coloniais.

- ❖ Comparar as temperaturas registradas com adaptações estruturais do ninho, uma vez que a abelha *Frieseomelitta varia* não possui invólucro envolvendo a área de cria.
- ❖ Submeter favos de cria de *Melipona scutellaris* à diversas temperaturas a fim de testar a hipótese de produção e manutenção da temperatura por meio dos imaturos.
- ❖ Conhecer a temperatura da superfície corpórea dos indivíduos na área de cria em diversas temperaturas de modo a entender a termorregulação individual.

2.2. Material e Métodos

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Comportamento e Ecologia de Insetos Sociais da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, campus da Universidade de São Paulo. Para esta parte do trabalho, foram utilizadas três colônias de cada espécie (*Plebeia droryana*, *Frieseomelitta varia* e *Melipona scutellaris* – Hymenoptera, Apidae, Meliponini) mantidas em caixas de madeira com um vidro na parte superior. Um tubo plástico permitia a passagem das abelhas para o campo, uma vez que as colônias foram mantidas dentro de salas no laboratório.

2.2.1. Registro das temperaturas

Foram registradas as temperaturas das três colônias de cada espécie sob condições naturais, isto é, com o mínimo possível de influência experimental. Foram utilizados dois resistores (termômetros) dentro do ninho conectados a

data loggers (Minipa, MT-600, RS-232) que foram posicionados na região dos favos (dentro do invólucro para as espécies que o possui) e na periferia do ninho (fora do invólucro). Para a espécie utilizada que não possui invólucro (*Frieseomelitta varia*) os sensores foram posicionados na parte central da área de cria e na região dos potes de alimento (periferia do ninho) (Figura 2). Os sensores registraram as temperaturas a cada 5 minutos durante 40 dias no período chuvoso (verão) e no período seco (inverno). As colônias foram isoladas com isopor de três centímetros para diminuir qualquer tipo de influência da temperatura ambiente. Assim, havia dois sensores em cada colônia e um sensor na sala onde foram mantidas as colônias (Zucchi & Sakagami, 1972; Roubik & Peralta, 1983; Torres *et al.*, 2007; Roldão, 2011).

No período seco, as temperaturas da espécie *Plebeia droryana*, foram registradas no período de 04/06/2012 a 13/07/2012. Para a espécie *Frieseomelitta varia* os registros ocorreram de 22/06/2013 a 16/08/2013 e para *Melipona scutellaris* as temperaturas foram registradas no período de 28/06/2011 a 13/08/2011, complementando os dados apresentados por Roldão (2011) que foram registrados no período seco do ano de 2009 e que foram utilizados como parâmetro de comparação. No período chuvoso, o registro das temperaturas foram realizados no período de 20/10/2011 a 28/11/2011 para *M. scutellaris*, 26/09/2013 a 16/11/2013 para *F. varia* e 16/10/2012 a 24/11/2012 para *P. droryana*.

O registro das temperaturas externas da cidade de Ribeirão Preto, foram fornecidas por meio da estação meteorológica do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) no Centro Integrado de Informações Agrometeorológicas (CIIAGRO) (disponível em: <http://www.ciiagro.sp.gov.br/>), tornando possível

conhecer as temperaturas médias de cada dia dos experimentos. Os dados foram analisados por meio do programa SigmaPlot 10.0 para adequação dos dados e gráficos e SigmaStat 3.5 para as análises estatísticas.

Figura 2. Colônias de abelhas sem ferrão. (A) Termômetros na colônia de *Melipona scutellaris*: na área de cria (dentro do invólucro) e na periferia do ninho (fora do invólucro). (B) Colônia de *Melipona scutellaris* isolada externamente com isopor e com os sensores conectados à data logger. (C) Colônia de *Frieseomelitta varia*. Por não possuir invólucro, o termômetro foi posicionado no meio da área de cria.

2.2.2. Produção de calor

Termogênese da cria

A fim de verificar como a produção de calor pela cria (presentes nos favos) contribui para a termogênese da colônia (Roldão, 2011; Roldão *et al.*, submetido), foram removidos favos de cria das colônias de *Melipona scutellaris* em fase de pupa branca e os mesmos foram incubados por 12 horas em uma

estufa B.O.D (Cientec, CT-703) sob diversas temperaturas (15°C; 20°C; 25°C; 27,5°C; 30°C; 32,5°C; 35°C e 37,5°C).

Os favos foram incubados em caixas de isopor fechadas (16cm X 14,5cm X 10cm) para isolamento da temperatura ambiente (estufa). As temperaturas dentro da caixa de isopor com os favos e da temperatura ambiente (estufa) foram registradas a cada 5 minutos utilizando os mesmos sensores citados acima. Uma caixa de isopor, com mesmas dimensões mas vazia, foi utilizada como controle, dentro da qual também foram realizados registros de temperatura. Cada grupo de favos foi utilizado apenas para uma única temperatura de incubação, a fim de evitar o viés causado por mudanças potenciais na produção de calor metabólico devido ao envelhecimento das abelhas durante os experimentos (Schmolz & Lamprecht, 2000).

Os experimentos foram divididos em três partes: experimentos A, B₁ e B₂. o experimento A foi realizado no período chuvoso (15/01 a 01/02/2013) e a quantidade de células de cria incubadas variou de 73 a 78. No experimento B, que foi realizado no período seco (08/07 a 22/07/2013), foram incubadas duas caixas experimentais, uma (experimento B₁) com 72 a 85 células de cria e a segunda (experimento B₂) entre 39 e 47 células de cria. No experimento B₂ avaliou-se possíveis modificações potenciais da termogênese do favo de cria, relacionando o número de células de cria sem o favo (cera).

A fim de verificar possíveis diferenças entre o período chuvoso e o período seco (com relação a termogênese da cria), foi realizado uma comparação do excesso de temperatura ($T_{\text{caixa experimental}} - T_{\text{caixa controle}}$) medido no experimento A com o experimento B₁ (realizados com quantidade similar de células de cria).

Temperatura da superfície corpórea

Com o intuito de verificar a ocorrência de produção de calor endotérmico por parte dos indivíduos adultos presentes na área de cria, foram registradas as temperaturas da superfície corpórea dessas abelhas, assim como do favo onde se encontravam esses indivíduos. Essa parte do trabalho foi realizada com a colaboração do Dr. Guilherme Gomes que atualmente pertence ao grupo de Neurobiofísica do Instituto de Física de São Carlos (USP) e que tornou possível a utilização da câmera de infravermelho (especificações abaixo) pertencente ao Prof. Dr. Denis Otávio Vieira de Andrade do Laboratório de Fisiologia Comparada da UNESP (Rio Claro - Centro de Aquicultura – Jacarezário).

Os registros da temperatura da superfície corpórea foram realizados por meio de uma câmera infravermelha FLIR Systems (ThermaCAM; SC-640) que permitiu conhecer as temperaturas de todo o corpo da abelha. A câmera é conectada a um computador, a partir do qual foi possível observar as gravações diretamente por meio de um software específico da câmera. As colônias de todas as espécies foram submetidas à várias temperaturas (as mesmas utilizadas nos experimentos de termogênese da cria, citados acima) em uma estufa incubadora (Marconi; MA-415). Os vídeos registrados foram de aproximadamente 1 hora para cada temperatura incubada, para cada espécie, assim, foram analisadas uma média de 40 imagens para cada vídeo. No interior da estufa foram colocados os mesmos sensores conectados a data loggers para o registro das temperaturas. A câmera foi posicionada dentro da estufa em uma distância de aproximadamente 90cm da colônia. Para a realização das gravações, a colônia não podia estar fechada, pois o vidro reflete ao infravermelho da câmera, por esse motivo, foi utilizado um *voil* branco envolvendo a câmera e a colônia. Os

vídeos com as temperaturas da superfície corpórea foram analisados a cada 2 minutos, utilizando marcação em 10 pontos da superfície do favo (10 células) e captando assim as temperaturas desses pontos (Figura 3). Além disso, foram obtidas as temperaturas superficiais de 5 indivíduos a cada imagem. Para *Melipona scutellaris*, foram obtidas as temperaturas do tórax, uma vez que a temperatura do tórax é maior que o restante do corpo e onde acredita-se ser a fonte da produção de calor (Engels *et al.*, 1995; Stabentheiner *et al.*, 2010). As imagens térmicas das abelhas *Melipona scutellaris* permitiram uma observação mais aprofundada, devido ao tamanho corpóreo e ao tamanho da célula de cria serem maiores em comparação com as outras duas espécies. Em *Plebeia droryana* e *Frieseomelitta varia*, foram obtidas as temperaturas superficiais de todo o corpo dos indivíduos, devido ao tamanho diminuto.

De acordo com o que foi observado durante os experimentos de temperatura da superfície corpórea, foi necessário realizar outro experimento, o qual as abelhas *Melipona scutellaris* recém-emergidas foram marcadas com tinta Acrilex® a fim de conhecer a quantidade de dias que cada abelha possuía. Posteriormente, essas abelhas foram capturadas e dissecadas. A dissecação foi realizada com a colaboração do Dr. Sidnei Mateus (FFCLRP – USP). Foram realizadas imagens no ninho em um ambiente com temperatura média de 27,5°C. Todos os experimentos foram realizados entre 12/12/2013 a 13/11/2014. A disposição dos dados e a confecção dos gráficos foram realizados no programa SigmaPlot 10.0 e as análises estatísticas no programa SigmaStat 3.5.

Figura 3. Imagem da termocâmara em *Melipona scutellaris* à 25°C, exemplificando as marcações no favo de cria para verificar as temperaturas registradas.

2.3. Resultados

2.3.1. Registro das temperaturas no período seco: *Plebeia droryana*

Os resultados obtidos permitiram descrever uma comparação entre as temperaturas observadas por meio de médias entre os dias de experimento (Tabela 1). Foi possível observar que a temperatura da sala foi, em média, 2,3°C maior que a temperatura externa registrada. Pode-se atribuir essa diferença ao isolamento térmico que as paredes do laboratório forneceram às colônias. Por analogia, esse primeiro isolamento é comparável ao das cavidades de árvores ou fendas dentro das quais as colônias nidificam no ambiente natural.

A espécie *Plebeia droryana* apresenta invólucro em suas adaptações estruturais dentro da colônia, assim, as temperaturas da área de cria variaram em torno de 29,0°C; temperaturas maiores e mais estáveis (com menor variação

ao longo do dia) em relação a temperatura externa (19,9°C) e mais elevadas do que as temperaturas registradas na periferia do ninho (em torno de 25,7°C). De acordo com as temperaturas registradas nas áreas de cria (três colônias), a maior diferença foi de 0,6°C, observada entre a colônia 1 (C1) e a colônia 2 (C2). A área de cria apresentou temperatura 45,7% maior que a temperatura externa e 12,8% maior que a temperatura média da periferia do ninho. Quanto às temperaturas registradas nas periferias do ninho, foi observada uma diferença de 0,4°C, entre as colônias C2 e C3 (colônia 3). A periferia do ninho apresentou temperatura cerca de 30% maior que a temperatura externa. Assim, observou-se que a área de cria mantém uma temperatura mais elevada com relação às demais. As temperaturas médias, mínimas e máximas foram representadas na tabela 1, assim como na figura 4.

Tabela 1. Temperaturas registradas (médias $\pm$ desvio padrão) durante o período seco em colônias de *Plebeia droryana*. O coeficiente de variação (CV) indica a variação diária da temperatura ($CV = DP \cdot 100 / \text{média}$). Letras sobrescritas distintas (a-g) indicam grupos de dados significativamente diferentes (Tukey test, $P \leq 0,05$).

Temperaturas					
	Média (°C)	Mínima (°C)	Máxima (°C)	CV (%)	N
Externa	19,9 $\pm$ 1,37 ^a	18,1 $\pm$ 1,34 ^a	20,8 $\pm$ 1,26 ^a	6,93 $\pm$ 0,50 ^a	40
Sala	22,2 $\pm$ 0,75 ^a	20,5 $\pm$ 0,70 ^a	23,2 $\pm$ 0,80 ^a	3,39 $\pm$ 0,11 ^a	40
C1 - Periferia	25,7 $\pm$ 0,49 ^b	22,1 $\pm$ 0,65 ^{ab}	26,5 $\pm$ 0,41 ^b	1,91 $\pm$ 0,04 ^b	40
C1 - Área de cria	29,2 $\pm$ 0,58 ^c	27,1 $\pm$ 0,76 ^c	29,8 $\pm$ 0,53 ^c	1,99 $\pm$ 0,04 ^{ac}	40
C2 - Periferia	25,6 $\pm$ 0,43 ^d	22,7 $\pm$ 0,65 ^d	26,1 $\pm$ 0,44 ^d	1,69 $\pm$ 0,03 ^d	40
C2 - Área de cria	28,6 $\pm$ 0,49 ^{ce}	26,5 $\pm$ 0,50 ^{ce}	29,6 $\pm$ 0,32 ^e	1,72 $\pm$ 0,03 ^e	40
C3 - Periferia	26,0 $\pm$ 0,50 ^{df}	23,0 $\pm$ 0,62 ^{bf}	26,8 $\pm$ 0,48 ^{df}	1,94 $\pm$ 0,04 ^f	40
C3 - Área de cria	29,1 $\pm$ 0,51 ^g	26,6 $\pm$ 0,60 ^g	30,0 $\pm$ 0,38 ^{eg}	1,76 $\pm$ 0,03 ^{dg}	40
Kruskal-Wallis ANOVA (H; P)	288,1; <0,001	288,1; <0,001	291,8; <0,001	299,4; <0,001	

De acordo com os dados coletados, foi possível verificar uma variação diária das temperaturas apresentado como coeficiente de variação (Figura 5). A

maior variação diária apresentada foi para a temperatura externa (6,93%) e para a temperatura da sala (3,39%), uma vez que o período seco nessa região possui apenas alguns dias de temperaturas amenas (frio). Além disso, o coeficiente de variação para as colônias apresentaram médias menores, em torno de 1,8%, mostrando que apesar da variação de temperatura dentro das colônias serem menores, a mesma é dependente da temperatura externa.

Figura 4. Variação da temperatura no período seco em colônias de *Plebeia droryana*. Temperaturas médias (A), mínimas (B) e máximas (C) registradas no ambiente (externa), na sala do laboratório e nas três colônias experimentais.

Figura 5. Comparação das temperaturas médias (A) e das variações diárias de temperatura (B) no período seco. A linha central da caixa dos *boxplot* marca a mediana e as hastes delimitam a distribuição de 95% dos dados.

2.3.2. Registro das temperaturas no período seco: *Frieseomelitta varia*

De acordo com os dados obtidos para a espécie *Frieseomelitta varia* e apresentados na tabela 2, a temperatura externa média registrada (19,9°C) foi menor que a temperatura média da sala do laboratório (23,4°). As temperaturas das áreas de cria, para as colônias 1, 2 e 3 (C1, C2 e C3) permaneceram em torno de 27°C enquanto que as temperaturas das periferias do ninho variaram em torno de 25,7°C, deste modo, foi possível avaliar que a temperatura média das áreas de cria foi apenas 5% maior que a temperatura média registrada nas periferias do ninho. É interessante ressaltar que a espécie *Frieseomelitta varia* não possui invólucro, assim, apesar das temperaturas permanecerem constantes, indicam que colônias desta espécie possuem maior oscilação na temperatura da área de cria (mais que 2°C) em relação as temperaturas da

periferia do ninho, com uma diferença de aproximadamente 1°C entre as duas regiões. Apesar dessa pequena diferença, o desenvolvimento dos imaturos não é comprometido. As temperaturas médias, mínimas e máximas estão representadas na figura 6, assim como na tabela 2.

