

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

**Fatores que interferem no comportamento enxameatório de
abelhas africanizadas**

GESLINE FERNANDES DE ALMEIDA

**Tese apresentada à Faculdade de
Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão
Preto da Universidade de São Paulo,
como parte das exigências para a
obtenção do Título de Doutor em
Ciências, Área: Entomologia**

**Ribeirão Preto-SP
2008**

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

**Fatores que interferem no comportamento enxameatório de
abelhas africanizadas**

GESLINE FERNANDES DE ALMEIDA

Orientador: Prof. Dr. Lionel Segui Gonçalves

**Tese apresentada à Faculdade de
Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão
Preto da Universidade de São Paulo,
como parte das exigências para a
obtenção do Título de Doutor em
Ciências, Área: Entomologia.**

**Ribeirão Preto-SP
2008**

CONFIA

(Autor desconhecido)

Quando tudo parece perdido, e a esperança desaparece, procure por mim, estou a teu lado embora não me vejas.

Quando lágrimas insistirem em cair dos teus olhos, lembra do sangue que derramei para que fosses feliz.

Quando o desejo de morrer tomar conta do teu ser, lembra que tua morte será em vão. Eu morri para salvar os homens e mesmo assim não consegui.

Eu tenho meu tempo.

Eu sou dono da vida e da morte e só morrerás em meu tempo.

Quando tudo parecer breu e os desamores, as descrenças e as desesperanças insistirem em tomar conta de teu coração, me busca, nunca abandonei quem de mim precisa, não serás tu, que confias em mim, que deixarei desamparado.

Vamos coloque um sorriso neste rosto, erga a cabeça e siga em frente, logo, logo, sentirás minha presença e tudo se resolverá.

Tristezas não cabem em meu mundo, e se te provo em coisas da vida, é porque sei, tens força suficiente para enfrentá-las.

Portanto filho espera e confia em meu tempo, tudo resolverei.

Entrega-te a mim sem medo.

Pai nenhum deste mundo abandona seu filho, aceite então as provações a que te submeto, estas só servirão, para engrandecer teu espírito, e te tornares mensageiro de minhas palavras e de meus atos em sua vida.

*Será testemunha viva do meu poder, e do meu amor, por aqueles que confiam em mim! “Eu sou a luz do mundo, aquele que me segue jamais andará nas trevas” **Eu te amo!***

Seja bom e nunca pense que tudo está perdido.

(Mensagem que recebi no momento de mais desespero da minha vida. Estava perdendo a minha filha. Heloísa tinha acabado de ter parada cardíaca e respiratória, mas conseguiu retornar, ressuscitar)

***Dedico este estudo: a DEUS pela força e coragem para continuar;
ao meu marido Ernando, pela paciência e ajuda em tudo, inclusive
na coleta de dados; minha filha por ter me dado a chance de ser mãe
e familiares pela força nesta longa caminhada. AMO MUITO
VOCÊS!!!***

AGRADECIMENTOS

A DEUS pela vida, força, coragem, por todos ensinamentos!!;

Ao meu marido Ernando Silva Ferreira por ter me incentivado e ajudado em todas as etapas dos meus experimentos. Desde a montagem dos gráficos até a montagem da estufa para as abelhas. Obrigada por estar sempre ao meu lado em tudo!! TE AMO!!;

A minha filha Heloísa Fernandes Ferreira (6 meses) pela força em superar qualquer dificuldade, até o da morte, por ter me ensinado a perseverar e superar tudo!! TE AMO MINHA FILHA!! Você é muito importante para mim;

Quero agradecer aos amigos, colegas, professores e funcionários que fizeram parte da minha trajetória desde 1996, quando entrei na Universidade Estadual de Feira de Santana para ser graduanda do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas. Obrigada pela força!!;

À Universidade Estadual de Feira de Santana (Ba) pelo incentivo à pesquisas científicas sérias e de qualidade, e pelo apoio financeiro destinado à Congressos e divulgação da pesquisa; aos quais me trouxeram até Ribeirão Preto para estudar;

À Profa. Dra. Cândida Maria Lima Aguiar, por ter me aceitado como orientada de 1996 a 2001, por ter guiado os meus passos, pela confiança, incentivo, amizade e dedicação, por acreditar em meu potencial... Enfim, obrigada por tudo!!;

À Profa. Dra. Miriam Gimenes, por ter me introduzido no estudo à cronobiologia com afinco e dedicação, por todos os ensinamentos e pela amizade;

À Universidade de São Paulo, pela assistência social;

Ao Prof. Dr. Lionel Segui Gonçalves, pela: ética, confiança, oportunidade, orientação dedicação, paciência, amizade, carinho; por acreditar e respeitar às minhas idéias, etc. Quem dera poder ser um dia o professor que foi comigo e com muitos outros orientados. Obrigada por segurar as minhas mãos e me ensinar mais passos. O senhor é grandioso e obrigada por existir!!;

À amiga e secretária Renata Andrade da pós-graduação pela paciência e excelência na sua profissão. Com você tudo fica mais fácil e gostoso. Obrigada por enxugar minhas lágrimas nos momentos de mais aflição!!!;

À Profª. Drª Zilá L. P. Simões, Profª. Drª. Márcia M. G. Bitondi, Prof. Dr. David de Jong, Prof. Dr. Ademilson E. E. Soares e Prof. Dr. Klaus H. Hartfelder, pela convivência e amizade durante todos estes anos;

A Profª. Drª Kátia Peres Gramacho pela amizade, incentivo, orientação e ajuda durante vários períodos de preparação deste estudo;

Ao Prof. Dr. Evandro Camillo, pela agradável companhia e seu bom humor contagiante;

Aos técnicos Adelino Penatti, João José dos Santos, Jairo de Souza, Luiz Roberto Aguiar e Roberto Mazzuco, pela amizade e serviços prestados durante todos estes anos;

A todos os funcionários das secretarias da Genética e da Filosofia;

À minha “família científica” Rogério Aparecido Pereira, Tiago Mauricio Francoy, Michelle Manfrini Moraes, Vanessa de Andrade Bugalho, Marina Lopes Grassi e Daiana Almeida De Souza pelo convívio, idéias, publicações; pela amizade e força em todos os momentos e, principalmente, neste momento que é o mais difícil da minha vida. Por todos estes maravilhosos anos de convivência. Nunca esquecerei de vocês!!;

Aos meus estagiários por todos os ensinamentos que me proporcionaram. Desculpa por qualquer coisa!!;

Aos grandes amigos da USP (Carol, Christiane, Custódio, Dirk, Eunice, Fábio Nascimento, Fabrício, Fernando, Gama, Giovanna, Gláucia, Gustavo, Ivelize Tannure, Jana, Luanda, Maura, Michelle, Michi, Rita, Rogério, Selma Bellusci, Sérgio, Sidnei Matheus, Sigi, Solange, Tati, Veronika, Gustavo, Tati, Giovanna, Luciana Maioli, Maristela, Marcia e Yana);

Às amigas Marcela B. Laure e Vera Lucia Figueiredo pela amizade e ajuda nos experimentos;

Ao amigo Pedro Roberto Prado, por toda ajuda nos computadores para coleta de dados;
Aos amigos do bloco A: Ana Durvalina Bontorim, Ana Maria Boneti, Aline Aleixo, Geusa Simone de Freitas, Anete Lourenço, Karina Guidugli, Rodrigo Dalacqua, Juliana Martins, Fernanda Torres, Moises Elias, Mônica Florecki, Ana Rita Batistela, Amanda Freire, Ana Paula Farnesi, Sergio Azevedo, Weyder Cristiano, Carlos Lobo, Paulo Emilio Alvarenga, Francis de Moraes, Alexandre Cristino, Adriana Mendes, Michele Prioli, Fabio Capelari, Camila Maia, Tathyana Melo, Liliane Macedo e Ivan Akatso;

Ao Departamento de Biologia da Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto;

Ao Departamento de Genética da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, por ter me acolhido para a realização deste trabalho;

Ao Departamento de Química da Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto, em especial à professora Dra. Maria Eugênia C. Queiroz e à amiga Dra. Andréa R. Chavez, pela utilização do laboratório e equipamentos, confiança, ajuda na preparação da metodologia e aquisição dos resultados que compõem esta tese;

A todos os amigos da Química e da Física que fizeram parte da minha vida;

Aos amigos Andréa Chavez, Silvio, Rodrigo Pires Dallacqua e Marcela pela convivência, carinho e ajuda em tudo!!!;

A todos os amigos de disciplinas, dos laboratórios adjacentes e da genética pelo convívio.