Tabela 2. Temperaturas registradas (médias $\pm$ desvio padrão) durante o período seco em colônias de *Friesomelitta varia*. O coeficiente de variação (CV) indica a variação diária da temperatura (CV = DP*100/média). Letras sobrescritas distintas (a-f) indicam grupos de dados significativamente diferentes (Tukey test, $P \leq 0,05$).

Temperaturas					
	Média (°C)	Mínima (°C)	Máxima (°C)	CV (%)	N
Externa	19,9 $\pm$ 1,37 ^a	19,5 $\pm$ 1,47 ^a	20,6 $\pm$ 1,39 ^a	6,92 $\pm$ 0,53 ^a	40
Sala	23,4 $\pm$ 0,50 ^a	22,7 $\pm$ 0,49 ^a	24,0 $\pm$ 0,52 ^a	2,15 $\pm$ 0,05 ^a	40
C1 - Periferia	25,7 $\pm$ 0,49 ^b	24,1 $\pm$ 0,34 ^{ac}	26,5 $\pm$ 0,34 ^b	1,92 $\pm$ 0,04 ^b	40
C1 - Área de cria	26,8 $\pm$ 0,41 ^c	24,9 $\pm$ 0,36 ^b	27,4 $\pm$ 0,44 ^c	1,53 $\pm$ 0,02 ^c	40
C2 - Periferia	25,9 $\pm$ 0,50 ^d	24,7 $\pm$ 0,46 ^{bc}	26,7 $\pm$ 0,36 ^{bd}	1,95 $\pm$ 0,04 ^{ab}	40
C2 - Área de cria	27,0 $\pm$ 0,43 ^e	25,7 $\pm$ 0,49 ^d	27,9 $\pm$ 0,45 ^e	1,61 $\pm$ 0,03 ^{cd}	40
C3 - Periferia	25,7 $\pm$ 0,47 ^d	24,9 $\pm$ 0,35 ^e	26,7 $\pm$ 0,37 ^f	1,83 $\pm$ 0,03 ^b	40
C3 - Área de cria	27,2 $\pm$ 0,41 ^{df}	26,2 $\pm$ 0,31 ^{df}	28,2 $\pm$ 0,40 ^c	1,50 $\pm$ 0,02 ^{ce}	40
Kruskal-Wallis ANOVA (H; P)	276,4; <0,001	284,1; <0,001	281,8; <0,001	308,0; <0,001

Figura 6. Variação da temperatura no período seco em colônias de *Frieseomelitta varia*. Temperaturas médias (A), mínimas (B) e máximas (C) registradas no ambiente (externa), na sala de laboratório e nas três colônias experimentais.

Portanto, com a apresentação dos dados acima, foi possível comparar todas as temperaturas registradas e verificar a variação diária das mesmas (Figura 7). A temperatura externa apresentou um coeficiente de variação maior em relação às demais temperaturas (6,92%). Entretanto, a variação diária da temperatura da sala do laboratório (2,15%) foi menor quando comparada com a temperatura externa e próxima à variação das temperaturas das colônias (área de cria e periferia do ninho). Assim, pode-se perceber que a temperatura da sala do laboratório foi mais constante em comparação ao apresentado na espécie anterior. As variações diárias podem ser observadas na figura 7, assim como na tabela 2.

Figura 7. Comparação das temperaturas médias (A) e das variações diárias de temperatura (B) no período seco em *Frieseomelitta varia*. A linha central da caixa dos *boxplot* marca a mediana e as hastes delimitam a distribuição de 95% dos dados.

2.3.3. Registro das temperaturas no período seco: *Melipona scutellaris*

Entre as temperaturas registradas, a temperatura externa obteve média de 19,3°C, enquanto a temperatura média da sala do laboratório foi de 20,2°C, mostrando que a temperatura da sala foi 5% maior que a temperatura externa. Pôde-se observar que a temperatura externa oscilou menos quando comparado com a temperatura externa registrada nas espécies anteriores e a temperatura da sala do laboratório seguiu o mesmo padrão (Figura 8). A periferia do ninho apresentou médias em torno de 24,8°C e as temperaturas médias da área de cria foram em torno de 29,3°C (Tabela 3). Assim, foi possível avaliar que a temperatura da área de cria foi 18% maior que a temperatura registrada na periferia do ninho e 51,8% maior que a temperatura externa.

Com os experimentos apresentados no ano de 2011 e somando-os aos dados atuais, observou-se que essa espécie mantém uma temperatura mais elevada na área de cria, mesmo recebendo influência das temperaturas do ambiente externo. As temperaturas médias, mínimas e máximas foram representadas na figura 8, assim como na tabela 3.

Tabela 3. Temperaturas registradas (médias $\pm$ desvio padrão) durante o período seco em colônias de *Melipona scutellaris*. O coeficiente de variação (CV) indica a variação diária da temperatura ($CV = DP \cdot 100 / \text{média}$). Letras sobrescritas distintas (a-f) indicam grupos de dados significativamente diferentes (Tukey test, $P \leq 0,05$).

Temperaturas					
	Média (°C)	Mínima (°C)	Máxima (°C)	CV (%)	N
Externa	19,3 $\pm$ 2,31 ^a	18,9 $\pm$ 2,33 ^a	19,9 $\pm$ 2,25 ^a	12,1 $\pm$ 1,49 ^a	40
Sala	20,2 $\pm$ 1,93 ^a	19,7 $\pm$ 1,96 ^a	20,8 $\pm$ 1,93 ^a	9,64 $\pm$ 0,93 ^a	40
C1 - Periferia	25,9 $\pm$ 1,01 ^b	25,4 $\pm$ 0,99 ^b	26,4 $\pm$ 1,05 ^b	3,94 $\pm$ 0,16 ^b	40
C1 - Área de cria	29,6 $\pm$ 1,20 ^c	29,2 $\pm$ 1,18 ^c	30,0 $\pm$ 1,14 ^c	4,07 $\pm$ 0,17 ^{bc}	40
C2 - Periferia	23,5 $\pm$ 1,07 ^{ab}	23,1 $\pm$ 1,10 ^{ab}	24,1 $\pm$ 1,07 ^{ab}	4,56 $\pm$ 0,21 ^d	40
C2 - Área de cria	29,1 $\pm$ 1,37 ^{cd}	28,7 $\pm$ 1,32 ^{bd}	29,6 $\pm$ 1,05 ^c	4,73 $\pm$ 0,22 ^{ae}	40
C3 - Periferia	25,2 $\pm$ 1,09 ^e	24,8 $\pm$ 1,07 ^e	25,8 $\pm$ 1,08 ^d	4,35 $\pm$ 0,19 ^{cf}	40
C3 - Área de cria	29,3 $\pm$ 1,03 ^f	28,9 $\pm$ 1,01 ^f	29,9 $\pm$ 0,98 ^e	3,53 $\pm$ 0,13 ^f	40
Kruskal-Wallis ANOVA (H; P)	270,8; <0,001	271,3; <0,001	284,9; <0,001	294,0; <0,001	

Foi possível também verificar a variação diária das temperaturas (Figura 9). Para a temperatura externa o coeficiente de variação foi de 12,1% e para a temperatura da sala foi de 9,64%, mostrando que a variação da temperatura externa foi maior em relação às demais temperaturas. Além disso, a variação diária das temperaturas registradas dentro das colônias (área de cria e periferia do ninho) foi maior, apresentando um coeficiente de variação em torno de 4% (Tabela 3).

Figura 8. Variação da temperatura no período seco em colônias de *Melipona scutellaris*. Temperaturas médias (A), mínimas (B) e máximas (C) registradas no ambiente (externa), na sala do laboratório e nas três colônias experimentais.

Figura 9. Comparação das temperaturas médias (A) e das variações diárias de temperatura (B) no período seco em *Melipona scutellaris*. A linha central da caixa dos *boxplot* marca a mediana e as hastes delimitam a distribuição de 95% dos dados.

2.3.4. Registro das temperaturas no período chuvoso: *Plebeia droryana*

As temperaturas médias, mínimas e máximas podem ser observadas na tabela 4, assim como na figura 10. Foi possível verificar que no período chuvoso, as temperaturas das áreas de cria continuaram maiores e mais estáveis que as temperaturas da periferia do ninho. A temperatura externa apresentou média de 25,5°C e a temperatura média da sala foi de 25,9°C, assim, observando que nesse período a diferença entre as duas temperaturas para essa espécie não foram tão distintas como no período seco (Figura 10; Tabela 4). Na periferia do ninho foram registradas temperaturas em torno de 27,4°C e na área de cria foram registradas temperaturas em torno de 30,5°C, mostrando que a temperatura da área de cria foi 11,3% maior que a temperatura registrada na periferia do ninho.

Tabela 4. Temperaturas registradas (médias $\pm$ desvio padrão) durante o período chuvoso em colônias de *Plebeia droryana*. O coeficiente de variação (CV) indica a variação diária da temperatura (CV = DP*100/média). Letras sobrescritas distintas (a-g) indicam grupos de dados significativamente diferentes (Tukey test, $P \leq 0,05$).

Temperaturas					
	Média (°C)	Mínima (°C)	Máxima (°C)	CV (%)	N
Externa	25,5 $\pm$ 1,80 ^a	24,9 $\pm$ 1,76 ^a	26,1 $\pm$ 1,70 ^a	16,0 $\pm$ 1,12 ^a	40
Sala	25,9 $\pm$ 0,56 ^a	25,4 $\pm$ 0,56 ^a	26,5 $\pm$ 0,55 ^a	15,2 $\pm$ 0,33 ^b	40
C1 - Periferia	27,4 $\pm$ 0,42 ^b	26,9 $\pm$ 0,39 ^b	28,0 $\pm$ 0,43 ^b	15,2 $\pm$ 0,23 ^c	40
C1 - Área de cria	30,5 $\pm$ 0,44 ^c	30,0 $\pm$ 0,45 ^c	30,9 $\pm$ 0,41 ^c	15,3 $\pm$ 0,22 ^d	40
C2 - Periferia	27,5 $\pm$ 0,46 ^d	26,9 $\pm$ 0,45 ^d	28,1 $\pm$ 0,48 ^d	15,2 $\pm$ 0,26 ^d	40
C2 - Área de cria	30,3 $\pm$ 0,40 ^e	29,8 $\pm$ 0,41 ^e	30,8 $\pm$ 0,40 ^e	15,3 $\pm$ 0,20 ^e	40
C3 - Periferia	27,4 $\pm$ 0,51 ^d	26,8 $\pm$ 0,53 ^b	27,9 $\pm$ 0,45 ^d	15,2 $\pm$ 0,29 ^f	40
C3 - Área de cria	30,7 $\pm$ 0,54 ^{ef}	30,1 $\pm$ 0,54 ^{ef}	31,2 $\pm$ 0,44 ^{ef}	15,2 $\pm$ 0,27 ^g	40
Kruskal-Wallis ANOVA (H; P)	267,6; <0,001	267,1; <0,001	268,9; <0,001	27,1; <0,001	

No período chuvoso, o coeficiente de variação foi maior que no período seco, ou seja, a variação entre as temperaturas registradas foi maior em *P. droryana* (Tabela 4), cerca de 16,0% em relação ao ambiente externo e 15,2% para a sala onde permaneceram as colônias. Essa variação maior pode ser explicada por meio de temperaturas mais amenas em dias chuvosos e temperaturas altas em dias sem chuva. Além disso, as temperaturas registradas dentro das colônias também apresentaram variação aproximadamente a 15,2%, mostrando que a temperatura dentro das colônias sofre influência da temperatura externa nesse período (Figura 11).

Figura 10. Variação da temperatura no período chuvoso em colônias de *Plebeia droryana*. Temperaturas médias (A), mínimas (B) e máximas (C) registradas no ambiente (externa), na sala do laboratório e nas três colônias experimentais.

Figura 11. Comparação das temperaturas médias (A) e das variações diárias de temperatura (B) no período chuvoso em *Plebeia droryana*. A linha central da caixa dos *boxplot* marca a mediana e as hastes delimitam a distribuição de 95% dos dados.

2.3.5. Registro das temperaturas no período chuvoso: *Frieseamelitta varia*

Para esse período de registros, a temperatura média registrada para o ambiente externo foi de 22,6°C e 24,1°C para a sala do laboratório onde foram mantidas as colônias de *Frieseamelitta varia*. Observou-se que a sala do laboratório funcionou como um isolante térmico para o ambiente da colônia, uma vez que a temperatura da mesma foi maior em relação a temperatura externa (Figura 12). Além disso, as temperaturas das áreas de cria variaram em torno de 28,2°C enquanto a temperatura da periferia do ninho oscilou por cerca dos 26,0°C, mostrando que a temperatura da área de cria foi 8,4% maior que a temperatura da periferia do ninho e 24,7% maior que a temperatura externa. Assim, foi observado que nessa espécie houve uma diferença de 2°C entre as

temperaturas registradas nas duas regiões dentro do ninho, embora essas temperaturas tenham sido sempre próximas como demonstrado na figura 12.

A variação diária de temperatura no período chuvoso para esta espécie foi maior apenas com relação à temperatura externa (ambiente). O coeficiente de variação apresentou média de 12,0% para o ambiente externo, enquanto as demais regiões (sala e dentro das colônias) apresentaram uma variação diária em torno de 2% (Figura 13; Tabela 5).

Tabela 5. Temperaturas registradas (médias $\pm$ desvio padrão) durante o período chuvoso em colônias de *Frieseomelitta varia*. O coeficiente de variação (CV) indica a variação diária da temperatura ($CV = DP \cdot 100 / \text{média}$). Letras sobrescritas distintas (a-f) indicam grupos de dados significativamente diferentes (Tukey test, $P \leq 0,05$).

	Temperaturas				
	Média (°C)	Mínima (°C)	Máxima (°C)	CV (%)	N
Externa	22,6 $\pm$ 2,68 ^a	21,9 $\pm$ 2,65 ^a	23,1 $\pm$ 2,66 ^a	12,0 $\pm$ 1,36 ^a	40
Sala	24,1 $\pm$ 0,64 ^a	23,5 $\pm$ 0,62 ^a	24,6 $\pm$ 0,61 ^a	2,68 $\pm$ 0,07 ^a	40
C1 - Periferia	25,6 $\pm$ 0,56 ^{ab}	25,1 $\pm$ 0,57 ^{ab}	26,2 $\pm$ 0,53 ^{ab}	2,20 $\pm$ 0,05 ^{ab}	40
C1 - Área de cria	28,1 $\pm$ 0,55 ^c	27,5 $\pm$ 0,59 ^c	28,5 $\pm$ 0,51 ^c	1,97 $\pm$ 0,04 ^c	40
C2 - Periferia	26,1 $\pm$ 0,54 ^d	25,5 $\pm$ 0,59 ^d	26,6 $\pm$ 0,53 ^d	2,07 $\pm$ 0,04 ^d	40
C2 - Área de cria	28,3 $\pm$ 0,56 ^e	27,7 $\pm$ 0,52 ^e	28,8 $\pm$ 0,50 ^e	1,97 $\pm$ 0,03 ^e	40
C3 - Periferia	26,2 $\pm$ 0,50 ^b	25,7 $\pm$ 0,50 ^b	26,7 $\pm$ 0,49 ^b	1,92 $\pm$ 0,04 ^{ef}	40
C3 - Área de cria	28,3 $\pm$ 0,62 ^c	27,7 $\pm$ 0,63 ^{cf}	28,8 $\pm$ 0,61 ^{cf}	2,18 $\pm$ 0,05 ^{bd}	40
Kruskal-Wallis ANOVA (H; P)	264,7; <0,001	264,6; <0,001	265,4; <0,001	296,8; <0,001

Figura 12. Variação da temperatura no período chuvoso em colônias de *Frieseomelitta varia*. Temperaturas médias (A), mínimas (B) e máximas (C) registradas no ambiente (externa), na sala do laboratório e nas três colônias experimentais.