A todos os moradores da casa 12 e 13 por terem me acolhido sempre que precisei e pela amizade;

A todos os funcionários da oficina de precisão desta faculdade, em especial ao Sr. Ari Homem, pelos serviços prestados ao longo do projeto;

A todos os funcionários da INSIGTH EQUIPAMENTOS pela paciência e excelente trabalho. Ari, obrigada pela amizade!!!;

Ao coordenador da pós-graduação do curso de Entomologia da FFCLRP/USP Prof. Dr. Carlos Alberto Garófalo pela amizade e carinho desde 2002. Sem a ajuda sua e da pós-graduação não teria conseguido terminar esta tese. Obrigada pela força e dedicação em tudo o que faz!!!;

Ao meu assessor anônimo por ter aceitado meu projeto e corrigido meus relatórios enviados à Pós-graduação com afinco, e ter feito considerações pertinentes e importantes para o desenvolvimento do projeto;

A todos os funcionários do SEBRAE/RN por terem me recebido na cidade de Mossoró e feito parte do meu trabalho e minha vida;

Á CAPES, CNPQ, FAPESP, UFERSA, SEBRAE, Prefeitura Municipal de Mossoró, Governo do Estado do Rio Grande do Norte, por terem acreditado no projeto e por todo financiamento concedido à este estudo.

A todos meu sincero MUITO OBRIGADA!!

ÍNDICE

Páginas

| | |
|--|-----|
| I Revisão Bibliográfica..... | 1 |
| II Objetivos | 18 |
| III <i>Capítulo 1:</i> | |
| Enxameação Induzida por Aumento de Temperatura em Abelhas Africanizadas | |
| Resumo | 19 |
| 1- Introdução | 20 |
| 2- Metodologia | 23 |
| 3- Resultados | 29 |
| 4- Discussão | 77 |
| IV <i>Capítulo 2:</i> | |
| Determinação e quantificação de feromônios da glândula mandibular de rainhas em abelhas africanizadas do Brasil para estudos de comportamento usando Cromatografia Líquida. | |
| Resumo | 83 |
| 1- Introdução | 84 |
| 2- Metodologia | 88 |
| 3- Resultados | 91 |
| 4- Discussão | 96 |
| V Conclusões Gerais | 101 |
| VI Resumo Geral..... | 103 |
| VII Abstract..... | 104 |
| VIII Referências Bibliográficas | 105 |

I . REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1– Características das abelhas do gênero *Apis*

As abelhas do gênero *Apis* vivem em colônias de 50 a 60 mil indivíduos (em média), são insetos eusociais altamente especializados e apresentam um complexo padrão de organização, principalmente no interior do ninho. Esta organização social tem grande componente genético e é altamente adaptada ao ambiente externo (Gonçalves & Stort, 1978). Esta adaptação gera comportamentos variados, o que o torna alvo de estudos.

As abelhas eusociais vivem em colônias organizadas e divididas em castas, nas quais os indivíduos assumem funções bem definidas que são executadas visando à sobrevivência e manutenção da colônia. A rainha de *Apis mellifera* tem como funções: postura de ovos, manutenção da homeostase social na colônia e decisão sobre a quantidade de novas abelhas a serem produzidas; esta, por sua vez, depende da disponibilidade de alimento. Dependendo da idade, as operárias apresentam funções bem definidas como, por exemplo, coleta de alimento para a manutenção da colônia (Free, 1980).

As abelhas respondem a estímulos por mobilização de mecanismos comportamentais e feromonais adaptativos, visando a manutenção do nível de homeostase (Lipinsk, 2001). Todas as informações químicas, táteis, auditivas e visuais necessárias para a homeostase social de abelhas do gênero *Apis* são transmitidas entre os seus integrantes e, portanto, dependem da comunicação entre eles: uma inata habilidade de enviar e receber mensagens para a codificação das informações. As abelhas deste gênero reconhecem odores que lhes trazem informações a serem transmitidas para outros indivíduos, visando a antecipação de um determinado comportamento. Vários odores são chamados de feromônios, os quais são produtos químicos segregados por um animal (a abelha rainha, por exemplo) e, posteriormente, liberados para todos os membros da colônia, afetando o seu comportamento e sua fisiologia (Winston & Slessor, 1992).

A maioria dos feromônios é produzida pela rainha através das glândulas mandibulares. O feromônio é exudado no ar, liberado sobre seu corpo e passado às abelhas nutrizas durante a limpeza, ou quando estas estão sendo alimentadas (Gould & Gould, 1988). Outros feromônios também são produzidos pelos membros da colônia, como operárias, que produzem o feromônio a partir da glândula de Nasonov (feromônio de alarme), cria e zangões. Estes feromônios também desencadeiam vários outros comportamentos que são primordiais para a manutenção do equilíbrio interno.

As informações químicas, táteis, auditivas e visuais são utilizadas como ferramentas para o controle da homeostase social da colônia e, conseqüentemente, para perpetuação da espécie. Um exemplo de resposta a estímulos por mobilização de mecanismos comportamentais e feromonais é a enxameação. A enxameação reprodutiva é um processo normal que é necessário para a sobrevivência das espécies. Esta é uma estratégia reprodutiva em abelhas melíferas, a fim de repor enxames perdidos na natureza por predação ou fome, e para dar continuidade ao povoamento dos nichos ecológicos (Root *et al.*, 1990). Porém, apicultores de sucesso evitam a enxameação de suas colônias porque a redução dos enxames de abelhas significa perdas em termos de produção de mel e polinização. Além da enxameação reprodutiva existem outros tipos, como a migratória e por abandono, que ocorrem com maior freqüência nas abelhas africanas (Hepburn & Radloff, 1998) bem como nas africanizadas e promovem saída em massa dos indivíduos da colônia, demonstrando algum nível de stress generalizado.

2 – Padrão de atividade de vôo nas abelhas e fatores que influenciam.

Dentre as várias tarefas desenvolvidas pelas operárias para a manutenção da colônia, existem as tarefas de guarda e de forrageamento. Estas são atividades externas desempenhadas por operárias mais velhas que já possuam memória temporal suficiente para voar, para identificar o seu ninho, para reconhecer a qualidade e quantidade do alimento ou recurso coletado, e para transmitir essas informações a todos os membros da colônia, ao retornar do ambiente externo.

Segundo Hilário (2005), a atividade de vôo, também denominada atividade externa, é a saída ou entrada de abelhas no ninho com ou sem material. A atividade de vôo das abelhas do gênero *Apis* tem sido bastante estudada (Buriolla, 1988; Gonçalves & Oliveira, 1986; Souza, 1993; Souza & Gonçalves, 1994; Lundie, 1925; Ellis *et al.*, 2003; Huang & Seeley, 2003; Woyke, 1992; Woyke *et al.*, 2003).

Para as abelhas, comida significa néctar e pólen. Todas as exigências nutricionais da cria e dos adultos são supridas por estas duas substâncias produzidas pelas plantas. Além disso, outras substâncias também são coletadas pelas abelhas, como a própolis. A maioria destes recursos serve como proteção e defesa do ninho e como alimento para cria e para os adultos. O pólen e o néctar são os mais importantes, já que permitem a manutenção do metabolismo das abelhas adultas, e são constituintes do alimento larval (Michener, 1974; Roubik, 1989; Winston, 2003).

A atividade de vôo das abelhas é altamente dependente das condições ambientais. Fatores climáticos como variações de temperatura, de intensidade luminosa, de umidade relativa, incidência de vento ou de chuva modulam, ou mesmo suprimem, a atividade das abelhas. Além destes, é preciso considerar fatores bióticos, como a influência do tamanho da própria colônia (Bellusci, 1998), a disponibilidade e características das fontes de alimento, assim com a eficiente comunicação entre os indivíduos, promovida principalmente por feromônios (Engels *et al.*, 1997).