Figura 13. Comparação das temperaturas médias (A) e das variações diárias de temperatura (B) no período chuvoso em *Frieseomelitta varia*. A linha central da caixa dos *boxplot* marca a mediana e as hastes delimitam a distribuição de 95% dos dados.

2.3.6. Registro das temperaturas no período chuvoso: *Melipona scutellaris*

As temperaturas registradas para *Melipona scutellaris* nesse período foram constantes. A temperatura externa foi 21,1°C e a temperatura média da sala foi 24,9°C, assim, observando que a temperatura da sala foi 18% maior que a temperatura externa. A temperatura da área de cria foi maior que às demais temperaturas, apresentando uma temperatura por volta de 29,5°C, 11,3% maior que a temperatura média da periferia do ninho e 39,8% maior que a temperatura externa. As temperaturas (médias, mínimas e máximas) foram apresentadas na tabela 6, assim como na figura 14.

A variação média diária de temperatura no período chuvoso para essa espécie foi de 4,04% para o ambiente externo e 1,64% para a sala (Tabela 6;

Figura 15). Em comparação às temperaturas registradas no período seco, as colônias de *M. scutellaris* estudadas mantiveram uma temperatura considerada estável dentro do ninho e ao mesmo tempo constante como a temperatura externa registrada.

Tabela 6. Temperaturas registradas (médias $\pm$ desvio padrão) durante o período chuvoso em colônias de *Melipona scutellaris*. O coeficiente de variação (CV) indica a variação diária da temperatura ($CV = DP \times 100 / \text{média}$). Letras sobrescritas distintas (a-e) indicam grupos de dados significativamente diferentes (Tukey test, $P \leq 0,05$).

Temperaturas					
	Média (°C)	Mínima (°C)	Máxima (°C)	CV (%)	N
Externa	21,1 $\pm$ 0,85 ^a	20,5 $\pm$ 0,57 ^a	21,8 $\pm$ 0,78 ^a	4,04 $\pm$ 0,15 ^a	40
Sala	24,9 $\pm$ 0,41 ^a	24,1 $\pm$ 0,38 ^a	25,9 $\pm$ 0,33 ^a	1,64 $\pm$ 0,03 ^a	40
C1 - Periferia	27,3 $\pm$ 0,29 ^b	26,5 $\pm$ 0,32 ^b	28,2 $\pm$ 0,31 ^b	1,07 $\pm$ 0,01 ^b	40
C1 - Área de cria	30,6 $\pm$ 0,43 ^c	29,9 $\pm$ 0,54 ^c	31,5 $\pm$ 0,41 ^c	1,42 $\pm$ 0,02 ^{ac}	40
C2 - Periferia	26,2 $\pm$ 0,26 ^{bd}	25,4 $\pm$ 0,29 ^{bd}	27,1 $\pm$ 0,21 ^b	0,99 $\pm$ 0,01 ^b	40
C2 - Área de cria	29,0 $\pm$ 0,36 ^{bc}	28,4 $\pm$ 0,28 ^{ce}	30,2 $\pm$ 0,31 ^c	1,25 $\pm$ 0,01 ^d	40
C3 - Periferia	26,1 $\pm$ 0,34 ^{ad}	25,2 $\pm$ 0,39 ^{ad}	26,8 $\pm$ 0,31 ^{ad}	1,31 $\pm$ 0,02 ^{de}	40
C3 - Área de cria	29,1 $\pm$ 0,40 ^e	28,1 $\pm$ 0,34 ^{be}	30,5 $\pm$ 0,40 ^{be}	1,37 $\pm$ 0,02 ^{ce}	40
Kruskal-Wallis ANOVA (H; P)	306,6; <0,001	307,2; <0,001	307,3; <0,001	313,3; <0,001

Figura 14. Variação da temperatura no período chuvoso em colônias de *Melipona scutellaris*. Temperaturas médias (A), mínimas (B) e máximas (C) registradas no ambiente (externa), na sala de laboratório e nas três colônias experimentais.

Figura 15. Comparação das temperaturas médias (A) e das variações diárias de temperatura (B) no período chuvoso em *Melipona scutellaris*. A linha central da caixa dos *boxplot* marca a mediana e as hastes delimitam a distribuição de 95% dos dados.

2.3.7. Termogênese da cria

A fim de compreender como a geração de calor metabólico pela cria (células com pupas) contribui para a termogênese da colônia (Roldão, 2011; Roldão *et al.* - submetido para publicação) foi observado que a temperatura dentro da estufa oscilou por volta da temperatura média escolhida para o experimento. Em todas as temperaturas incubadas, as caixas experimentais, que continham os favos de cria apresentaram temperaturas significativamente maiores que as temperaturas registradas na caixa controle (vazia). As caixas experimentais apresentaram um excesso de temperatura em comparação com a temperatura registrada na estufa e na caixa controle. Na menor temperatura de incubação, a de 15°C, as temperaturas nas caixas experimentais foram entre 1,7 e 2,3°C acima das temperaturas registradas na caixa controle. Com o

aumento das temperaturas de incubação (20°C, 25°C, 27,5°C e 30°C), a temperatura aumentou ainda mais, até uma diferença máxima entre a caixa experimental e a caixa controle, de 3,8°C e 4,5°C em 27,5°C e 30°C, respectivamente (Figura 16; Tabela 7). Acima de 30°C, o excesso de temperatura dentro da caixa experimental diminuiu. Na temperatura máxima de incubação escolhida, de 37,5°C, as temperaturas registradas nas caixas experimentais foram apenas de 0,6°C e 1,2°C acima das temperaturas registradas na caixa controle (Figura 16; Tabela 7).

No experimento B, foi avaliado se o número de células de cria sofria influência do favo (cera que compõe o favo de cria) na termogênese. Em todas as temperaturas incubadas, houve temperaturas maiores no experimento B₁ (72 - 85 células de cria) que no tratamento B₂ (39 - 47 células de cria) (Tabela 7).

Comparando as diferenças registradas no período chuvoso e seco, verificou-se que nas temperaturas incubadas de 25°C, 27,5°C e 32,5°C foi encontrado um excesso de temperatura maior no período chuvoso que no período seco e não houve diferença significativa entre os tratamentos de 15°C, 20°C, 30°C, 35°C ou 37,5°C (Figura 16; Tabela 7) (Roldão *et al.* submetido).

Figura 16. Termogênese da cria. Excesso de temperatura nas caixas experimentais e na caixa controle em diversas temperaturas (temperaturas incubadas). Valores médios $\pm$ 1DP do experimento A (losangos) realizado durante o período chuvoso e experimento B₁ (círculos incolores) e B₂ (círculos cinzas) realizado no período seco. As linhas tracejadas marcam diferenças significativas entre os experimentos; **, $P \leq 0.01$; ***, $P \leq 0.001$. †, diferença significativa entre os tratamentos experimentais (Tukey *pairwise comparison* $P < 0.05$) (Roldão *et al.* submetido).

Tabela 7. Temperaturas registradas nos experimentos de termogênese da cria. Média $\pm$ DP, registradas nas caixas experimentais e nas caixas vazias (controle) nas temperaturas de incubação respectivas. Letras diferentes sobrescritas indicam diferenças significativas (Tukey Test, $P \leq 0.05$). O excesso de temperatura ($T_{\text{caixa experimental}} - T_{\text{caixa controle}}$) registrada em cada temperatura incubada nos experimentos A e B₁ são comparadas usando Student's t-tests (t-values) ou Mann-Whitney Rank Sum-Tests (T-values).

		Temperaturas (°C)							
		15,0	20,0	25,0	27,5	30,0	32,5	35,0	37,5
Temperatura Experimento A	Incubação								
	Experimento A	16,3 $\pm$ 0,3	21,2 $\pm$ 0,3	27,8 $\pm$ 0,3	30,2 $\pm$ 0,3	32,5 $\pm$ 0,4	36,5 $\pm$ 0,4	36,7 $\pm$ 0,3	37,4 $\pm$ 0,2
	Controle	14,0 $\pm$ 0,3	19,0 $\pm$ 0,3	24,3 $\pm$ 0,7	25,3 $\pm$ 0,2	27,9 $\pm$ 0,7	33,1 $\pm$ 0,3	35,3 $\pm$ 0,2	36,2 $\pm$ 0,1
	Paired t-test	t = 16,3***	t = 18,0***	t = 14,6**	t = 40,9***	t = 17,6***	t = 22,5***	t = 10,2***	t = 16,6***
Temperatura Experimento B	Experimento B ₁	16,1 $\pm$ 0,2 ^a	21,1 $\pm$ 0,2 ^a	26,8 $\pm$ 0,3 ^a	30,1 $\pm$ 0,4 ^a	32,5 $\pm$ 0,3 ^a	35,5 $\pm$ 0,4 ^a	36,6 $\pm$ 0,2 ^a	37,3 $\pm$ 0,3 ^a
	Experimento B ₂	15,8 $\pm$ 0,2 ^b	20,9 $\pm$ 0,1 ^b	26,4 $\pm$ 0,3 ^b	29,8 $\pm$ 0,4 ^b	32,1 $\pm$ 0,3 ^b	35,1 $\pm$ 0,2 ^b	35,9 $\pm$ 0,2 ^b	37,0 $\pm$ 0,2 ^b
	Controle	14,1 $\pm$ 0,2 ^c	19,0 $\pm$ 0,2 ^c	24,1 $\pm$ 0,4 ^c	26,0 $\pm$ 0,6 ^c	28,3 $\pm$ 0,3 ^c	33,1 $\pm$ 0,2 ^c	35,0 $\pm$ 0,2 ^c	36,4 $\pm$ 0,3 ^c
	RM ANOVA	F = 467***	F = 1350***	χ^2 = 24,0***	χ^2 = 24,0***	χ^2 = 24,0***	F = 374***	χ^2 = 24,0***	χ^2 = 24,0***
Excesso de Temperatura	Experimento A	2,3 $\pm$ 0,5	2,2 $\pm$ 0,4	3,5 $\pm$ 0,8	4,9 $\pm$ 0,4	4,6 $\pm$ 0,9	3,4 $\pm$ 0,5	1,3 $\pm$ 0,4	1,2 $\pm$ 0,3
	Experimento B ₁	1,9 $\pm$ 0,2	2,2 $\pm$ 0,2	2,7 $\pm$ 0,5	4,1 $\pm$ 0,6	4,2 $\pm$ 0,5	2,5 $\pm$ 0,5	1,5 $\pm$ 0,3	0,9 $\pm$ 0,5
	Experimento B ₂	1,7 $\pm$ 0,5	2,0 $\pm$ 0,4	2,3 $\pm$ 0,6	3,8 $\pm$ 0,7	3,7 $\pm$ 0,6	2,0 $\pm$ 0,4	0,9 $\pm$ 0,3	0,6 $\pm$ 0,5
	t-test (A vs. B ₁)	T = 184,5	T = 145,0	t = 2,8**	t = 3,9***	t = 1,2	t = 4,5***	T = 134,5	T = 176,0

2.3.8. *Temperatura da superfície corpórea*

Temperatura da superfície do favo

De acordo com os dados apresentados na tabela 8, foi possível verificar que em *M. scutellaris* as temperaturas médias registradas foram maiores nas temperaturas de incubação de 15°C, 20°C, 25°C, 27,5°C, 30°C e 32,5°C, porém nas temperaturas de incubação restantes (35°C e 37,5°C) as temperaturas apresentaram médias menores que a temperatura ambiente (estufa), lembrando que as temperaturas registradas dentro da estufa foram próximas as estabelecidas em cada incubação, com oscilações de aproximadamente 0,7°C. Em *F. varia* foram registradas temperaturas maiores nas temperaturas incubadas de 15°C e 20°C. Nas temperaturas incubadas de 35°C e 37,5°C pode-se observar que as temperaturas médias registradas foram menores, assim como em *M. scutellaris*. Notou-se que nas demais temperaturas de incubação, as temperaturas médias registradas foram semelhantes às temperaturas estabelecidas. No entanto, nas colônias de *P. droryana* foi registrado temperatura média maior apenas na temperatura de incubação de 15°C, apesar de que as demais temperaturas médias registradas foram próximas às respectivas temperaturas de incubação. Esses resultados demonstraram que a área de cria auxilia no aquecimento do ninho em temperaturas acima de 15°C e em temperaturas acima de 35°C, auxilia em um resfriamento ativo do calor, observado anteriormente nos experimentos de termogênese da cria.

Temperatura da superfície do indivíduo

Os resultados mostraram que os indivíduos adultos presentes na área de cria apresentaram uma temperatura da superfície do tórax (*M. scutellaris*) semelhante ou maior que a temperatura de incubação do ninho. Em *M. scutellaris* a temperatura superficial do tórax variou de 21,8°C a 26°C na temperatura de incubação à 15°C, atingindo temperatura máxima de até 36°C. Na temperatura de incubação à 20°C, a temperatura da superfície do tórax variou entre 24,9°C e 27,8°C enquanto que em temperaturas de incubação à 25°C e 27,5°C, as temperaturas superficiais do tórax variaram de 26,7°C a 27,9°C e de 29,4°C a 35,7°C, respectivamente. A partir da temperatura de incubação à 32,5°C a variação da temperatura superficial do tórax foi menor, apresentando variação de 32,2°C a 33,5°C. Nas temperaturas de incubação à 35°C e a 37,5°C, as temperaturas superficiais do tórax foram menores que as temperaturas estipuladas (temperatura de incubação: 35°C - temperatura superficial média de 34,5°C; 37,5°C – temperatura superficial média de 36,2°C). Sendo assim, os dados demonstraram que a temperatura corpórea segue o mesmo padrão de aquecimento apresentado para os imaturos na área de cria (citados anteriormente), mostrando a importância e a capacidade da produção de calor ativo por meio das abelhas adultas e imaturos (Figura 17).

Figura 17. Comparação entre as temperaturas superficiais dos indivíduos presentes na área de cria e dos favos de acordo com as temperaturas de incubação. Nota-se que entre as temperaturas incubadas de 25°C e 32,5°C houve um aumento de temperatura da superfície corpórea dos indivíduos.