Vários estudos mostram relações de fatores que interferem na atividade de vôo em abelhas eusociais. A atividade de operárias de *Apis florea*, por exemplo, correlaciona-se positivamente com a temperatura do ar e com a intensidade luminosa e, negativamente, com a umidade relativa (Sihag & Abrol, 1986). Southwick & Moritz (1987) demonstraram que, eliminando as variações genéticas, as condições climáticas influenciam cerca de 92,4% na variação do comportamento defensivo das abelhas do gênero *Apis*, principalmente no que diz respeito à elevação da temperatura, umidade relativa e velocidade do vento.

Verma & Dulta (1986) compararam o comportamento de coleta entre *Apis cerana indica* e *Apis mellifera* em flores de maçã e constataram que a *Apis mellifera* iniciou a coleta, em média, às 6:27 horas e a terminou às 18:55 horas, com um período médio de forrageamento de 17,92 +/- 0,36 minutos. Verificaram também que o número de abelhas que coletavam néctar era maior do que as que coletavam pólen, e que o pico de atividades ocorria entre 11 e 13:20 horas, para temperaturas variando entre 21 e 25 °C. Jhajj & Goyal (1979), comparando também estas duas espécies de abelhas, verificaram que ambas coletavam pólen no período da manhã e, néctar, no período da tarde; e que esta mudança só aumenta a eficiência da colônia e, provavelmente, da abelha para um maior conhecimento das possíveis fontes de alimento para exploração futura.

Synge (1947), Maurizio (1949) e Percival (1950, 1955), mostraram que diferentes flores oferecem pólen em diferentes horários do dia e apenas durante um curto intervalo de tempo (normalmente pela manhã). Nenhuma planta oferece pólen o dia todo. Park (1949) in Jhajj & Goyal (1979) cita que, se as abelhas iniciam a coleta de pólen ou néctar de um determinado tipo de planta, elas não visitam outras fontes no mesmo dia.

A temperatura definitivamente tem um papel regulador importante. Geralmente as abelhas cessam as saídas para coletas a uma temperatura de 42 °C, na sombra (Kerr *et al.*, 1984). Além disso, foi observado um grande incremento na atividade quando a temperatura ambiente encontra-se entre 34 e 40 °C (Camargo, 1972).

As abelhas sociais transportam quantidades consideráveis de alimento para os ninhos, o que dá uma grande importância ao processo de forrageamento. O nível e a intensidade do forrageamento dependem de uma série de fatores, como disponibilidade e características das flores utilizadas como fonte de alimento, quantidade e qualidade dos recursos alimentares disponíveis ao longo do dia, variação anual do fotoperiodismo e presença de predadores (Kefuss & Nye, 1970; Nunes & Saunders, 1999, Woyke, 1992, Biesmeijer & Tóth, 1998; Biesmeijer *et al.*, 1999; Pernal & Currie, 2001).

3– Aspectos de termorregulação das abelhas

Insetos são animais poiquilotérmicos e, como tal, têm seu metabolismo e atividade influenciados pela temperatura corpórea que, por sua vez, está quase que inteiramente na dependência da temperatura do ambiente. Temperaturas baixas normalmente inibem a atividade, enquanto as altas geralmente estimulam o animal. A faixa de temperatura dentro da qual uma espécie pode sobreviver é limitada pelas temperaturas letais inferiores e superiores e, dentro dessa gama de temperaturas, existe ainda uma zona mais restrita de atividade normal. Assim, a maioria dos insetos pode, por exemplo, sobreviver em temperaturas mais baixas do que aquela na qual tem sua atividade interrompida (Mellanby, 1931).

No caso dos insetos sociais, o controle da temperatura no ambiente do ninho é condição essencial para a sobrevivência da colônia, porque os processos biológicos podem ser modificados e/ou alterados por variações da temperatura. Abelhas sociais necessitam e têm a capacidade de controlar o micro-clima do ninho. Abelhas do gênero *Apis* conservam calor por aglomeração de indivíduos, produzem calor por contração muscular, controlam a temperatura através da ventilação, etc., características estas que permitiram sua expansão para as regiões temperadas (Budel, 1968; Heran, 1968).

De acordo com Michener (1974), um dos principais atributos do comportamento eusocial é conferir à colônia a habilidade de controlar as condições de vida no interior do ninho. Assim, a homeostase social envolve virtualmente todas as funções da colônia, incluindo suprimento de alimento, defesa da colônia contra inimigos naturais, bem como controle das condições físicas dentro do ninho.

O controle da temperatura interna é um dos principais mecanismos que garantem essa homeostase. May (1979) define termorregulação como a capacidade que um organismo tem de controlar, manter e normalizar suas condições internas através da temperatura, de resposta comportamental ou fisiológica ativa ao seu ambiente natural.

No caso das abelhas, a termorregulação é possível dentro de certos limites. O aquecimento do corpo ocorre por absorção do calor do ambiente. Com este mecanismo, as abelhas podem elevar sua temperatura interna acima da ambiental. Contrações da musculatura do vô também contribuem para a geração de calor no interior do corpo. Esse potencial termorregulador parece surgir cedo na vida das operárias, porque abelhas do gênero *Apis* geram calor apenas alguns dias depois de nascerem (Esch, 1960; Heinrich, 1974).

Segundo Seeley (2006), o controle preciso da temperatura do ninho pode ser visto como uma das maiores inovações da biologia da abelha que se tornou possível pela evolução de sua sociedade. Em abelhas melíferas, entre o final do inverno e o início do outono (período anual de desenvolvimento da cria pelas abelhas) a temperatura na região central do ninho (berçário da colônia) é mantida entre 33 e 36 °C, com média aproximada de 34,5 °C, e variando normalmente em menos de 1 °C por dia (estudos desenvolvidos por Hess, 1926; Himmer, 1927; Dunham, 1929).

Os mecanismos que estão por baixo desta impressionante habilidade termorregulatória incluem um conjunto de comportamentos perfeitamente integrados, e dispositivos fisiológicos por meio dos quais as colônias regulam-se (Seeley, 2006).

As operárias podem promover o controle da temperatura interna do ninho. Para tanto, elas posicionam-se junto à entrada do tubo e, através do batimento das asas, promovem a circulação do ar para dentro ou para fora, aquecendo ou resfriando o ninho. A regulação do sentido de circulação do ar que flui através do sistema traqueal pode também ter um efeito na transferência de calor (Heinrich, 1974 e 1996). Estas também precisam manter a temperatura torácica acima de 27 °C, aproximadamente, para voar (Esch, 1976; Heinrich, 1979). Com a temperatura abaixo deste valor, os músculos de vô não conseguem gerar a frequência mínima de batimento de asas para produzir a força de arrancada necessária para se lançarem em vô (Josephson, 1981). A ação de aquecimento pré-vô definiu, evidentemente, o estágio para a evolução do aquecimento do ninho, uma vez que os mecanismos para aquecer os músculos de vô e aquecer o ninho são os mesmos (Esch, 1960) e, em ambas as situações, as asas de uma abelha permanecem imóveis e superpostas em cima do abdômen.

Free & Simpson (1963), estudando o metabolismo respiratório em colônias de *Apis mellifera* expostas a baixas temperaturas, verificaram que no inverno a colônia controlava a temperatura através de variações na produção de calor por agrupamentos de abelhas.

Inversamente, outra estratégia termorreguladora é adotada pelas operárias, quando a temperatura ambiente é alta. Elas espalham a água transportada no papo sobre todas as células

da colônia e, com a subsequente evaporação, há uma diminuição da temperatura interna da colônia (Lindauer, 1955).

O controle da temperatura interna é muito importante para diversas funções. Boyle-Makonski (1987), por exemplo, mostrou que o aumento da temperatura interna da colônia tem grande influência sobre o comportamento de saída das abelhas para forragear durante todo o dia. Ainda, outro dado mostra a importância desse controle. Foi mostrado que, enquanto operárias podem sobreviver a temperaturas acima de 50°C (Coelho, 1991), uma temperatura acima de 36°C, durante longo tempo, provoca morte ou desenvolvimento anormal da cria em *Apis mellifera* (Winston, 1987).