As temperaturas corpóreas individuais das abelhas *P. droryana* e *F. varia* também foram registradas, entretanto a nitidez da imagem foi comprometida devido ao tamanho pequeno dessas espécies (Figura 18). As abelhas adultas presentes na área de cria em *P. droryana* apresentaram temperatura da superfície corpórea média de 17,4°C para a temperatura de incubação à 15°C enquanto que à 20°C, essa temperatura média foi de 21,8°C. Nas temperaturas de incubação de 25°C, 27,5°C e 30°C, as temperaturas superficiais corpóreas médias foram de aproximadamente 0,8°C acima das temperaturas estipuladas (25°C: 25,6°C; 27,5°C: 28,6°C; 30°C: 30,8°C). A partir das temperaturas incubadas de 32,5°C, as abelhas *P. droryana* apresentaram temperaturas

corpóreas menores, assim como em *M. scutellaris* (32,5°C: 31,4°C; 35°C: 34,2°C) (Figura 18).

As abelhas *F. varia* apresentaram temperaturas corpóreas semelhantes à *P. droryana*, assim para as temperaturas de incubação de 15°C, 20°C e 25°C, foram registradas temperaturas médias de 21,6°C, 23,5°C e 26,1°C, respectivamente. As temperaturas incubadas de 27,5°C e 30°C apresentaram temperatura da superfície corpórea que variou de 28,1°C a 30,3°C. Além disso, a partir da temperatura de incubação de 32,5°C, as temperaturas médias foram menores, assim como nas outras duas espécies apresentadas acima (Figura 18). Assim, as temperaturas superficiais médias foram de 31,4°C para a temperatura de incubação de 32,5°C, 32,4°C para a temperatura de incubação de 35°C e 32,8°C para a temperatura de incubação de 37,5°C.

Tabela 8. Temperaturas médias, mínimas e máximas (média $\pm$ DP) registradas na superfície do favo (10 pontos marcados = 10 células) na área de cria dentro das colônias em diferentes temperaturas de incubação (estufa) nas três espécies estudadas. O asterisco (*) marca os grupos que não apresentaram diferença significativa (Dunn's Method; $P < 0,05$).

Temperaturas de Incubação	<i>Melipona scutellaris</i>				<i>Frieseomelitta varia</i>				<i>Plebeia droryana</i>			
	MIN	MÁX	MÉD	MIN	MÁX	MÉD	MIN	MÁX	MIN	MÁX	MÉD	MÉD
15°C	18,0 $\pm$ 0,94	37,0 $\pm$ 0,81*	25,2 $\pm$ 0,41	21,0 $\pm$ 0,72	24,2 $\pm$ 1,16	22,7 $\pm$ 0,89	15,1 $\pm$ 0,76	21,4 $\pm$ 1,08	15,1 $\pm$ 0,76	21,4 $\pm$ 1,08	18,4 $\pm$ 0,90	18,4 $\pm$ 0,90
20°C	19,5 $\pm$ 0,16*	35,8 $\pm$ 0,84*	26,7 $\pm$ 0,19	21,2 $\pm$ 0,47	23,0 $\pm$ 0,55	22,0 $\pm$ 0,40	18,3 $\pm$ 1,11	21,1 $\pm$ 0,60	18,3 $\pm$ 1,11	21,1 $\pm$ 0,60	19,3 $\pm$ 0,94	19,3 $\pm$ 0,94
25°C	22,4 $\pm$ 0,41	34,7 $\pm$ 1,34	28,5 $\pm$ 0,19	22,5 $\pm$ 0,76	25,7 $\pm$ 0,98	23,9 $\pm$ 0,79	21,3 $\pm$ 0,89*	24,4 $\pm$ 1,13	21,3 $\pm$ 0,89*	24,4 $\pm$ 1,13	22,5 $\pm$ 1,21	22,5 $\pm$ 1,21
27,5°C	25,5 $\pm$ 0,35*	36,1 $\pm$ 1,36*	30,3 $\pm$ 0,16	25,9 $\pm$ 0,42	29,1 $\pm$ 0,38	27,6 $\pm$ 0,38*	25,3 $\pm$ 0,90*	28,0 $\pm$ 0,51*	25,3 $\pm$ 0,90*	28,0 $\pm$ 0,51*	26,8 $\pm$ 0,64	26,8 $\pm$ 0,64
30°C	27,8 $\pm$ 0,48*	34,0 $\pm$ 0,97	31,6 $\pm$ 0,28	28,2 $\pm$ 0,31*	30,9 $\pm$ 0,29*	29,6 $\pm$ 0,28*	27,2 $\pm$ 0,46	30,1 $\pm$ 0,58*	27,2 $\pm$ 0,46	30,1 $\pm$ 0,58*	28,9 $\pm$ 0,56*	28,9 $\pm$ 0,56*
32,5°C	30,1 $\pm$ 0,27	34,4 $\pm$ 0,37	33,3 $\pm$ 0,16*	29,2 $\pm$ 0,21*	32,3 $\pm$ 0,17*	31,0 $\pm$ 0,19	29,0 $\pm$ 0,88*	32,1 $\pm$ 1,04	29,0 $\pm$ 0,88*	32,1 $\pm$ 1,04	31,0 $\pm$ 0,91*	31,0 $\pm$ 0,91*
35°C	32,1 $\pm$ 0,45	35,8 $\pm$ 0,40	33,9 $\pm$ 0,38*	30,2 $\pm$ 0,16*	33,5 $\pm$ 0,31*	32,2 $\pm$ 0,18*	31,3 $\pm$ 0,74*	34,5 $\pm$ 0,90*	31,3 $\pm$ 0,74*	34,5 $\pm$ 0,90*	33,4 $\pm$ 0,82*	33,4 $\pm$ 0,82*
37,5°C	34,8 $\pm$ 0,40	38,5 $\pm$ 0,22	36,3 $\pm$ 0,27*	31,2 $\pm$ 0,22*	34,9 $\pm$ 0,15*	33,3 $\pm$ 0,22*	-	-	-	-	-	-
Kruskal-Wallis ANOVA (H; P)	293,9; <0,001	201,0; <0,001	293,6; <0,001	163,7; <0,001	165,4; <0,001	164,3; <0,001	193,9; <0,001	188,7; <0,001	193,9; <0,001	188,7; <0,001	191,2; <0,001	191,2; <0,001

Figura 18. Imagens térmicas das espécies estudadas (A) *Plebeia droryana*, (B) *Frieseomelitta varia* e (C) *Melipona scutellaris* à 32,5°C. Pode-se notar que em *Melipona scutellaris* a nitidez da imagem permite uma melhor observação da temperatura corpórea dos indivíduos.

As abelhas incubadoras

Durante as filmagens térmicas em temperaturas de incubação de 27,5°C em *Melipona scutellaris*, foram observadas abelhas na área de cria com a temperatura da superfície do tórax muito elevada, em torno de 36°C (Figura 19). No experimento realizado para investigar esse fenômeno, foi verificado que essas abelhas com a temperatura superficial do tórax acima da média daquela observadas em outras abelhas, estavam com aproximadamente 15 dias de pós-emergência. Estudos anteriores (Sakagami, 1982; Cepeda, 2006; Ferreira-Caliman *et al.*, 2010 e Mateus, S. - informação pessoal) mostraram que abelhas *Melipona* nesta fase normalmente realizam a função de cuidado da prole (“nurses”) dentro do ninho, ou seja, estavam desenvolvendo uma atividade diretamente relacionada com a área de cria. Desta forma, as abelhas marcadas que foram observadas com a temperatura do tórax elevada foram capturadas e dissecadas para verificação do estágio de desenvolvimento ovariano. Foram capturadas 16 abelhas, das quais 14 apresentavam o ovário bem desenvolvido. Dessa forma, essas abelhas aqui no presente estudo receberam a denominação “abelhas incubadoras” (Figura 19). Além disso, foi verificado que essas abelhas apresentaram temperaturas superficiais do tórax cerca de 3°C acima das demais abelhas presentes na área de cria (Figura 20). Na espécie *Frieseomelitta varia* observamos o mesmo fenômeno a partir da temperatura de incubação à 32,5°C (Figura 19), porém os estudos foram aprofundados apenas na espécie *M. scutellaris* devido ao tamanho dos indivíduos. Portanto, acredita-se que há a presença das abelhas incubadoras em várias espécies de abelhas sem ferrão e que as mesmas são responsáveis pela produção de calor dentro do ninho e especificamente na área de cria.

Figura 19. Abelhas incubadoras. (A) Área de cria de *Frieseomelitta varia* à 32,5°C. (B) Área de cria de *Melipona scutellaris* à 27,5°C.

Figura 20. Temperaturas superficiais torácicas das abelhas incubadoras e de abelhas não incubadoras presentes na área de cria à 27,5°C. A linha central do *boxplot* indica a mediana e as hastes indicam a distribuição de 95% dos dados.

2.4. Discussão

Ao longo dos experimentos de registro das temperaturas das colônias no período seco, a temperatura externa apresentou variações diárias que foram de 6,92% a 12,1%, que possivelmente ocorreram devido a cada experimento ter sido realizado em anos distintos (2011 a 2013) e pelo período seco dessa região ser muito variável, sofrendo alterações ao longo dos dias. As temperaturas registradas na sala também apresentaram variações diárias de 2,15% a 9,64% em relação à média, demonstrando que a sala do laboratório pode ser considerada o primeiro isolante térmico para o ambiente onde foram mantidas as colônias, de acordo com o descrito em Roldão (2011).

Nesse período foi observado que em *Plebeia droryana* e em *Melipona scutellaris*, a temperatura da área de cria foi maior em relação a temperatura da periferia do ninho, de acordo com o sugerido por Zucchi & Sakagami (1972); Fletcher & Crewe (1981); Roubik & Peralta (1983); Engels *et al.* (1995); Torres *et al.* (2007); Sung *et al.* (2008). Além disso, foi maior também com relação a temperatura da área de cria registrada em *Frieseomelitta varia* que obteve em torno de 1°C acima da temperatura registrada na periferia do ninho e 2°C abaixo das temperaturas registradas na área de cria das outras espécies. Apesar das temperaturas dos ninhos de *F. varia* terem sido mais constantes, as mesmas não permaneceram elevadas como as registradas em *P. droryana* e *M. scutellaris*. Essa diferença pode ser atribuída ao fato desta espécie não apresentar invólucro, assim, causando menos estabilidade da temperatura na área de cria, por não possuir essa camada isoladora. As outras duas espécies que possuem o invólucro (*P. droryana* e *M. scutellaris*) apresentaram uma diferença pequena nas temperaturas da área de cria, em torno de 0,5°C, embora as duas espécies tenham mantido a temperatura da área de cria constante e em torno de 29,0°C. Até o momento, a maioria dos estudos voltados para a termorregulação de abelhas sem ferrão foram com espécies que possuem invólucro. Apenas Zucchi & Sakagami (1972) registraram temperaturas dentro do ninho em espécies que não apresentam invólucro como a *Frieseomelitta varia* onde sugeriram que essas abelhas apresentavam uma capacidade termorreguladora menor devido a variação entre as temperaturas pela ausência de uma estrutura isoladora de calor como o invólucro. Diante dessa comparação, é provável que essa pequena diferença seja devido ao tamanho corpóreo dos indivíduos, uma vez que as abelhas *P. droryana* possuem aproximadamente 0,3 cm enquanto que as

abelhas *M. scutellaris* possuem aproximadamente 1,2 cm. Dessa forma, pode-se observar que a estrutura do invólucro auxilia na manutenção da temperatura na área de cria, porém a existência da produção de calor metabólico é irrefutável.

Acredita-se que a temperatura da área de cria elevada tenha relação com a produção de calor metabólico por meio dos imaturos (Roldão, 2011 e Roldão *et al.* - submetido). Até o momento, havia apenas sugestões sobre a produção de calor por meio dos imaturos presentes na área de cria (Roubik & Peralta, 1983; Sung *et al.*, 2008). As larvas e pupas de abelhas são conhecidas como animais ectotérmicos, ou seja, que dependem da temperatura ambiente para regular sua temperatura corpórea, porém como foi demonstrado nos experimentos de termogênese da cria, verificou-se a existência de produção de calor metabólico por conta desses indivíduos. Assim, levantamos o questionamento de produção de calor *versus* metabolismo. Foi observada a produção de calor pela cria, que em temperaturas entre 25°C e 28°C apresentou um aumento de calor. Entretanto, após 30°C o mesmo calor diminui chegando a níveis muito baixos e a 35°C atingindo uma temperatura crítica para a cria conduzindo os indivíduos a morte ou para um colapso do ninho (Roldão *et al.* - submetido). De acordo com a literatura, o metabolismo desses insetos depende diretamente da idade e peso em que eles se encontram (Himmer, 1927; Schmolz & Schulz, 1995; Ruf & Fiedler, 2000; Schmolz & Lamprecht, 2000; Petz *et al.*, 2004). Portanto, quanto maior a idade e o peso de um indivíduo, maior será a produção de calor. No nível colonial (muitos indivíduos na área de cria) a produção de calor será maior ainda. É sabido que em abelhas sem ferrão, a área de cria possui favos com imaturos de várias idades (Nogueira-Neto, 1997), desta forma, pode-se dizer que dependendo da idade dos imaturos presentes em

determinado disco de cria, os mesmos produzirão mais ou menos calor metabólico e quanto maior o favo de cria, maior será a produção desse calor. Portanto, o processo de termogênese foi relacionado com a quantidade de cria observado no tratamento B₁, onde houve um maior número de pupas (72-85 células de cria) e assim, maior produção de calor. Além disso, os imaturos mais velhos (pupas) podem influenciar no aquecimento de células de cria próximas contendo imaturos mais jovens por meio da condução do calor (Tavares-Dantas, 2014). Portanto, os resultados apontam que a termogênese da cria é de extrema importância para a produção de calor na área de cria, porém não pode ser atribuída apenas pelos imaturos, assim mostrando o papel fundamental das abelhas adultas presentes na área de cria.

A temperatura da superfície corpórea dos indivíduos adultos permitiu conhecer a produção de calor na área de cria por esses indivíduos e assim entender a contribuição dessa produção de calor para a termorregulação do ninho. Os resultados indicaram que entre as temperaturas de 15°C e 30°C, as abelhas adultas presentes na área de cria produziram calor e que a partir de 35°C, mantiveram uma temperatura menor provavelmente para dar início ao resfriamento do ninho, assim como, observado nos experimentos de termogênese da cria que aos 35°C as pupas interromperam a produção de calor metabólico. Até o momento, foram realizados experimentos envolvendo a temperatura da superfície corpórea de abelhas *Apis mellifera* (Stabentheiner *et al.*, 2003; Kovac *et al.*, 2009; Stabentheiner *et al.*, 2010), em abelhas sem ferrão é um estudo pioneiro, uma vez que a termorregulação dessas abelhas sempre foi conhecida apenas por mecanismos passivos.

Em relação às abelhas encontradas, denominadas “abelhas incubadoras”, até o momento, Stabentheiner *et al.* (2003) foram os únicos autores a relatarem algo parecido, nesse caso, eles observaram abelhas melíferas em aglomerados no favo central do ninho. A temperatura da superfície dorsal do tórax apresentou um calor excessivo em relação às demais, que o autor denominou de “abelhas endotérmicas”.

Os resultados mostraram que essas abelhas incubadoras eram abelhas que desempenhavam a função de “nurses” dentro do ninho, porém não se conhece ainda, como ocorre o desempenho dessa incubação, ou seja, se ocorre como uma função comportamental de polietismo temporal ou se é apenas uma ação fisiológica, novas questões estão sendo levantadas sobre o tema.