Segundo Roces (1995), em formigas ectotérmicas, a temperatura ambiental está diretamente relacionada com o crescimento da colônia, influenciando a atividade das operárias forrageadoras e o tempo de desenvolvimento da cria. Roces & Nuñez (1996) estudando o ritmo circadiano de preferência térmica para alocação da cria em um ninho de formigas, mostraram que os ciclos de temperatura têm efeitos importantes na sincronização da atividade de forrageamento.

Unwin & Corbert (1984), descreveram a relação entre temperatura ambiente e a frequência do batimento de asas de abelhas de diferentes tamanhos. Os resultados mostraram que a temperatura da entrada do ninho flutuou menos do que o ar adjacente e, foi ligeiramente maior do que a temperatura do ar ambiente de manhã e à tarde, mas menor ao redor do meio dia.

4 – Detectores de atividade (Apidômetro)

Detectores de atividade para abelhas evoluíram bastante ao longo dos anos, desde 1925. Naquele ano, Lundie obteve registros da atividade de vôo de *Apis* por meio de um registrador similar ao de mensagens telefônicas. O primeiro trabalho, que descreve o uso de células fotoelétricas na contagem de abelhas foi escrito por Brittain (1933). Logo após, Kerfoot (1966) criou um dispositivo para registrar a atividade da abelha solitária, *Agapostemon texanus*. O aparelho consistia de um emissor de luz infravermelha e uma fotocélula, e a interrupção desta luz era comunicada a um quimógrafo. Em 1969, Spangler desenvolveu um contador fotoelétrico de estrutura única para observação de colônias de abelhas *Apis mellifera ligustica*. Cada abelha que passava através do contador em cada direção era registrada sobre um contador digital, e uma simples câmera, periodicamente, registrava os dados de ambos os contadores.

Kefuss & Nye (1970) utilizaram um dispositivo que fazia fotografia a cada 30 segundos. Em 1977, Nuñez utilizou uma pequena caixa-armadilha para reter forrageiras de *A. mellifera ligustica* e contá-las. No entanto, a caixa era fechada após um minuto de amostragem, pois as abelhas poderiam liberar feromônio de alarme e isto deflagraria reação de defesa da colônia. Szabo (1980) contou abelhas que saiam através de um cone de arame.

A partir de 1988 a 1994, outros dispositivos mais sofisticados foram idealizados para *Apis* (Buriolla, 1988; Liu *et al.*, 1990; Strye *et al.*, 1991; Souza & Gonçalves, 1994). O número de pesquisas envolvendo fotocélulas aumentou e os registros de atividade passaram a ser também contados e disponíveis na tela de um computador. Souza (1993) utilizou um registrador automático de atividades de entrada e saída das abelhas da colméia, chamado de Apidômetro, para estudar a influência da temperatura sobre as atividades noturnas de saída de operárias de abelhas africanizadas. O Apidômetro era dotado de células fotoelétricas que registravam o número exato de abelhas, individualmente, que passavam pelos seus sensores; porém o sistema permitia o registro das atividades em papel mas no entanto não havia interface com o computador.

Em 2001 Eltz & Vonend *in* Hilário (2005), obtiveram registros da atividade de vôo de 22 colônias de *Trigona collina*, nas florestas de Bornéu. Eles utilizaram um dispositivo com fotocélulas, que contava abelhas em intervalos de cinco minutos. Simultaneamente, foi possível o registro de atividade de vôo em quatro colônias, por um período ininterrupto de 10 a 14 dias. Em 1998, Bellusci utilizou um dispositivo (chamado de Apidômetro também) para contagem do número de forrageadoras de *Scaptotrigona aff. depilis* semelhante ao de Buriolla (1988) e Souza & Gonçalves (1994) para contagem de forrageiras em *Apis*.

O mesmo Apidômetro utilizado por Bellusci (1998), foi utilizado por Bellusci em 2003, porém desta vez usando o computador para estudos de ritmo de atividade de vôo e influencia de fatores ambientais em abelhas sem ferrão. Posteriormente Almeida (2004) e Teixeira (2003) também fizeram estudos com Apidômetro em abelhas sem ferrão utilizando o mesmo mecanismo de coleta que Bellusci. Hilário (2005) também utiliza registros automáticos; a atividade de vôo dos indivíduos de *Plebeia remota*, que entravam e saiam de um tubo plástico foram registrados através de fotocélulas. Estes sensores eram conectados a um computador por meio de um controlador lógico programável, assim como o utilizado por Bellusci (2003).

É através da atividade de vôo que as abelhas reconhecem o ambiente externo e, ao retornar à colônia, passam todas as informações deste ambiente. Vários mecanismos são ativados, ou até mesmo mascarados, para atender às necessidades internas e sobrevivência da espécie. Assim, a automatização do sistema de coleta de dados referente à atividade de vôo

abre uma grande perspectiva de novas descobertas sobre os vários tipos de comportamentos das abelhas, obtendo respostas claras e concisas.

5- Comportamento Enxameatório (Tipos)

Como diz Winston (2003), não há nenhum evento mais espetacular na vida de uma colônia do que a reprodução pela enxameação. Na enxameação por divisão da colônia, grande parte das operárias e a rainha velha, ou uma nova, saem do ninho para procurar uma casa nova. Quando um enxame sai, constata-se um zumbido causado por milhares de abelhas que procuram sua rainha e um lugar para se amontoar.

Alguns dias antes da enxameação reprodutiva, operárias saem em busca de um abrigo para escolha de um outro sítio de nidificação e, quando a enxameação se inicia, as abelhas já sabem o local para onde vão. Após deixarem a colônia parental, o enxame voa em massa a curta distância e os indivíduos fixam-se num suporte, como, por exemplo, um galho de árvore, formando um “cluster” temporário (Morse & Hooper, 1985), sendo esse o momento ideal para capturá-las.

Esta enxameação ocorre geralmente quando as condições ambientais são ótimas, fazendo com que a população de abelhas se desenvolva de tal maneira que o espaço físico da cavidade do ninho que ela ocupa se torna pequeno. Precedendo a enxameação, as abelhas operárias promovem o nascimento de uma outra rainha e, antes que esta nasça, a rainha velha e suas acompanhantes partem para um outro local. Este tipo de enxame é denominado de enxame primário. Este tem sempre uma rainha fecundada (Ribbands, 1953).

Este comportamento de enxameação caracteriza então, uma colônia que está se reproduzindo e pelo fato da abelha africanizada possuir um maior instinto enxameatório, ocorreu uma dominância da abelha africana sobre a européia aqui no Brasil. Esta reprodução mais rápida está relacionada entre outros fatores, ao tempo de desenvolvimento da cria, o qual é menor para as abelhas africanizadas (Buriolla, 1988).

Fletcher (1978) diz que “migração” envolve colônias completas, inteiras, deixando uma área de poucas fontes de alimento e o termo “abandono” refere-se ao fato das abelhas abandonarem um local devido a condições adversas, como por exemplo, o ataque de algum predador. Diz ainda que a migração é sazonal e mais pronunciada em algumas áreas ecológicas do que em outras, e que a direção de movimento das abelhas não está fixado evolutivamente, isto é, a exploração de uma área com floradas ricas é feita de forma totalmente oportunista pelas abelhas *adansoni*, na África. Hellmich II *et al.*, (1986) estudando

o acasalamento de rainhas africanizadas e européias, verificaram que colônias de abelhas africanizadas, com rainha virgem, abandonaram suas colméias vinte vezes mais do que colônias de abelhas européias.

As abelhas africanizadas reagem ao fluxo de alimento. Quando as condições de fluxo de alimento são ótimas, essas abelhas trabalham incessantemente e expandem sua população. Quando o fluxo diminui, para não morrerem de fome e não perderem a sua colônia, as abelhas abandonam a colméia e vão procurar um outro local adequado para a sua sobrevivência (Diniz, 1990).

Segundo o Prof. Gonçalves (L. S. Gonçalves, informação pessoal), em 2006 foram registradas perdas de colônias de abelhas africanizadas por abandono ou migração, no Rio Grande do Norte, em taxas de 40 a 50% de enxameações destes tipos, o que representa uma grande perda e prejuízo aos apicultores nordestinos.

A enxameação natural (reprodutiva) e o abandono, associados à alta capacidade destas abelhas explorarem e sobreviverem em diferentes nichos permitiram a dispersão das abelhas africanizadas, sendo necessárias técnicas de análise de caracterização das populações, bem como o controle desta dispersão no intuito de prevenir e controlar acidentes. Foi elaborado então (Diniz, 1990), uma estratégia de coletas de enxames através de caixas iscas, construídas com base em informações de apicultores brasileiros a respeito da preferência das abelhas em se instalarem em caixas iscas. O método de coleta de enxames teve um desempenho satisfatório, tendo exercido grande atração como sítio de nidificação.

Hepburn & Radloff (1998), em seu livro que fala das abelhas melíferas africanas, definem claramente 3 tipos de saída em massa de indivíduos da colônia (ou variação de mobilidade das colônias): enxameação reprodutiva, migratória e por abandono. A enxameação reprodutiva é definida como o movimento de parte ou partes de uma colônia de abelhas melíferas de uma colônia parental para um novo sítio reprodutivo (que incluem enxameações primárias e secundárias) e permite o estabelecimento de novas colônias. Abandono ou “Absconding” é a deserção do ninho parental, enquanto colônia em resposta a qualquer distúrbio. A biologia das abelhas africanas repetidamente demonstra que, migração e abandono já não podem ser rigorosamente definidos por causa das variações de interações existentes. Uma migração simples ocorre pela ausência de células de zangão e realeiras em uma colônia que migrou.

No México, geralmente se encontram enxames migratórios de abelhas africanas na época de seca e sem flores do ano e os enxames reprodutivos ao contrário, em temporadas de maior produção de néctar (SARH, 1986).

A base de discriminação da enxameação por abandono ou migratório está relacionado com a presença do ciclo celular da rainha. Células de rainhas remanescentes no ninho após a partida do enxame indicam enxameação reprodutiva, enquanto que abandono de ninho por todos os indivíduos da colônia sem deixar qualquer célula de rainha indica abandono ou migração (Lipinski, 2001).

O abandono do ninho sem estocagem de alimento e cria indicam abandono com distúrbios, enquanto que um abandono sazonal e sem cria remanescente ou havendo insignificante quantidade, indica migração estável ou espontânea. Tanto na enxameação por abandono quanto na enxameação natural, as abelhas voam para longe mantendo as características de “migração”, mas sem sair do ecossistema onde está o apiário de origem (Kigatiira *et al.*, 1998). Enxameação por reação à stress pode ter um caráter de abandono, como ocorre em colônias de *Apis cerana* (Chen Yaochun, 1993; Mishra, 1977-98 *in* Lipinski 2001).

Lipinski (2001) também comenta que a enxameação migratória pode ocorrer por fome em épocas de declínio rápido de alimento ou em estações chuvosas. Em abelhas africanas ocorre migração por fome. Em colônias de *Apis cerana* com períodos insuficientes de néctar, abelhas comem larvas e a enxameação ocorre quando a cria toda emerge. Além disso, dois tipos de enxameações migratórias podem acontecer para territórios distantes, podendo ser: migrações horizontais (migrações entre territórios com mesmo nível do mar) ou verticais (entre territórios para diferentes níveis, *A. m. adansonii*).

A migração sazonal é caracterizada pela falta de cria em ninhos abandonados, quando a rainha pára a postura de ovos poucas semanas antes do abandono (migração estável- *A. dorsata*, *A. laboriosa*, *A. florea*) ou quando as rainhas continuam pondo ovos até o dia do abandono e as abelhas estão comendo a cria (Lipinski, 2001).

Nascimento Júnior (1981), estudando a influência de fatores ambientais nos processos enxameatórios em Ribeirão Preto, propôs que o comportamento migratório possa estar relacionado com maior frequência após as grandes chuvas do verão ou com intensos frios do inverno, geralmente em julho e agosto. Este comportamento é antecedido de violento declínio populacional e alimentar das colônias, provavelmente oriundos da ausência de alimentos disponíveis na natureza e da impossibilidade da manutenção do microclima por parte do número insuficiente de abelhas.

6- Tendência enxameatória e fatores que influenciam no comportamento enxameatório

Muitas vezes, a enxameação é um processo sazonal e sua ocorrência está bastante associada às condições ambientais da região. Na Guiana Francesa, Otis (1982) observou períodos de enxameação ao longo de 8 meses do ano, com ocorrência de 3 a 4 ciclos reprodutivos. Desta forma, se é claro que uma população vivente está em balanço com o recurso do ambiente e se uma população não manipulada apresenta uma alta tendência a enxameação, isto indica que o índice de colônias perdidas é alto ou somente alguns enxames têm sucesso no estabelecimento de novas colônias (Ruttner, 1988).

A tendência a enxameação é em parte fixada por vários anos nos trópicos da América do Sul onde não existe habilidade em tender a diminuir (Ruttner, 1988). São vários os possíveis fatores que podem estar influenciando no mau funcionamento da colônia e desencadeando a enxameação, como: contração de doenças, stress, pólen contaminado, temperatura, umidade relativa, seca, chuva, falta de alimento, tamanho populacional, e dentre outros (Winston, 1981).

Características comportamentais e feromonais tais como destes processos, apresentam herança genética e são transmitidas a seus descendentes. As abelhas africanizadas são um poli-híbrido da abelha européia com a abelha africana onde as características da africana prevalecem, esta terminologia foi introduzida por Gonçalves (1974). Dentre elas, o comportamento de defesa e o alto grau de enxameação estão sendo bastante discutidos pela comunidade científica.

Dentre as características comuns das abelhas *Apis* de regiões tropicais temos: alta taxa de enxameação, crescimento rápido da colônia, vários tipos de sítios de nidificação pobremente protegidos, tendência à migração e ao abandono, intensa reação de defesa, migração sazonal, e várias outras características que ainda devem ser exploradas.

Segundo Nascimento Junior (1981), as variáveis que atuam sobre a composição de uma colônia podem ser divididas em dois grandes grupos: as variáveis externas que atuam sobre a colônia (fatores abióticos); e as variáveis internas (fatores bióticos). Como variáveis externas, temos os fatores climáticos (radiação solar, temperatura, precipitação, umidade relativa do ar, vento e pressão atmosférica) que podem afetar a atividade de vôo das forrageadoras para a coleta. Já como variáveis internas, temos os comportamentos intrínsecos à colônia, como produção de feromônios, divisão de tarefas e manutenções do equilíbrio interno. Os elementos

bióticos e abióticos estão inter-relacionados de forma contínua, de maneira que nunca se pode analisar apenas um elemento de cada grupo.

Os vários comportamentos enxameatórios existentes em várias espécies e subespécies de *Apis*, inclusive nas abelhas africanizadas, em todo o mundo, demonstram que fatores externos e internos estão influenciando os comportamentos das abelhas, e estes devem ser estudados.

O que induz a enxameação reprodutiva é estudada com mais precisão examinando os fatores que induzem o desenvolvimento da rainha, pois uma vez iniciado, ocorrem sucessões de eventos bem definidas, embora variadas, que conduzem a enxameação. O desenvolvimento da rainha e a enxameação reprodutiva são funções extraordinariamente complexas, envolvendo atividades bem cronometradas e coordenadas de milhares de indivíduos. É mais provável que existam causas multifatoriais para a iniciação do desenvolvimento da rainha, baseadas em certos fatores demográficos internos, que não só estimulam o desenvolvimento da rainha mas contribuem, também, para o sucesso da enxameação (Simpson, 1958; Winston & Taylor, 1980; Lensky & Slabezki, 1981).