Assim, pode-se observar que as abelhas sem ferrão possuem mecanismos de termorregulação complementares, com produção de calor ativo por meio de pupas e indivíduos adultos e o auxílio de retenção de calor por meio do invólucro que funciona como um isolante térmico para a área de cria, assim como o local de nidificação.

Referências Bibliográficas

ANGILLETTA JR, M. J. 2009. **Thermal adaptation: a theoretical and empirical synthesis**. Oxford University Press. USA. 306p.

BUJOK, B.; KLEINHENZ, M.; FUCHS, S. & TAUTZ, J. 2002. **Hot spots in the bee hive**. *Naturwissenschaften*. **89**: 299-301.

CARVALHO, M. D. F. 2009. **Temperatura da superfície corpórea e perda de calor por convecção em abelhas (*Apis mellifera*) em uma região semi-árida**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Mossoró/RN. 47p.

CEPEDA, O. I. 2006. **Division of labor during brood production in stingless bees with special reference to individual participation**. *Apidologie*. **37**: 175-190.

ENGELS, W.; ROSENKRANZ, P. & ENGELS, E. 1995. **Thermoregulation in the nest of the Neotropical stingless bee *Scaptotrigona postica* and a hypothesis on the evolution of temperature homeostasis in highly eusocial bees**. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*. **30(4)**: 193-205.

FERREIRA-CALIMAN, M. J.; NASCIMENTO, F. S.; TURATTI, I. C.; MATEUS, S.; LOPES, N. P. & ZUCCHI, R. 2010. **The cuticular hydrocarbons profiles in the stingless bee *Melipona marginata* reflect task-related differences**. *Journal of Insect Physiology*. **56**: 800-804.

FLETCHER, D. J. C. & CREWE, R. M. 1981. **Nest structure and thermoregulation in the stingless bee *Trigona (Plebeina) denoiti* Vachal (Hymenoptera: Apidae)**. *Journal of the Entomological Society of Southern Africa*. **44(2)**: 183-196.

GRODZICKI, P. & CAPUTA, M. 2014. **Diurnal and seasonal changes in thermal preference of single, isolated bees and small groups of bees (*Apis mellifera* L.)**. Journal of Insect Behavior. **27**: 701-711.

HALCROFT, M. T.; HAIGH, A. M.; HOLMES, S. P. & SPOONER-HART, R. N. 2013. **The thermal environment of nests of the Australian stingless bee, *Austroplebeia australis***. Insectes Sociaux. **60**: 497-506.

HEINRICH, B. 1981. **The mechanisms and energetics of honeybee swarm temperature regulation**. The Journal of Experimental Biology. **91**: 25-55.

HILÁRIO, S. D. 2005. **Atividade de voo e termorregulação de *Plebeia remota* (Holmberg, 1903) (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)**. Tese de Doutorado. Instituto de Biociências. Universidade de São Paulo. São Paulo – SP. 124p.

HILARIO, S. D. & IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. 2003. **Thermal evidence of the invasion of a stingless bee nest by a mammal**. Brazilian Journal of Biology. **63**: 1-8.

HIMMER, A. 1927. **Ein Beitrag zur Kenntnis des Wärmehaushalts im Nestbau sozialer Hautflügler**. Z. Vgl. Physiol. **5**: 375-389.

HÖLLDOBLER, B. & WILSON, E. O. 1990. **The Ants**. Cambridge, Belknap Press. 746p.

HOZUMI, S.; KUDÔ, K. & ZUCCHI, R. 2008. **Promotion of thermoregulatory insulation in nests of Neotropical wasps by building extra-combs with empty cells**. Neotropical Entomology. **37(2)**: 159-166.

JONES, J. C. & OLDROYD, B. P. 2007. **Nest Thermoregulation in Social Insects**. Advances in Insect Physiology. **33**: 153-191.

KLEINHERZ, M.; BUJOK, B.; FUCHS, S. & TAUTZ, J. 2003. **Hot bees in empty brood nest cells: heating from within.** The Journal of Experimental Biology. **206**: 4217-4231.

KOVAC, H.; STABENTHEINER, A. & BRODSCHNEIDER, R. 2009. **Contribution of honeybee drones of different age to colonial thermoregulation.** Apidologie. **40**: 82-95.

LOLI, D. 2008. **Termorregulação colonial e energética individual em abelhas sem ferrão *Melipona quadrifasciata* Lepeletier (Hymenoptera, Apidae, Meliponini).** Tese de Doutorado. Instituto de Biociências. Universidade de São Paulo. São Paulo – SP. 229p.

MICHENER, C. D. 1974. **The social behavior of the bees – a comparative study.** Harvard Univ. Press. Cambridge, Massachusetts. 404p.

MOO-VALLE, H.; QUEZADA-EUAN, J. J. G.; NAVARRO, J. & RODRIGUEZ-CARVAJAL, L. A. 2000. **Patterns of intranidal temperature fluctuation for *Melipona beecheii* colonies in natural nesting cavities.** Journal of Apicultural Research. **39(1-2)**: 3-7.

MORITZ, R. F. A. & CREWE, R. M. 1988. **Air ventilation in nests of two African stingless bees *Trigona danoii* and *Trigona gribodoi*.** Experientia. **44**: 1024-1027.

NOGUEIRA-NETO, P. 1997. **Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão.** São Paulo, SP: Nogueirapis. 445p.

PACHECO, R. L. F. & KERR, W. E. 1989. **Temperatura em abelhas da espécie *Melipona compressipes fasciculata*.** Ciência e Cultura. **41(5)**: 490-495.

PETZ, M.; STABENTHEINER, A. & CRAILSHEIM, K. 2004. **Respiration of individual honeybee larvae in relation to age and ambient temperature.** J Comp Physiol B. **174**: 511-518.

ROBERTS, S. & HARRISON, J. F. 1998. **Mechanisms of thermoregulation on flying bees.** American Zoologist. **38**: 459-502.

ROLDÃO, Y. S. 2011. **Termorregulação colonial e a influência da temperatura no desenvolvimento da cria em abelhas sem ferrão *Melipona scutellaris* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini).** Dissertação de Mestrado. Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto – SP. 90p.

ROLDÃO, Y. S.; TAVARES, M. R.; NASCIMENTO, F. S. & HRNCIR, M. *Submetido*. **Colony heterothermy in stingless bees (*Melipona scutellaris*): the importance of the brood for colony-thermogenesis.** Journal of Insect Physiology.

ROUBIK, D. W. & PERALTA, F. J. A. 1983. **Thermodynamics in nests of two *Melipona* species in Brazil.** ACTA Amazônica. **13(2)**: 453-466.

RUF, C. & FIEDLER, K. 2000. **Thermal gains through collective metabolic heat production in social caterpillars of *Eriogaster lanestris*.** Naturwissenschaften. **87**: 193-196.

SAKAGAMI, S. F. 1982. **Stingless bees.** In: HERMAN, H. R. **Social Insects.** London: Academic Press. Volume III. 361-423p.

SCHMOLZ, E. & LAMPRECHT, I. 2000. **Calorimetric investigations on activity states and development of holometabolous insects.** Thermochemica Acta. **349**: 61-68.

SCHMOLZ, E. & SCHULZ, O. 1995. **Calorimetric investigation on thermoregulation and growth of wax moth larvae *Galleria mellonella***. *Thermochimica Acta*. **251**: 241-245.

SEELEY, T. D. 2006. **Controle da Temperatura**. In: SEELEY, T. D. **Ecologia da Abelha: um estudo de adaptação na vida social**. Porto Alegre, RS: Paixão. **8**: 149-170.

STABENTHEINER, A. & SCHMARANZER, S. 1987. **Thermographic determination of body temperatures in honey bees and hornets: calibration and applications**. *Thermology*. **2**: 563-572.

STABENTHEINER, A.; PRESSL, H.; PAPST, T.; HRASSNIGG, N. & CRAILSHEIM, K. 2003. **Endothermic heat production in honeybee winter clusters**. *The Journal of Experimental Biology*. **206**: 353-358.

STABENTHEINER, A.; KOVAC, H. & BRODSCHNEIDER, R. 2010. **Honeybee colony thermoregulation – regulatory mechanisms and contribution of individuals in dependence on age, location and thermal stress**. *Plos One*. **5(1)**: 1-13.

SUNG, I.; YAMANE, S. & HOZUMI, S. 2008. **Thermal characteristics of nests of the Taiwanese stingless bee *Trigona ventralis hoozana* (Hymenoptera: Apidae)**. *Zoological Studies*. **47(4)**: 417-428.

TAVARES-DANTAS, M. R. 2014. **Termogênese e distribuição de calor pela cria de abelhas sem ferrão e sua relação com o estágio de desenvolvimento em ambiente semiárido**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Mossoró – RN. 65p.

TORRES, A.; HOFFMANN, W. & LAMPRECHT, I. 2007. **Thermal investigations of a nest of the stingless bee *Tetragonisca angustula* Illiger in Colombia**. *ThermochimicaActa*. **458**: 118-123.

TORRES, A.; HOFFMANN, W. & LAMPRECHT, I. 2009. **Thermal investigations of a nest of the stingless bee *Trigona (friesekomelitta) nigra paupera* provancher in Colombia.** Journal of Thermal Analysis and Calorimetry. **95(3)**: 737–741.

VOLLET-NETO, A. 2011. **Biologia térmica de *Scaptotrigona depilis* (Apidae, Meliponini): adaptações para lidar com altas temperaturas.** Dissertação de Mestrado. Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto – SP. 97p.

WEIDENMÜLLER, A.; KLEINEIDAM, C. & TAUTZ, J. 2002. **Collective control of nest climate parameters in bumblebee colonies.** Animal Behaviour. **63**: 1065-1071.

WINSTON, M. L. 2003. **A biologia da abelha.** Magister. Porto Alegre. 276p.

ZUCCHI, R. & SAKAGAMI, S. F. 1972. **Capacidade termo-reguladora em *Trigona spinipes* em algumas espécies de abelhas sem ferrão (Hymenoptera: Apidae: Meliponinae).** In: Homenagem a Warwick E. Kerr. Rio Claro. p. 301-309.

"Nada se assemelha à alma como a abelha.

*Esta voa de flor para flor,
aquela de estrela para estrela.*

*A abelha traz o mel,
como a alma traz a luz."*

Victor Hugo

CAPÍTULO 3

Metabolismo energético de indivíduos

Resumo

A relação entre metabolismo energético e temperatura tem sido objeto de estudo para as abelhas, uma vez que a temperatura é um parâmetro crucial para a vida em sociedade, assim como, para a vida de qualquer animal. Em abelhas sem ferrão, foi verificado por alguns autores que a taxa metabólica das abelhas adultas aumentou de acordo com a elevação da temperatura ambiente. Neste capítulo foi investigado o consumo de oxigênio, e consequentemente, a produção de dióxido de carbono com relação à temperatura de abelhas presentes dentro da área de cria para as três espécies estudadas. As taxas metabólicas foram obtidas por meio do processo de respirometria, que permite observar também a perda evaporativa de água e o quociente respiratório. Foi observado um aumento nas taxas respiratórias das abelhas *Melipona scutellaris* e *Frieseomelitta varia* entre as temperaturas de 15°C a 30°C. Além disso, as abelhas *Plebeia droryana* apresentaram taxas metabólicas variáveis entre as temperaturas de incubação. Foi verificado também que as abelhas consomem menos oxigênio quando estão em grupo do que individualmente. Assim, pode-se observar que o metabolismo energético está diretamente relacionado com a termorregulação das abelhas sem ferrão.

3. Introdução

O sucesso do desenvolvimento da cria, assim como, a sobrevivência de abelhas jovens e larvas dependem do controle da temperatura dentro da colônia (Petz *et al.*, 2004). Neste presente estudo foi verificado a produção de calor por meio de indivíduos adultos na área de cria (veja capítulo 2), assim, é interessante ressaltar que estudos apontam relação entre metabolismo energético e a termorregulação em abelhas sem ferrão (Proni & Hebling, 1996; Françoso Jr. & Bicudo, 2000; Proni & Macieira, 2004; Macieira & Proni, 2005; Loli, 2008).

A temperatura é um parâmetro crucial na vida de um animal. Ela pode influenciar quase todos os processos fisiológicos e bioquímicos, determinando uma grande quantidade de mudanças na vida dos animais (Huey & Berrigan, 2001; Kovac *et al.*, 2014). Assim, a respiração e o metabolismo são processos

essenciais que caracterizam o potencial ecológico das espécies. Essa sensibilidade metabólica e termal determina as relações entre o inseto e o ambiente (Kovac *et al.*, 2014).

O consumo de oxigênio entre forrageiras de abelhas melíferas foram apresentados por Crailsheim *et al.* (1999) e por Stabentheiner *et al.* (2003), que observaram uma maior taxa respiratória de acordo com o aumento da temperatura. Além disso, Fahrenholz *et al.* (1992) observaram, por meio de calorimetria, em diferentes castas de *Apis mellifera carnica* que a temperatura teve uma significativa influência sobre o metabolismo.

Em abelhas sem ferrão, ainda são poucos os estudos relacionando temperatura e metabolismo respiratório. Entretanto, Proni & Hebling (1996) sugeriram em *Tetragonisca angustula* um aumento nas taxas respiratórias juntamente com a elevação da temperatura e estas foram mais elevadas no verão, onde as temperaturas ambientais também foram maiores, que no inverno. Além disso, de acordo com Zucchi & Sakagami (1972), Proni & Hebling (1996) e Torres *et al.* (2007), a temperatura na área de cria aumentou depois que as operárias elevaram sua taxa respiratória nas espécies de abelhas sem ferrão estudadas (*Trigona spinipes*, *Tetragonisca angustula*). Foi verificada também a taxa respiratória de abelhas da espécie *Trigona spinipes* a fim de observar a influência da temperatura nessas abelhas durante os períodos de verão e inverno. A taxa respiratória das abelhas aumentou diretamente com a elevação da temperatura em ambos os períodos (Macieira & Proni, 2005).

Assim, mudanças nas taxas respiratórias ao longo do dia (Proni & Macieira, 2004; Loli, 2008) e diferenças entre essas taxas durante períodos, como o de verão e inverno (Proni & Hebling, 1996; Macieira & Proni, 2005),

apontam para uma termorregulação ativa dos meliponíneos (veja capítulo 2). Esses resultados demonstraram um ciclo no gasto de energia dos indivíduos.

Por meio da respirometria pode-se avaliar o consumo de oxigênio por um indivíduo ou por um conjunto deles. O sistema de respirometria é uma ferramenta versátil e eficaz para a descoberta científica, pois a taxa metabólica de um animal é afetada por muitos parâmetros, sendo estes externos, como a temperatura e concentrações de gases, assim como internos, como o estado hormonal e o nível de atividade (Lighton & Halsey, 2011). A técnica é baseada na diferença de concentração de um gás, no caso, o oxigênio, em um sistema animal. As relações metabólicas dos animais podem ser definidas em três níveis: (1) metabolismo padrão ou de repouso, que corresponde ao metabolismo basal ou de atividade mínima animal, (2) metabolismo de rotina, que refere-se a um padrão em que os animais tem movimentos restritos, mas não completamente imobilizados e (3) metabolismo ativo que está relacionado com uma atividade, como por exemplo o voo (Prosser, 1968; Macieira & Proni, 2005). Além disso, a taxa metabólica de repouso ou padrão é um importante parâmetro do metabolismo energético na vida dos insetos, determinando a padronização da energia mínima gasta por um indivíduo e relacionando o gasto de energia com as atividades particulares de cada indivíduo (Kovac *et al.*, 2007; Kovac *et al.*, 2014). De acordo com cada espécie, a taxa metabólica de repouso pode variar dependendo de alguns fatores, como o período de desenvolvimento, durante a diapausa, sobre o curso de um dia (ritmos circadianos), entre as estações do ano (Takahashi-Del-Bianco *et al.*, 1992; Davis *et al.*, 2000), e como consequência das mudanças de temperatura, a disponibilidade de água e de

tamanho, este último caso, é mais interessante do ponto de vista ecológico que tem sido fonte de estudos (Chown & Nicolson, 2004).