Winston (2003) está de acordo com esta teoria e ainda afirma que o tempo para o desenvolvimento da rainha é uma pequena janela do tempo, durante o qual as condições da colônia são muito favoráveis à produção do enxame, e a maioria destas características da colônia devem estar junto ou próximas de seus limites, para começar o desenvolvimento da rainha. Os incentivos primários incluem: tamanho da colônia, congestão de crias, distribuição de operárias por idade e transmissão reduzida da substância da rainha.

Além disso, durante a enxameação, as glândulas mandibulares da rainha são importantes coordenadores em termos de movimento e manutenção da coesão do enxame (Morse & Hooper, 1985). O feromônio da rainha, presente nas glândulas mandibulares é muito importante durante a aceitação da rainha pela colônia, atrai zangões para o acasalamento, mantém a unidade da colônia, inibe o desenvolvimento dos ovários das operárias e a produção de rainhas (Free, 1987; Winston, 1987; Nogueira Couto & Couto, 2002). Assim, a presença do feromônio da rainha em um enxame e na atmosfera da colméia em geral mantém a coesão e a homeostase social, enquanto que a sua ausência promove um descontrole na colônia ou no enxame, prejudicando o desenvolvimento normal das mesmas.

Em relação à transmissão reduzida do feromônio da rainha, a literatura indica que, durante o processo de enxameação reprodutiva, não há diferença alguma na produção do feromônio 9 ODA da rainha; em relação as rainhas que se preparam e as que não se preparam para enxamear (Seeley & Fell, 1981). Segundo Winston (2003), isso sugere que é a

transmissão dos feromônios da rainha que diminui e não a produção do feromônio pela rainha, antes de iniciar o desenvolvimento dela. O autor complementa que, a dispersão reduzida dos feromônios da rainha pelas mensageiras é consequência do congestionamento da colônia no caso de enxameação reprodutiva.

Entre as abelhas de evolução tropical, o abandono, devido à perturbação, resulta da destruição parcial ou total da colônia por predadores, da destruição dos favos pelas traças de cera, do fogo nas proximidades do ninho, da predação intensa por vespas ou pássaros no alvado, da inabilidade para controlar a temperatura, devido ao frio ou à incidência solar excessiva e à chuva que entra no ninho (Fletcher, 1975, 1976, 1978a; Chandler, 1976; Woyke, 1976b; Winston *et al.*, 1979).

7– Comunicação através de feromônios

Uma das características principais dos himenópteros sociais é a divisão de trabalho reprodutivo entre duas castas de fêmeas: as rainhas e as operárias. Geralmente, ocorre uma ou somente poucas posturas de ovos de rainha quando as operárias fornecem alimento e mantêm o ninho. Entretanto, na maioria das espécies, as operárias podem apresentar seus ovários desenvolvidos quando a rainha é removida. (Bourke, 1988; Choe, 1988; Hoover *et al.*, 2003). A rainha produz feromônios específicos para atrair um aglomerado de operárias que se importam com as suas necessidades. A fonte principal destes feromônios é a glândula mandibular, e o composto principal produzido pelas rainhas é o *9-keto-(E)-2-decenoic acid*, chamado de 9-ODA (Barbier & Lederer 1960; Slessor *et al.*, 1988). O principal composto produzido nas glândulas mandibulares das operárias é *10-hydroxy-(E)-2-decenoic acid*, chamado de 10-HDA (Callow *et al.*, 1959). Entretanto, as operárias podem passar a produzir 9-ODA durante a reprodução na ausência da rainha (Crewe & Velthuis 1980; Pankiw *et al.*, 1996). As operárias são tratadas, então, como rainhas e funcionam como tal: atraem um aglomerado de operárias assistentes (Sakagami, 1958; Velthuis *et al.*, 1990) e impede mudanças no bouquet mandibular de seus nidificantes (Hemmling *et al.*, 1979).

Os feromônios da rainha mais conhecidos são dois ácidos produzidos na glândula mandibular: *ácido 9-keto-(E)-2-decenóico* (também chamado ácido 9-oxodecenóico, abreviadamente 9-ODA, identificado por Callow & Johnston (1960). O segundo componente mais abundante é o *ácido 9-hidroxi-(E)-2-decenóico* (9-HDA). As quantidades destes dois feromônios produzidas pela rainha e, conseqüentemente, os efeitos dessas secreções dependem da idade da rainha (fecundada ou não), da hora do dia e da estação do ano. Rainhas

virgens, com menos de 2 dias de idade, produzem em média só 7 μ g de 9 ODA, enquanto princesas com 5 a 10 dias de idade produzem 108 a 133 μ g, e rainhas em postura com menos de 18 meses de idade, produzem 100 a 200 μ g. Rainhas velhas, em postura, mostraram produção reduzida de 9-ODA. Esta baixa produção pode estar associada à substituição de rainha pelas operárias. Em rainhas em postura o 9-HDA é produzido em quantidades consideravelmente menores que o 9-ODA, aproximadamente 5 μ g por rainha. Uma das funções do 9-ODA e 9-HDA é a inibição do desenvolvimento e criação de rainha, o que previne a reprodução pela enxameação ou substituição da rainha (Winston, 2003).

Free (1980) cita a existência de 32 tipos de feromônios só na cabeça de uma rainha do gênero *Apis*, possibilitando inúmeras combinações, dentre as quais pode ainda ocorrer sinergismo. Além disso, relativamente poucas dessas substâncias foram identificadas quimicamente, dificultando ainda mais estudos sobre os efeitos no comportamento dos indivíduos.

Os feromônios constituem o principal meio de comunicação química dentro do ninho nas espécies de abelhas sociais, sendo responsáveis pela manutenção e pelo funcionamento de uma colônia, que, apesar de ser constituída por milhares de indivíduos, opera como uma unidade coesa e eficiente (Free, 1980, Pettis *et al.*, 1995a).

As glândulas exócrinas produtoras de feromônios localizam-se em diferentes partes do corpo, cada uma podendo produzir mais de um tipo de feromônio, cuja ação sobre o comportamento ou fisiologia do indivíduo receptor pode ser tanto individual como em conjunto (Carvalho *et al.*, 2001). As glândulas alteram a quantidade dos componentes de um determinado feromônio em função das atividades desempenhadas na colônia, e de acordo com a idade do indivíduo. Dessa forma, as glândulas mandibulares das operárias de *Apis* que executam tarefas dentro da colônia produzem, inicialmente, maior quantidade do *trans-10 hydroxy-2-decenoic acid* (A-10H2D), conhecido como “leite” das abelhas. Posteriormente, com as funções de guardas e campeiras, a substância produzida é mais clara e contém o *2-heptanona*, que é um feromônio de alarme (Boch & Shearer, 1966).

A glândula mandibular na rainha de *Apis* está envolvida com a produção do feromônio sexual e de inibição na formação de realeiras e desenvolvimento ovariano das operárias (Free, 1980). São importantes também para o comportamento de coorte das operárias para com a rainha, agindo como um indicativo de sua presença na colônia (Free, 1987).

Simpson, em 1963, também concluiu que todos os componentes das glândulas mandibulares de uma rainha foram efetivos na estabilização do “Cluster”, mas a presença isolada do 9-ODA sintético no enxame, cuja rainha havia sido removida, não foi suficiente

para a estabilização do enxame. Entretanto, Velthius & van Es (1964) relataram que enxames sem rainhas foram atraídos para o 9ODA introduzido em uma abelha operária morta; elas não foram atraídas por uma rainha viva cuja glândula mandibular havia sido extraída e nenhuma expôs suas glândulas de Nasonov na presença da rainha extirpada. Morse (1963) mostrou que os componentes das glândulas mandibulares de uma rainha foram atrativas para um enxame em vôo sem rainha.

Posteriormente, (Butler & Fairey, 1964; Butler & Simpson, 1967) concluíram que o 9HDA, também das glândulas mandibulares de uma rainha, causaram a dispersão do cluster para reformar, e que embora as abelhas sem rainhas fossem atraídas para uma fonte de 9ODA, elas raramente se agruparam sobre ele e que somente foram induzidas a formar um “Cluster” estável quando o 9HDA estava presente. Parecia que o 9ODA e o 9HDA juntos eram tão efetivos quanto uma rainha reprodutiva viva, ou quanto a uma cabeça de rainha que havia sido exprimida para liberar os feromônios; assim o 9ODA parece agir como um atrativo e o 9HDA como agente estabilizante.

Em contraste, Morse & Boch (1971) e Boch *et al.*, (1975) concluíram que os enxames sem rainhas são menos atraídos para o 9ODA, ou 9ODA mais 9HDA juntos que para os extratos das cabeças das rainhas, e que a adição de 9HDA ao 9ODA falharam para aumentar sua atratividade ou a sua habilidade de estabilizar o enxame. Adicionando uma mistura de feromônios Nasonov sintéticos ao 9ODA ou ao 9HDA estes atraíram e estabilizaram os enxames sem rainha.

Segundo Free (1987), talvez, a maior atração inicial do 9ODA reflete sua maior volatilidade; enquanto a maior persistência de 9HDA pode ajudar a prolongar o efeito de aglomeração e explicar porque Butler & Simpson (1967) supuseram que ele fosse necessário para estabilização do “Cluster”.

Entretanto, componentes produzidos pela rainha, diferentes de 9ODA, que ainda não foram identificados e ainda não foram estudados, podem contribuir para inicialização e ou estabilização do “Cluster”. Embora os feromônios da cabeça das rainhas pareçam ser, a priori, mais importantes do que aqueles de outras partes do corpo da rainha, outros feromônios podem estar envolvidos. Não é inconcebível que a rainha possa secretar componentes em diferentes proporções, ou que as abelhas possam responder a diferentes componentes dos feromônios da rainha quando ela estiver sobre um enxame, sobre uma cria, em um cluster ou um enxame em vôo (Free, 1987). Desta forma, são necessários mais estudos sobre feromônio já que muitos destes não são conclusivos e a rainha, em seu comportamento e produção de substâncias, tem um papel muito importante na explicação de vários comportamentos.

8– Comunicação e Comportamento de Decisão de Grupo

Segundo Seeley (1982) a enxameação reprodutiva ocorre após um período de intensa produção de cria, o que aumenta consideravelmente a população da colônia e provoca uma espécie de saturação na cavidade do ninho. Este pesquisador mostrou que uma superpopulação estimula as operárias a produzirem um conjunto de realeiras. A rainha mais forte (sobreviventes ao duelo com suas irmãs) habitará este ninho já estabelecido. A velha rainha partirá, antes do nascimento da nova, com aproximadamente a metade das operárias, para fundar uma nova colônia em outro local. Diz ainda, que a rainha e sua coorte de operárias saem da colméia e começam a sobrevoá-la. O enxame viaja uns poucos metros e então pousa, formando um “cacho” de abelhas, geralmente em um galho de árvore ou arbusto. Somente após o enxame ter pousado é que as abelhas “escoteiras” começam a voar em todas as direções para iniciar um reconhecimento de outro local para nidificar.

As escoteiras são as abelhas mais velhas do enxame, as que já tiveram passado pela fase de forrageamento, assim, estão familiarizadas com o território em torno do antigo ninho. Elas correspondem a um número de poucas centenas ou, aproximadamente, 5% da população do enxame. Este mesmo autor continua afirmando que, uma vez selecionado um novo ninho para a instalação do enxame, as escoteiras tentam informar os rumos para as suas companheiras através de danças na superfície do enxame, sinalizando que o cacho de abelhas deve ser desfeito. Um pouco antes do “Cluster” se desfazer e o enxame rumar para um outro local de instalação, as escoteiras dançam freneticamente, indicando um novo local e, ao mesmo tempo, emitem um som característico, vibrando suas asas. Este som faz com que se alcance um clímax que quebra as cadeias de abelhas na superfície do cacho. Este clímax é conseguido tão logo as abelhas operárias cheguem a um vetor direcional comum em suas danças. Por exemplo, se existirem dois locais para a instalação do enxame, em direções opostas, o sentido em que mais abelhas dançarem será o escolhido. Este vetor direcional é conseguido se satisfizessem uma série de preferências das abelhas quanto ao novo local de nidificação. No momento seguinte, o enxame inteiro levanta vôo, formando uma nuvem circular de abelhas. A forma aérea de um enxame é uma esfera de aproximadamente 10 metros de diâmetro. Para orientar suas irmãs, as escoteiras voam através do exame indicando o novo local. O enxame se move inicialmente bastante devagar durante os primeiros 30 metros, viajando a menos de 1 km/h, mas a partir dos 200 metros ele acelera para 10 km/h ou mais, voando a poucos metros acima da vegetação. Quando o enxame chega ao novo local, as escoteiras dão um sinal de parada. Elas pousam nas proximidades da entrada do novo local de nidificação e liberam o

feromônio da glândula de Nasonov abrindo o último anel abdominal e ventilando com as asas. Dentro de 30 minutos, todas as abelhas já deverão ter entrado em seu novo ninho. Dentro de poucas horas, elas já estarão limpando a cavidade e voando para coletar alimento (Seeley, 1982).

A escolha entre sítios de nidificação alternativos por um enxame de *Apis mellifera* é um exemplo direto de decisão coletiva (Lindauer, 1951). Quando uma colônia de abelhas se divide, várias centenas de operárias, a rainha da colônia mãe e um pequeno número de zangões deixam a colônia como um enxame. O enxame estabelece-se geralmente em um galho de árvore, e deste “Cluster” abelhas escoteiras começam a voar e procurar sítios de nidificação apropriados para formação de uma nova colônia de abelhas. Quando as escoteiras retornam para o enxame após inspecionar cavidades de alta qualidade, ou possíveis locais para nidificação, cada escoteira dança indicando o ângulo, à distância e direção até o sítio de nidificação escolhido. Portanto, cada escoteira indica o local encontrado e após algum tempo, chegando a um consenso, as abelhas passam a dançar na mesma direção. Chegando a um consenso. Danças em uma só direção são visualizadas. De acordo com isso, o “Cluster” abruptamente se quebra e as abelhas tomam o ar e voam em grupo para o sítio escolhido (Vissher, 2000).

As decisões de grupo provêm de um extraordinário sistema de investigação: de como a seleção natural tem complexidade construída. Isto tem sido bastante estudada por pesquisadores (Vissher, 2000; Seeley *et al.*, 2003; Seeley & Tautz, 2001; Britton *et al.*, 2002).

Além disso, estudos de comportamento de abelhas africanas, na junção de uma ou mais colônias em escassez de alimento, concluem que esta junção em abelhas africanas tropicais é parte de sua estratégia de sobrevivência, e que isso tem relação com sua dominância na África Tropical e América do sul, onde elas foram introduzidas (Kigatiira, 1988).

Seeley *et al.*, (2003), estudando a movimentação completa de aquecimento antes da partida em enxames artificiais de *A. m. carnica*, perceberam que o aquecimento composto por abelhas da camada superficial do “Cluster” ocorre principalmente nos últimos 10 minutos antes da partida, e que, quando começa a partida, 100% das abelhas têm seu músculo de vôo aquecido a 35°C, temperatura suficiente para suportar vôos rápidos.

II OBJETIVOS

a. Objetivo Geral:

Sabendo-se da importância da enxameação e da necessidade de mais conhecimentos a respeito desses processos, principalmente para os apicultores no Nordeste brasileiro que perdem cerca de 50% das suas colônias anualmente por enxameação migratória ou por abandono, este estudo tem como finalidade reconhecer as causas e fatores ambientais que promovem a enxameação de abelhas africanizadas no intuito de controlá-la.

b. Objetivos Específicos:

1. Reconhecer quais os fatores ambientais que influenciam nos processos enxameatórios.
2. Induzir colônias à enxameação, em Câmaras Climáticas dotadas de sensores mediante aumento artificial da temperatura no interior das colméias, com auxílio de registradores automáticos (apidômetros) de atividade de vôo, de temperatura e umidade relativa de dentro do ninho e do ambiente para identificação de alguns fatores como: temperatura e umidade.
3. Identificar e quantificar substâncias químicas (feromônios de rainhas) que possam ter alguma influência nos processos enxameatórios antes e durante as induções mediante aumento artificial da temperatura.