Como se pode perceber, há poucos trabalhos envolvendo o metabolismo energético das abelhas em relação a temperatura em que são submetidas. O conhecimento de aspectos fisiológicos das espécies de abelhas sem ferrão são de extrema importância para a compreensão dos mecanismos de termorregulação, e conseqüentemente, da produção de calor pelas operárias na área de cria.

3.1. Objetivos

Como visto anteriormente (veja capítulo 2), as abelhas adultas presentes na área de cria mantiveram uma temperatura corpórea maior que a temperatura as quais foram submetidas. Assim, neste capítulo foi investigada a taxa metabólica de repouso das abelhas das espécies *Plebeia droryana*, *Frieseomelitta varia* e *Melipona scutellaris*. Portanto, os objetivos específicos que orientaram esse estudo foram:

- ❖ Conhecer o consumo de oxigênio e a produção de dióxido de carbono de abelhas que estavam presentes na área de cria em temperatura ambiente.
- ❖ Avaliar a perda hídrica do organismo das abelhas durante o processo de respirometria.
- ❖ Avaliar o consumo de oxigênio e a produção de dióxido de carbono das abelhas que estavam presentes na área de cria em diversas temperaturas de modo a observar alterações na taxa metabólica.

❖ Relacionar a taxa metabólica das abelhas submetidas a diversas temperaturas com a produção de calor, e assim, a termorregulação do ninho.

3.2. *Material e Métodos*

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Morfo-fisiologia de Vertebrados da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, campus da Universidade de São Paulo, com a colaboração do Prof. Dr. Wilfried Klein. Para esta parte do trabalho, foram utilizadas cinco colônias de cada espécie (*Plebeia droryana*, *Frieseomelitta varia* e *Melipona scutellaris* – Hymenoptera, Apidae, Meliponini) mantidas em caixas de madeira com um vidro na parte superior. Um tubo plástico permitia a passagem das abelhas para o campo, uma vez que as colônias foram mantidas dentro de salas no laboratório.

3.2.1. *Metabolismo energético*

Os experimentos foram realizados por meio do sistema de respirometria fechada (ADInstruments com analisador de gases e Powerlab 8/35), utilizando-se taxas de consumo de oxigênio (VO_2) das abelhas. Foram realizados experimentos ao nível individual e do grupo. As abelhas foram capturadas de dentro da área de cria dos ninhos por meio de um sugador e condicionadas em seringas de diferentes volumes que variaram de acordo com o tamanho das espécies. As seringas possuíam um pequeno furo na parte posterior para a entrada de ar e uma válvula de três vias na parte anterior para o fechamento e abertura da passagem do ar de acordo com o necessário (Figura 21). No interior

das seringas, as operárias dispunham de espaço suficiente para caminhar. Para a visualização e análise dos dados foi utilizado o software LabChart 7.0 aderido ao sistema de respirometria. Para ambos experimentos foram analisados a razão entre a taxa de produção de CO_2 expelido e a taxa de consumo de oxigênio, conhecido como quociente respiratório (QR), que fornece uma estimativa da mistura de carboidratos, proteínas e lipídeos que estão sendo metabolizados e o equivalente calórico do oxigênio consumido. Foi calculada também a perda evaporativa de água durante os experimentos que consistiu da massa inicial dos indivíduos (antes do experimento) menos a massa final dos indivíduos após os experimentos. O cálculo estabelecido para o consumo de oxigênio e a produção de dióxido de carbono consistiu dos valores encontrados a partir da calibração (descrito posteriormente) multiplicado pela área, massa corpórea e tempo em que o indivíduo permaneceu fechado dentro da seringa. A disposição dos gráficos e os testes estatísticos foram realizados por meio do programa SigmaPlot 10.0 e SigmaStat 3.5.

Figura 21. Exemplificação da seringa fechada, nesta imagem com abelhas *Frieseomelitta varia*.

Taxa metabólica em temperatura ambiente

Para o experimento de metabolismo energético em temperatura ambiente (25°C) (realizado no período de 15/07/2013 a 06/03/2015), as abelhas *P. droryana* foram condicionadas em seringas de 0,9ml para um indivíduo e de 3ml para o grupo de 5 indivíduos enquanto que as abelhas *F. varia* foram condicionadas em seringas de 0,9ml para um indivíduo e de 5 a 10ml para o grupo de 5 indivíduos. As abelhas *M. scutellaris* foram acondicionadas em seringas de 3ml e 20ml, para um indivíduo e o grupo de 5 indivíduos, respectivamente. Foram realizadas 10 repetições para ambos experimentos, com um e cinco indivíduos diferentes, respectivamente. A massa das abelhas foi registrada individualmente antes e após o experimento para posterior análise dos dados. Após o acondicionamento das abelhas nas respectivas seringas, estas foram fechadas de 68 a 90 minutos para as abelhas *Plebeia droryana*, de 35 a 46 minutos para as abelhas *Frieseomelitta varia* e de 10 a 37 minutos para as abelhas *Melipona scutellaris*. Após esse tempo de fechamento cada seringa foi conectada ao sistema de respirometria e o ar foi passado da seringa para um secante (DM 060-24, ADInstruments) para remoção da umidade do ar e em seguida para o analisador de gases, registrando a queda no valor de O₂ e o aumento no valor de CO₂.

O sistema de respirometria foi calibrado preparando diferentes misturas de gases com um misturador de gases (Pegas 4000MF, Columbus Instruments). Essas diferentes misturas de O₂ e CO₂ foram passadas através do analisador de gases utilizando as mesmas seringas do experimento com os animais. Em seguida foram determinadas as áreas correspondentes à queda de O₂ e ao aumento de CO₂ no programa LabChart e plotadas contra o consumo de O₂ e a

produção de CO₂. As regressões lineares obtidas a partir dessa calibração apresentaram um $R^2 > 0,97$ e foram usados para transformar os dados obtidos com os animais.

Taxa metabólica em diversas temperaturas de incubação

A fim de compreender a relação entre metabolismo energético e a temperatura, o experimento envolvendo diversas temperaturas de incubação, foi realizado no período de 10/03/2015 a 11/03/2015. Para esse experimento foram utilizados grupos de 5 indivíduos com 7 repetições para cada espécie. As abelhas *P. droryana* foram acondicionadas em seringas de 1ml, as abelhas *F. varia* em seringas de 5ml e as abelhas *M. scutellaris* em seringas de 10ml. Posteriormente ao acondicionamento das abelhas nas seringas, as mesmas permaneceram durante 1 hora dentro de uma estufa incubadora (Quimis 315F15) para cada temperatura submetida (as mesmas utilizadas no capítulo 2: 15°C; 20°C; 25°C; 27,5°C; 30°C; 32,5°C; 35°C e 37,5°C) com as seringas abertas, onde foi colocado um *voil* para a entrada de ar. Assim, após 1 hora para cada temperatura, as seringas foram fechadas e permaneceram dentro da estufa. O tempo em que as abelhas ficaram fechadas nas seringas dentro da estufa variou de acordo com a espécie e com a temperatura em que as mesmas estavam sendo submetidas. As abelhas *P. droryana* ficaram fechadas por 30 minutos nas temperaturas de 15°C, 20°C e 25°C; 20 minutos nas temperaturas de 27,5°C, 32,5°C e 37,5°C; 15 minutos na temperatura de 30°C e 25 minutos na temperatura de incubação de 35°C. As abelhas *F. varia* permaneceram fechadas por 30 minutos nas temperaturas de 15°C, 20°C e 25°C; 25 minutos nas temperaturas de 32,5°C e 37,5°C; 20 minutos na temperatura de incubação

de 35°C; 15 minutos na temperatura incubada de 27,5°C e 10 minutos na temperatura de 30°C. Entretanto, as abelhas *M. scutellaris* permaneceram com as seringas fechadas por 30 minutos nas temperaturas de 15°C, 20°C e 25°C; 15 minutos nas temperaturas incubadas de 27,5°C e 30°C; 10 minutos nas temperaturas de 32,5°C e 35°C e 7 minutos na temperatura de 37,5°C.

Posteriormente, as seringas foram conduzidas ao sistema de respirometria e processados conforme descrito anteriormente. A massa das abelhas foi registrada individualmente antes e após o experimento para posterior análise dos dados.

3.3. Resultados

Taxa metabólica em temperatura ambiente

No primeiro momento, é possível notar que a perda evaporativa de água durante o processo da respirometria foi maior para o indivíduo sozinho do que para o grupo em todas as espécies de abelhas (Tabela 9 e 10). Foi observado que as abelhas *Melipona scutellaris* apresentaram taxas metabólicas maiores em relação as demais espécies tanto na parte realizada individualmente como na realizada com o grupo de 5 indivíduos. Além disso, essas abelhas apresentaram uma grande variação de atividade durante o experimento realizado em grupo. É provável que essa atividade do (s) indivíduo (s) tenha causado uma agitação e, por esse motivo, o grupo foi desconsiderado para o cálculo da média (Tabela 9; Figura 22).

Tabela 9. Médias $\pm$ desvio padrão da taxa metabólica das três espécies estudadas. Estão representados os valores da massa (g); perda evaporativa de água ($\mu\text{g/g.min}$); o volume de oxigênio ($\text{VO}_2 = \text{mLO}_2/\text{g.min}$); de dióxido de carbono ($\text{VCO}_2 = \text{mLCO}_2/\text{g.min}$) e quociente respiratório ($\text{QR} = \text{VCO}_2 [\text{mLCO}_2/\text{g.h}] / \text{VO}_2 [\text{mLO}_2/\text{g.h}]$). A nível individual e em grupo de 5 indivíduos.

		Individual	Grupo
<i>Melipona scutellaris</i>	Massa	$0,0856 \pm 0,0046$	$0,4159 \pm 0,0204$
	Perda de água	$0,1468 \pm 0,0859$	$0,0675 \pm 0,0559$
	VO_2	$0,1102 \pm 0,0318$	$0,1451 \pm 0,1258$
	VCO_2	$0,1241 \pm 0,0352$	$0,1697 \pm 0,1465$
	QR	$1,1267 \pm 0,0295$	$1,1798 \pm 0,0290$
<i>Frieseomelitta varia</i>	Massa	$0,0122 \pm 0,0018$	$0,0659 \pm 0,0077$
	Perda de água	$1,2036 \pm 0,3085$	$0,2761 \pm 0,0824$
	VO_2	$0,0305 \pm 0,0195$	$0,0194 \pm 0,0046$
	VCO_2	$0,0393 \pm 0,0248$	$0,0296 \pm 0,0060$
	QR	$1,6945 \pm 1,3123$	$1,5384 \pm 0,0821$
<i>Plebeia droryana</i>	Massa	$0,0066 \pm 0,0007$	$0,0263 \pm 0,0052$
	Perda de água	$2,2826 \pm 1,5413$	$0,1080 \pm 0,3566$
	VO_2	$0,0530 \pm 0,0111$	$0,0408 \pm 0,0188$
	VCO_2	$0,0458 \pm 0,0090$	$0,0442 \pm 0,0191$
	QR	$0,8730 \pm 0,1087$	$1,4555 \pm 1,2773$

De acordo com os dados apresentados, foi observado que houve diferença significativa entre os dois grupos experimentais (N = individual e grupo de 5 indivíduos) apenas para a perda evaporativa de água (Tabela 10). As análises dos dados mostraram que houve diferença significativa entre as espécies para o VO_2 , VCO_2 e perda evaporativa de água, entretanto não houve essa mesma diferença entre os grupos experimentais (individual e grupo de 5 indivíduos). O quociente respiratório (QR) não apresentou diferenças entre as espécies e o grupo experimental (individual ou grupo de 5 indivíduos) (Tabela 10).

Tabela 10. Análises estatísticas (Two Way ANOVA) mostrando dados significativos entre os valores de VO_2 , VCO_2 , perda hídrica e QR (valores médios apresentados na tabela 9), entre os fatores espécie e n (individual ou grupo de 5 indivíduos) durante o experimento em temperatura ambiente.

		Graus de liberdade	Soma de quadros	Quadrado da média	F	P
VO_2	Espécie	2	0,116	0,0582	8,658	<0,001
	Grupo experimental (N)	2	0,000290	0,000145	0,0216	0,979
VCO_2	Espécie	2	0,153	0,0765	11,426	<0,001
	Grupo experimental (N)	2	0,00219	0,00110	0,164	0,849
Perda de Água	Espécie	2	12,056	6,028	8,149	<0,001
	Grupo experimental (N)	2	16,755	8,378	11,325	<0,001
QR	Espécie	2	2,662	1,331	1,196	0,310
	Grupo experimental (N)	2	0,463	0,231	0,208	0,813

Figura 22. Taxas metabólicas médias das 10 repetições realizadas individualmente e com o grupo de 5 indivíduos para as três espécies de abelhas estudadas. Nota-se uma variação nas abelhas *Melipona scutellaris* nos experimentos em grupo. É provável que essa grande amplitude da variação ocorreu devido a atividade momentânea de indivíduo (s), o qual foi desconsiderado do cálculo da média. A linha central da caixa do *boxplot* representa a mediana e as hastes a distribuição de 95% dos dados. O círculo preto representa valores discrepantes (*outliers*).

Taxa metabólica em diversas temperaturas de incubação

As taxas metabólicas médias das 7 repetições para cada espécie de abelhas obtidas em diversas temperaturas de incubação podem ser observadas na tabela 12, assim como na figura 23. Foi possível observar que para as espécies *M. scutellaris* e *F. varia* a taxa metabólica aumentou de acordo com a temperatura entre 15°C e 30°C. As abelhas *Plebeia droryana* apresentaram uma variação entre a taxa metabólica obtida nas diversas temperaturas e apresentaram as menores taxas nas temperaturas de 20°C e 30°C (Figura 23). Além disso, foi observado que a perda evaporativa de água aumentou de acordo com a temperatura para as abelhas *Melipona scutellaris* enquanto que as demais espécies apresentaram uma evaporação hídrica média semelhante, embora tenha sido apresentado diferença significativa entre as espécies e a temperatura (Tabela 11).

As abelhas de todas as espécies estudadas apresentaram um quociente respiratório (QR) semelhante, não apresentando diferença significativa (Tabela 11). A partir da temperatura de 32,5°C as abelhas *Plebeia droryana* e *Frieseomelitta varia* consumiram menos oxigênio, ou seja, tiveram uma taxa metabólica menor com relação a temperatura de 30°C (Figura 23). Assim, pôde-se perceber também que as massas corpóreas dos indivíduos diferem entre as espécies, uma vez que as abelhas possuem tamanhos diferentes (Tabela 12).

Figura 23. Taxas metabólicas das 7 repetições do grupo de 5 indivíduos $\pm$ erro padrão, em diferentes temperaturas para as espécies *M. scutellaris* (preto), *F. varia* (vermelho) e *P. droryana* (verde).

Tabela 11. Análises estatísticas (Two Way ANOVA) mostrando dados significativos entre os valores de VO₂, VCO₂, perda hídrica e QR (dados representados na tabela 11), durante o experimento em diversas temperaturas.

		Graus de liberdade	Soma de quadros	Quadrado da média	F	P
VO ₂	Espécie	2	45,636	22,818	6,689	0,002
	Temperatura	7	59,048	8,435	2,473	0,020
	Espécie x Temperatura	14	112,040	8,003	2,346	0,006
VCO ₂	Espécie	2	0,0237	0,0119	50,207	<0,001
	Temperatura	7	0,0299	0,00427	18,062	<0,001
	Espécie x Temperatura	14	0,0112	0,000801	3,393	<0,001
Perda de Água	Espécie	2	10,661	5,330	381,382	<0,001
	Temperatura	7	1,065	0,152	10,882	<0,001
	Espécie x Temperatura	14	0,648	0,0463	3,314	<0,001
QR	Espécie	2	0,00454	0,00227	0,0108	0,989
	Temperatura	7	1,375	0,939	0,939	0,478
	Espécie x Temperatura	14	2,464	0,176	0,841	0,623

Tabela 12. Médias $\pm$ desvio padrão da taxa metabólica de grupos de 5 indivíduos das três espécies estudadas submetidas à diversas temperaturas. Estão representados os valores da massa (g); o volume de oxigênio ($VO_2 = \text{mLO}_2/\text{g} \cdot \text{min}$); o volume de dióxido de carbono ($VCO_2 = \text{mLO}_2/\text{g} \cdot \text{min}$); perda evaporativa de água ($\mu\text{g}/\text{g} \cdot \text{min}$) e quociente respiratório ($QR = VCO_2 [\text{mLO}_2/\text{g} \cdot \text{h}] / VO_2 [\text{mLO}_2/\text{g} \cdot \text{h}]$).

Temperaturas de Incubação									
	15°C	20°C	25°C	27,5°C	30°C	32,5°C	35°C	37,5°C	
<i>Melipona scutellaris</i>	Massa	0,4012 ± 0,0391	0,3988 ± 0,0399	0,3952 ± 0,0363	0,3841 ± 0,0371	0,3866 ± 0,0457	0,3904 ± 0,0364	0,3658 ± 0,0420	0,3955 ± 0,0354
	Perda de água	0,0362 ± 0,0131	0,0413 ± 0,0121	0,0324 ± 0,0087	0,0629 ± 0,0161	0,0574 ± 0,0226	0,0860 ± 0,0152	0,1492 ± 0,0192	0,2114 ± 0,0390
	VO ₂	0,0208 ± 0,0059	0,0164 ± 0,0058	0,0249 ± 0,0071	0,0440 ± 0,0164	0,0481 ± 0,0127	0,0261 ± 0,0122	0,0565 ± 0,0254	0,0556 ± 0,0233
	VCO ₂	0,0291 ± 0,0083	0,0238 ± 0,0080	0,0362 ± 0,0084	0,0634 ± 0,0228	0,0689 ± 0,0188	0,0394 ± 0,0180	0,0808 ± 0,0335	0,0807 ± 0,0341
	QR	1,3955 ± 0,0218	1,4531 ± 0,0735	1,4760 ± 0,0832	1,4481 ± 0,0285	1,4298 ± 0,0407	1,5259 ± 0,0939	1,4496 ± 0,0662	1,4502 ± 0,0359
<i>Frieseomelitta varia</i>	Massa	0,0681 ± 0,0058	0,0668 ± 0,0038	0,0678 ± 0,0049	0,0665 ± 0,0045	0,0678 ± 0,0033	0,0727 ± 0,0049	0,0684 ± 0,0032	0,0678 ± 0,0034
	Perda de água	0,2889 ± 0,0791	0,3022 ± 0,1372	0,1694 ± 0,0503	0,3258 ± 0,1118	0,4874 ± 0,2090	0,2081 ± 0,1074	0,3873 ± 0,1205	0,3051 ± 0,0605
	VO ₂	0,0146 ± 0,0055	0,0160 ± 0,0044	0,0294 ± 0,0033	0,0406 ± 0,0070	0,0450 ± 0,0097	0,0227 ± 0,0053	0,0280 ± 0,0101	0,0286 ± 0,0122
	VCO ₂	0,0204 ± 0,0074	0,0229 ± 0,0064	0,0415 ± 0,0046	0,0566 ± 0,0051	0,0664 ± 0,0149	0,0322 ± 0,0055	0,0414 ± 0,0112	0,0429 ± 0,0190
	QR	1,4053 ± 0,0759	1,4375 ± 0,0980	1,4133 ± 0,0300	1,4190 ± 0,1848	1,4761 ± 0,1158	1,4446 ± 0,1503	1,5245 ± 0,2372	1,4923 ± 0,0843
<i>Plebeia droryana</i>	Massa	0,0282 ± 0,0020	0,0291 ± 0,0023	0,0280 ± 0,0032	0,0284 ± 0,0031	0,0276 ± 0,0022	0,0275 ± 0,0024	0,0282 ± 0,0029	0,0276 ± 0,0024
	Perda de água	0,0200 ± 0,0058	0,0162 ± 0,0036	0,0152 ± 0,0038	0,0208 ± 0,0049	0,0219 ± 0,0050	0,0157 ± 0,0019	0,0200 ± 0,0040	0,0275 ± 0,0052
	VO ₂	0,0103 ± 0,0062	0,0086 ± 0,0055	0,0155 ± 0,0068	0,0222 ± 0,0100	0,0231 ± 0,0162	0,0177 ± 0,0088	0,0187 ± 0,0059	0,0225 ± 0,0101
	VCO ₂	0,0128 ± 0,0079	0,0115 ± 0,0067	0,0199 ± 0,0074	0,0295 ± 0,0098	0,0339 ± 0,0207	0,0269 ± 0,0126	0,0236 ± 0,0064	0,0278 ± 0,0132
	QR	1,2491 ± 0,2324	1,3843 ± 0,7000	1,3301 ± 0,2074	1,3754 ± 0,2101	2,0482 ± 1,9391	1,6315 ± 0,4853	1,2998 ± 0,2136	1,2130 ± 0,2165

A comparação entre os fatores espécie *versus* temperatura (Bonferroni t-test) para o volume de oxigênio (VO₂), o volume de dióxido de carbono (VCO₂) e perda evaporativa de água foram apresentados abaixo (Tabela 13, 14 e 15).

Tabela 13. Comparação entre os fatores espécie vs. temperatura (Bonferroni t-test) para o volume de oxigênio (VO₂) em diversas temperaturas. As diferenças significativas estão representadas por asterisco (*).

		Valores t	Valores P
VO ₂	15°C	<i>Plebeia droryana</i> vs. <i>Frieseomelitta varia</i>	3,812 <0,001*
		<i>Plebeia droryana</i> vs. <i>Melipona scutellaris</i>	3,805 <0,001*
		<i>Melipona scutellaris</i> vs. <i>Frieseomelitta varia</i>	0,00635 1,000
	20°C	<i>Melipona scutellaris</i> vs. <i>Plebeia droryana</i>	1,223 0,671
		<i>Melipona scutellaris</i> vs. <i>Frieseomelitta varia</i>	1,215 0,679
		<i>Frieseomelitta varia</i> vs. <i>Plebeia droryana</i>	0,00745 1,000
	25°C	<i>Plebeia droryana</i> vs. <i>Melipona scutellaris</i>	3,584 0,001*
		<i>Plebeia droryana</i> vs. <i>Frieseomelitta varia</i>	3,725 <0,001*
		<i>Frieseomelitta varia</i> vs. <i>Melipona scutellaris</i>	0,00440 1,000
	27,5°C	<i>Melipona scutellaris</i> vs. <i>Plebeia droryana</i>	0,0211 1,000
		<i>Melipona scutellaris</i> vs. <i>Frieseomelitta varia</i>	0,00343 1,000
		<i>Frieseomelitta varia</i> vs. <i>Plebeia droryana</i>	0,0178 1,000
	30°C	<i>Melipona scutellaris</i> vs. <i>Plebeia droryana</i>	0,0253 1,000
		<i>Melipona scutellaris</i> vs. <i>Frieseomelitta varia</i>	0,00311 1,000
		<i>Frieseomelitta varia</i> vs. <i>Plebeia droryana</i>	0,0222 1,000
	32,5°C	<i>Plebeia droryana</i> vs. <i>Frieseomelitta varia</i>	2,709 0,023*
		<i>Plebeia droryana</i> vs. <i>Melipona scutellaris</i>	1,021 0,927
		<i>Melipona scutellaris</i> vs. <i>Frieseomelitta varia</i>	1,581 0,348
	35°C	<i>Melipona scutellaris</i> vs. <i>Plebeia droryana</i>	0,0383 1,000
		<i>Melipona scutellaris</i> vs. <i>Frieseomelitta varia</i>	0,0288 1,000
		<i>Frieseomelitta varia</i> vs. <i>Plebeia droryana</i>	0,00949 1,000
	37,5°C	<i>Melipona scutellaris</i> vs. <i>Plebeia droryana</i>	0,0322 1,000
		<i>Melipona scutellaris</i> vs. <i>Frieseomelitta varia</i>	0,0274 1,000
		<i>Frieseomelitta varia</i> vs. <i>Plebeia droryana</i>	0,00591 1,000

Tabela 14. Comparação entre os fatores espécie vs. temperatura (Bonferroni t-test) para o volume de dióxido de carbono (VCO₂) em diversas temperaturas. As diferenças significativas estão representadas por asterisco (*).

		Valores t	Valores P	
VCO ₂	15°C	Melipona scutellaris vs. Plebeia droryana	1,988	0,146
		Melipona scutellaris vs. Frieseomelitta varia	1,059	0,874
		Frieseomelitta varia vs. Plebeia droryana	0,929	1,000
	20°C	Melipona scutellaris vs. Plebeia droryana	1,494	0,412
		Melipona scutellaris vs. Frieseomelitta varia	0,106	1,000
		Frieseomelitta varia vs. Plebeia droryana	1,388	0,502
	25°C	Frieseomelitta varia vs. Plebeia droryana	2,634	0,028*
		Frieseomelitta varia vs. Melipona scutellaris	0,616	1,000
		Melipona scutellaris vs. Plebeia droryana	1,914	0,173
	27,5°C	Melipona scutellaris vs. Plebeia droryana	3,965	<0,001*
		Melipona scutellaris vs. Frieseomelitta varia	0,833	1,000
		Frieseomelitta varia vs. Plebeia droryana	3,164	0,006*
	30°C	Melipona scutellaris vs. Plebeia droryana	4,259	<0,001*
		Melipona scutellaris vs. Frieseomelitta varia	0,305	1,000
		Frieseomelitta varia vs. Plebeia droryana	3,954	<0,001*
	32,5°C	Melipona scutellaris vs. Plebeia droryana	1,457	0,442
		Melipona scutellaris vs. Frieseomelitta varia	0,831	1,000
		Frieseomelitta varia vs. Plebeia droryana	0,652	1,000
	35°C	Melipona scutellaris vs. Plebeia droryana	6,961	<0,001*
		Melipona scutellaris vs. Frieseomelitta varia	4,798	<0,001*
		Frieseomelitta varia vs. Plebeia droryana	2,162	0,097
	37,5°C	Melipona scutellaris vs. Plebeia droryana	6,194	<0,001*
		Melipona scutellaris vs. Frieseomelitta varia	4,611	<0,001*
		Frieseomelitta varia vs. Plebeia droryana	1,764	0,240

Tabela 15. Comparação entre os fatores espécie vs. temperatura (Bonferroni t-test) para a perda evaporativa de água em diversas temperaturas. As diferenças significativas estão representadas por asterisco (*).

		Valores t	Valores P
Perda de água	15°C	<i>Plebeia droryana</i> vs. <i>Melipona scutellaris</i>	10,651 <0,001*
		<i>Plebeia droryana</i> vs. <i>Frieseomelitta varia</i>	6,652 <0,001*
		<i>Frieseomelitta varia</i> vs. <i>Melipona scutellaris</i>	3,999 <0,001*
	20°C	<i>Plebeia droryana</i> vs. <i>Melipona scutellaris</i>	8,191 <0,001*
		<i>Plebeia droryana</i> vs. <i>Frieseomelitta varia</i>	4,063 <0,001*
		<i>Frieseomelitta varia</i> vs. <i>Melipona scutellaris</i>	4,128 <0,001*
	25°C	<i>Plebeia droryana</i> vs. <i>Melipona scutellaris</i>	7,940 <0,001*
		<i>Plebeia droryana</i> vs. <i>Frieseomelitta varia</i>	6,097 <0,001*
		<i>Frieseomelitta varia</i> vs. <i>Melipona scutellaris</i>	2,082 0,117
	27,5°C	<i>Plebeia droryana</i> vs. <i>Melipona scutellaris</i>	10,277 <0,001*
		<i>Plebeia droryana</i> vs. <i>Frieseomelitta varia</i>	6,279 <0,001*
		<i>Frieseomelitta varia</i> vs. <i>Melipona scutellaris</i>	4,161 <0,001*
	30°C	<i>Plebeia droryana</i> vs. <i>Melipona scutellaris</i>	11,755 <0,001*
		<i>Plebeia droryana</i> vs. <i>Frieseomelitta varia</i>	4,950 <0,001*
		<i>Frieseomelitta varia</i> vs. <i>Melipona scutellaris</i>	6,805 <0,001*
	32,5°C	<i>Plebeia droryana</i> vs. <i>Melipona scutellaris</i>	7,372 <0,001*
		<i>Plebeia droryana</i> vs. <i>Frieseomelitta varia</i>	5,740 <0,001*
		<i>Frieseomelitta varia</i> vs. <i>Melipona scutellaris</i>	1,857 0,196
	35°C	<i>Plebeia droryana</i> vs. <i>Melipona scutellaris</i>	8,990 <0,001*
		<i>Plebeia droryana</i> vs. <i>Frieseomelitta varia</i>	5,221 <0,001*
		<i>Frieseomelitta varia</i> vs. <i>Melipona scutellaris</i>	3,769 <0,001*
	37,5°C	<i>Plebeia droryana</i> vs. <i>Melipona scutellaris</i>	11,988 <0,001*
		<i>Plebeia droryana</i> vs. <i>Frieseomelitta varia</i>	10,563 <0,001*
		<i>Frieseomelitta varia</i> vs. <i>Melipona scutellaris</i>	1,483 0,421

3.4. Discussão

Os mecanismos fisiológicos podem refletir as condições ecológicas. Assim, um princípio fundamental da fisiologia é a homeostase, permitindo a manutenção de um estado interno constante, através de mecanismos fisiológicos, frente às variações no meio externo (Kay, 1998).

Os resultados mostraram que a perda evaporativa de água foi maior individualmente que no grupo de 5 indivíduos e como pôde-se observar o consumo de oxigênio, por meio da taxa metabólica basal, não apresentou muita variação entre o indivíduo sozinho e o grupo em temperatura ambiente. Podemos perceber uma forte relação entre esses dois fatores, assim as abelhas consumiram menos oxigênio em grupo e conseqüentemente perderam menos água e o inverso é verdadeiro. De acordo com Contrera (2006) abelhas mantidas isoladamente possuem vida mais curta em comparação com abelhas dentro do ninho em condições naturais, talvez por esse motivo, as abelhas que foram submetidas aos experimentos individualmente consumiram mais oxigênio. Ainda não é sabido qual a relação dessa cooperação entre as abelhas de consumirem menos oxigênio quando estão em grupos, estendendo esse questionamento à colônia em que vivem.

Na literatura pode-se observar que a maioria dos dados sobre os efeitos da temperatura no metabolismo energético de abelhas mostraram uma relação direta entre a taxa metabólica e o aumento da temperatura. Estudos realizados por Verma & Edwards (1971), Fahrenholz *et al.* (1992), Proni & Hebling (1996), Stabentheiner *et al.* (2003), Macieira & Proni (2005) e Kovac *et al.* (2007) chegaram a essas conclusões. Em abelhas sem ferrão, Proni & Hebling (1996)

e Macieira & Proni (2005) mostraram que as taxas metabólicas aumentaram conforme o aumento da temperatura, porém os resultados obtidos indicaram um aumento da taxa metabólica entre as temperaturas de 15°C a 30°C para as abelhas *Melipona scutellaris* e *Frieseomelitta varia*, resultados encontrados também por Loli (2008) com abelhas *Melipona quadrifasciata* e que podem representar uma preferência termal para as abelhas do gênero *Melipona*. De acordo com os resultados apresentados no capítulo anterior (veja capítulo 2) a partir de 32,5°C as abelhas produziram menos calor na área de cria, assim, podem apresentar um consumo de oxigênio variável em temperaturas acima da observada neste estudo. Kovac *et al.* (2007) e Kovac *et al.* (2014) observaram a relação entre atividade respiratória em repouso e temperatura de abelhas *Apis mellifera* e indicou que abelhas em repouso foram fracamente endotérmicas. Kovac *et al.* (2007) acrescentaram ainda que acima de 10°C ocorreram ciclos descontínuos na troca gasosa entre essas abelhas.

Os valores de VO_2 obtidos em abelhas *Melipona scutellaris* no experimento em diversas temperaturas foram menores que os valores obtidos no experimento em temperatura ambiente. Isso ocorreu pois as abelhas no experimento em temperatura ambiente poderiam apresentar alguma atividade dentro das seringas e essa atividade “de agitação” aumentou o consumo de oxigênio. Além disso, foi observado que o QR, que fornece informações sobre o combustível utilizado no metabolismo, não apresentou diferenças entre as espécies e entre as diversas temperaturas de incubação, entretanto os resultados foram próximos a 1,0, onde Schmidt-Nielsen (2002) relata que um QR próximo de 1,0 sugere primariamente metabolismo de carboidratos.

É importante ressaltar que a perda evaporativa de água apresentou dados significativos. As abelhas *Melipona scutellaris* apresentaram uma perda hídrica maior de acordo com o aumento da temperatura. Além disso, houve diferenças significantes entre as espécies. De acordo com os princípios de alometria, a relação entre a área superficial e a massa corpórea é maior em animais pequenos, assim animais como os insetos costumam ter uma perda evaporativa de água maior. Até o momento não existem estudos em abelhas sem ferrão que relatem sobre a perda hídrica durante experimentos de respirometria ou calorimetria.

Foi observado que o VO_2 não obteve diferença nas temperaturas de 20°C, 27,5°C, 30°C, 35°C e 37,5°C entre as espécies, mostrando que o consumo de oxigênio nessas temperaturas foi semelhante para as três espécies estudadas. Isso ocorreu, provavelmente, devido ao tempo em que as seringas permaneceram fechadas. Essa diferença de tempo pode ter ocasionado pouca diferença na taxa metabólica das abelhas. As temperaturas de 20°C e 30°C também não apresentaram diferença significativa em forrageiras de *Melipona quadrifasciata* (Loli, 2008). Macieira & Proni (2005) apresentaram taxas metabólicas para as abelhas forrageiras *Trigona spinipes* de 2,1 e 1,5 $\mu\text{O}_2/\text{mg}/\text{h}$ para a temperatura de 15°C; 2,5 e 4,0 $\mu\text{O}_2/\text{mg}/\text{h}$ para a temperatura de 20°C; 2,8 e 4,0 $\mu\text{O}_2/\text{mg}/\text{h}$ para a temperatura de 25°C; 3,0 e 4,1 $\mu\text{O}_2/\text{mg}/\text{h}$ para a temperatura de 30°C e 4,5 e 7,3 $\mu\text{O}_2/\text{mg}/\text{h}$ para a temperatura de 35°C, nos períodos de verão e inverno, respectivamente. Os dados encontrados por Macieira & Proni (2005) concordam com os dados apresentados neste trabalho, cujas médias das taxas metabólicas nessas temperaturas foram entre 0,5 a 3,5 $\mu\text{O}_2/\text{mg}.h$, embora os autores tenham utilizado abelhas forrageiras como a

maioria dos trabalhos realizados até o momento (Macieira & Proni, 2005; Kovac *et al.*, 2007; Loli, 2008) e aqui utilizou-se abelhas de dentro da área de cria. Portanto, são necessárias mais investigações sobre a relação da taxa metabólica das abelhas, sua dependência com relação a temperatura ambiente e a produção de calor dentro do ninho.

Referências Bibliográficas

CHOWN, S. L. & NICOLSON, S. 2004. **Insect physiological ecology: mechanisms and patterns**. Oxford University Press, Oxford.

CRAILSHEIM, K.; STABENTHEINER, A.; HRASSNIGG, N. & LEONHARD, B. 1999. **Oxygen consumption at different activity levels and ambient temperatures in isolated honeybees (Hymenoptera: Apidae)**. *Entomologia Generalis*. **24(1)**: 1-12.

CONTRERA, F. A. L. 2004. **Trofaláxis e contatos sociais em abelhas sem ferrão do gênero *Melipona* Illiger, 1806 (Apidae, Meliponini)**. Tese de Doutorado. Instituto de Biociências. Universidade de São Paulo. São Paulo – SP. 195p.

DAVIS, M. A.; GRIME, J. P. & THOMPSON, K. 2000. **Fluctuating resources in plant communities: a general theory of invasibility**. *Journal of Ecology*. **88**: 528-534.

FAHRENHOLZ, L.; LAMPRECHT, I. & SCHRICKER, B. 1989. **Thermal investigations of a honeybee colony: thermoregulation of the hive during summer and winter and heat production of members of different bee castes**. *Journal of Comparative Physiology B*. **159**: 551-560.

FRANCOSO JR., O. A. & BICUDO, J. E. P. W. 2000. **Estudo comparativo e evolutivo do metabolismo aeróbio de *Melipona bicolor* Lepeletier (Hymenoptera: Apidae: Meliponinae)**. In: Resumos do IV Encontro Sobre Abelhas, Ribeirão Preto, Brasil. p. 86-93.

HUEY, R. B. & BERRIGAN, D. 2001. **Temperature, demography and ectotherm fitness**. *The American Naturalist*. **158(2)**: 204-210.

KAY, I. 1998. **Introduction of animal physiology**. Springer-Verlag New York. 215p.

KOVAC, H.; STABENTHEINER, A.; HETZ, S. K.; PETZ, M. & CRAILSHEIM, K. 2007. **Respiration of resting honeybees**. Journal of Insect Physiology. **53**: 1250-1261.

KOVAC, H.; KÄFER, H.; STABENTHEINER, A. & COSTA, C. 2014. **Metabolism and upper thermal limits of *Apis mellifera carnica* and *A. m. ligustica***. Apidologie. **45**: 664-677.

LIGHTON, J. R. B. & HALSEY, L. G. 2011. **Flow-through respirometry applied to chamber systems: Pros and cons, hints and tips**. Comparative Biochemistry and Physiology (Part A). **158**: 265-275.

LOLI, D. 2008. **Termorregulação colonial e energética individual em abelhas sem ferrão *Melipona quadrifasciata* Lepeletier (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)**. Tese de Doutorado. Instituto de Biociências. Universidade de São Paulo. São Paulo – SP. 229p.

MACIEIRA, O. J. D. & PRONI, E. A. 2005. **Influência da temperatura na taxa respiratória de abelhas forrageiras *Trigona spinipes* (Fabricius) (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae) durante períodos de verão e inverno**. Revista Brasileira de Zoologia. **22(4)**: 1159-1163.

PETZ, M.; STABENTHEINER, A. & CRAILSHEIM, K. 2004. **Respiration of individual honeybee larvae in relation to age and ambient temperature**. Journal of Comparative Physiology B. **174**: 511-518.

PRONI, E. A. & HEBLING, M. J. A. 1996. **Thermoregulation and respiratory metabolism in two Brazilian stingless bee subspecies of different climatic distribution, *Tetragonisca angustula fiebrigi* and *T. a. angustula* (Hymenoptera: Apidae: Meliponinae)**. Entomologia Generalis. **20**: 281-289.

PRONI, E. A. & MACIEIRA, O. J. D. 2004. **Ritmo circadiano da taxa respiratória de *Tetragonisca angustula fiebrigi* (Schwarz), *T. a. angustula* (Latreille) e *Trigona spinipes* (Fabricius) (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae).** Revista Brasileira de Zoologia. **21**: 987-993.

PROSSER, C. L. 1968. **Temperatura.** In: PROSSER, C. L. & BROWN JR, F. A. **Fisiologia comparada.** México: Interamericana. 2 ed. 256-306p.

SCHMIDT-NIELSEN, K. 2002. **Fisiologia Animal: adaptação e meio ambiente.** São Paulo, SP: Santos. 5 ed. 611p.

STABENTHEINER, A.; PRESSL, H.; PAPST, T.; HRASSNIGG, N. & CRAILSHEIM, K. 2003. **Endothermic heat production in honeybee winter clusters.** The Journal of Experimental Biology. **206**: 353-358.

TAKAHASHI-DEL-BIANCO, M.; BENEDITO-SILVA, A. A.; HEBLING, M. J. A.; MARQUES, N. & MARQUES, M. D. 1992. **Circadian oscillatory patterns of oxygen uptake in individual workers of the ant *Camponotus rufipes*.** Physiological Entomology. **17**: 377-383.

TORRES, A.; HOFFMANN, W. & LAMPRECHT, I. 2007. **Thermal investigations of a nest of the stingless bee *Tetragonisca angustula* Illiger in Colombia.** Thermochemica Acta. **458**: 118-123.

VERMA, L. R. & EDWARDS, D. K. 1971. **Metabolic acclimatization to temperature and temperature tolerance, in *Apis mellifera* and *Apis cerana indica* kept in India.** Journal of Apicultural Research. **10(3)**: 105-108.

ZUCCHI, R. & SAKAGAMI, S.F. 1972. **Capacidade termo-reguladora em *Trigona spinipes* e em algumas espécies de abelhas sem ferrão (Hymenoptera: Apidae: Meliponinae).** In: Homenagem a Warwick E. Kerr. Rio Claro. p. 301-309.

*"Os pensamentos vão e vem, constantemente,
e os bons, como as abelhas que
procuram o néctar das flores
para fazer o mel,
partem em busca da felicidade."
Tadeu Cavendem*

CAPÍTULO 4

Considerações finais

Durante o desenvolvimento deste trabalho verificou-se que as abelhas sem ferrão *Melipona scutellaris*, *Frieseomelitta varia* e *Plebeia droryana* apresentaram variações dentro de seus ninhos de acordo com a temperatura ambiental. Portanto, foi demonstrado que a temperatura dentro da área de cria é sempre elevada em relação à temperatura da periferia do ninho. Isso foi observado até mesmo em *Frieseomelitta varia*, que apesar de não possuir invólucro manteve a temperatura da área de cria maior. Em comparação com ninhos de *P. droryana* e *M. scutellaris* que possuem a adaptação estrutural do invólucro, *F. varia* apresentou temperaturas dentro dos ninhos com uma diferença de aproximadamente 2°C, embora essa variação não afete o desenvolvimento da cria e as funções desenvolvidas pelas abelhas adultas.

Os imaturos presentes na área de cria de abelhas *Melipona scutellaris* apresentaram resultados que confirmam o papel relevante na manutenção da temperatura estável na área de cria. A produção de calor metabólico pelas pupas indica um excesso de temperatura na área de cria que é inicialmente retida com o auxílio do invólucro, como uma camada de isolamento da temperatura. Porém em temperaturas acima de 35°C a produção de calor metabólico diminuiu consideravelmente, mostrando que acima dessas temperaturas a área de cria pode entrar em um colapso térmico podendo levar esses indivíduos e até mesmo a colônia à morte. Além disso, a maior produção de calor metabólico pelas pupas foi entre as temperaturas de 25°C a 30°C, com um excesso de temperatura de até 4°C acima da temperatura ambiente. Assim, demonstrando uma preferência termal que provavelmente está envolvida com um desenvolvimento mais rápido dos indivíduos imaturos.

Diante dos resultados obtidos, concluiu-se que as hipóteses sugeridas inicialmente neste trabalho foram confirmadas, mostrando que as abelhas sem ferrão produzem calor ativamente na área de cria, assim como as abelhas melíferas (termorregulação ativa) e utilizam as adaptações estruturais para a manutenção dessa temperatura (termorregulação passiva) por meio de camadas de isolamento. Além disso, foi encontrado neste trabalho o fenômeno muito interessante das abelhas incubadoras que estão diretamente relacionadas com a área de cria e que apresentaram uma temperatura superficial do tórax muito elevada, chegando até 36°C. Foi verificado que essas abelhas estão envolvidas com o cuidado da prole, porém ainda não se sabe se essa caracterização é um aspecto apenas fisiológico (por meio da ativação dos músculos do tórax para produzir calor) ou se está relacionado com o polietismo temporal da colônia, como um aspecto comportamental. Portanto, concluiu-se que em abelhas sem ferrão existe a produção de calor pelos indivíduos presentes na área de cria que é envolvido diretamente com a produção de calor metabólico das pupas.

Outro fator importante dentro dos ninhos de abelhas é a relação entre temperatura e o metabolismo energético que pode ajudar a compreender a termorregulação dentro do ninho. Assim, foi verificado que as abelhas *M. scutellaris* e *F. varia* apresentaram um consumo de oxigênio de acordo com o aumento da temperatura entre 15°C e 30°C, nota-se que essa faixa de temperatura onde foram observados esses resultados, está dentro da preferência termal citada anteriormente. Além disso, o volume de oxigênio consumido apresentou diferença entre as espécies. É interessante ressaltar que o consumo de oxigênio dentro o grupo de abelhas foi menor que individualmente, possivelmente esse fator também está relacionado com o aquecimento e

resfriamento do ninho. Até o momento ainda são poucos os estudos que relataram sobre o consumo de oxigênio em abelhas sem ferrão.

Portanto, este trabalho foi relevante para contribuir com o conhecimento dos mecanismos de regulação da temperatura em abelhas. De fato, a termorregulação colonial de abelhas sem ferrão é um assunto de interesse ecológico atual frente às mudanças climáticas globais e assim os resultados aqui apresentados revelam a necessidade de mais estudos que permitam compreender como os insetos sociais regulam suas atividades metabólicas básicas.