ENXAMEAÇÃO INDUZIDA POR AUMENTO DE TEMPERATURA EM ABELHAS AFRICANIZADAS

Resumo

A atividade de abelhas melíferas está definida como saída ou entrada de abelhas do ninho, com ou sem material (pólen, néctar, etc). A entrada ou não de materiais está diretamente relacionada com os fatores bióticos e abióticos, sendo importante uma boa interação entre esses fatores. Através desses fatores alguns comportamentos das abelhas podem ser analisados, bem como os comportamentos enxameatórios. A enxameação tem trazido grandes prejuízos aos apicultores brasileiros e em especial nordestinos que registram perdas anuais de 50 % ou mais por abandono. São vários os fatores que podem influenciar no mau funcionamento da colônia e desencadear uma enxameação, tais como: falta de água, stress, temperatura, umidade relativa, falta de alimento, etc. Estudos de monitoramento e registro das atividades diárias, assim como de temperatura e umidade relativa podem auxiliar em estudos com comportamento enxameatório. Com o intuito de controlar o comportamento enxameatório de abandono de abelhas africanizadas (AHB), neste estudo analisamos o comportamento de resposta de colônias de abelhas africanizadas durante enxameação induzida a altas temperaturas. Os experimentos foram realizados no Departamento de Genética da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP e na Fazenda Experimental da UFERSA em Mossoró-RN. Foram utilizadas, para cada repetição, 5 colônias de abelhas africanizadas, instaladas em núcleos de fecundação tipo Langstroth (3 controle e 2 tratamento). Sensores de temperatura e umidade relativa interna foram instalados em todas as colônias, na região central da cria, bem como no ambiente externo. Todas as colônias tiveram suas atividades de vôo monitoradas por detectores de atividade (Apidômetro), e os dados foram enviados ininterruptamente por dia para um Software ao longo de 24 horas até a finalização completa da enxameação induzida. Duas colônias experimentais sofreram indução a enxameação por aumento de temperatura ao mesmo tempo, proporcionada por uma Câmara climática dotada de sensores de temperatura e apidômetros. Foram realizadas 9 repetições; com as temperaturas de indução variando de 28 a 50°C, das 8:00 às 18:00h. Os resultados revelam que o aumento de temperatura (41°C) provoca saída em massa dos indivíduos da colônia deixando cria e alimento, e portanto indicam abandono. A decisão de grupo para a partida é de grande importância, e a comunicação é intensa, principalmente, minutos antes do vôo e na formação da nuvem de abelhas. A temperatura e umidade relativa tem um efeito direto sobre a atividade de vôo das colônias de abelhas africanizadas, como demonstrado nos registros dos ciclos.

Palavras-chave: Comportamento enxameatório, Abandono, Altas temperaturas, Abelhas africanizadas e Apidômetro.

1. INTRODUÇÃO

As abelhas *Apis mellifera* são amplamente distribuídas e geograficamente espalhadas por grandes partes dos continentes africanas e européias e em parte da Ásia ocidental (Ruttner, 1988). Ao longo desta área, elas ocupam os mais variados ambientes, como desertos, florestas tropicais, altas montanhas e savanas, entre outros (Smith, 1961). A grande diversidade de ambientes ocupados está também diretamente associada a uma grande diversificação dentro da espécie, que atualmente é dividida em pelo menos 26 subespécies (Ruttner, 1992; Sheppard *et al.*, 1997; Sheppard & Meixner, 2003), cada uma delas apresentando um conjunto particular de características comportamentais e muito bem adaptadas aos mais variados ambientes.

Em terras brasileiras, as *A. m. mellifera* foram introduzidas em 1839, vindas da Europa. A partir disso, com os imigrantes também foram introduzidas outras subespécies (*A. m. ligustica*, *A. m. carnica*, *A. m. caucásica*, *A. m. mellifera*, *A. m. scutellata*). A alta capacidade enxameatória da subespécie africana (*A. m. scutellata*) introduzida por Dr. Kerr em 1956, no intuito de aumentar a produção de mel permitiu o cruzamento desta subespécie com as outras introduzidas anteriormente no Brasil formando um polihíbrido que posteriormente foi chamado de abelha africanizada (Kerr, 1967; Gonçalves, 1974). Neste polihíbrido predominaram principalmente as características da subespécie africana como, alta capacidade enxameatória, alta produtividade, alta adaptabilidade e forte comportamento defensivo. Todas estas características aliadas ajudaram as abelhas africanizadas a rapidamente se estabelecerem como populações silvestres nas regiões Neotropicais (Lobo & Krieger, 1992).

Com a grande expansão destas abelhas pelos continentes e os altos índices enxameatórios nas regiões de alta produção de mel, os estudos com essas abelhas no Brasil se expandiram principalmente em relação a sua biologia, genética e comportamento. Os estudos com atividade de vôo, coleta de recursos e trabalhos pioneiros em registros automáticos de atividade e monitoramento de colônias têm estimulado maiores estudos sobre o comportamento enxameatório.

As abelhas da espécie *Apis mellifera* vivem em colônias de 50 a 60 mil indivíduos (em média), com uma vida muito bem organizada (Gonçalves & Stort, 1978). Todo trabalho é feito para o progresso da família, ou para a sobrevivência nas épocas difíceis, não importando os indivíduos e sim a colônia como todo. A rainha produz ovos e decide a quantidade de novas abelhas que serão produzidas a depender da quantidade de alimento. É ela que comanda

a vida da colônia (Free, 1980). A quantidade e, muitas vezes, a qualidade dos recursos coletados na natureza pelas abelhas do gênero *Apis* interferem na vida normal da colônia, o que facilmente pode ser constatado mediante o registro da atividade de vôo das abelhas com o aumento e diminuição de entradas e saídas (Kefuss & Nye, 1970; Woyke, 1992; Biesmeijer & Tóth, 1998; Nunes & Saunders, 1999; Biesmeijer *et al.*, 1999; Pernal & Currie, 2001).

A atividade de vôo promove o reconhecimento das condições ambientais e tanto os fatores bióticos (genética, feromônios, doenças, tamanho populacional, stress, sistema de recrutamento) como abióticos (chuva, seca, umidade, alimento e temperatura) podem interferir no comportamento e atividade das abelhas. São vários os fatores que podem influenciar no mau funcionamento da colônia e desencadear, em geral, algum tipo de enxameação, seja ela reprodutiva, migratória ou por abandono (Hepburn & Radloff, 1998), tais como: falta de água, stress, temperatura, umidade relativa, falta de alimento, tamanho populacional, etc (Engels *et al.*, 1997; Bellusci, 1998; Hepburn & Radloff, 1998).

Através desta atividade alguns comportamentos das abelhas podem ser analisados, assim como o comportamento enxameatório. Comportamento enxameatório é a saída em massa dos indivíduos da colônia e pode ser causado por alguns fatores, como: falta ou excesso de alimento, falta de água, stress, insuficiência do feromônio da rainha, temperatura, dentre outros.

Após trabalhos pioneiros no Brasil sobre registro automático (Apidômetros) das atividades de vôo de abelhas melíferas (*Apis mellifera* L.) por Gonçalves & Oliveira (1986), Buriolla (1988), Souza (1993), trabalhos esses cujos resultados foram tomados como subsídios para o presente estudo, foram reiniciados por nós os trabalhos sobre monitoramento e registro das atividades diárias das abelhas. Todavia, embora o monitoramento possa trazer muita contribuição sobre a biologia das abelhas, desta vez os estudos visam principalmente o comportamento enxameatório das abelhas africanizadas e em especial com o intuito de se estender e se possível controlar o comportamento enxameatório de migração ou abandono dessas abelhas que tem trazido grandes prejuízos aos apicultores brasileiros e em especial nordestinos que registram perdas de 50 % ou mais de colônias por abandono (Prof. Dr. L. S. Gonçalves, inf. pessoal). Estudos de levantamentos ou índices enxameatórios de migração ou abandono foram relatados em colônias de abelhas africanizadas no Estado do Ceará (Freitas *et al.*, 2007).

A enxameação por abandono, ou simplesmente abandono, é um tipo de enxameação que promove saída em massa dos indivíduos da colônia e, durante tal comportamento muitas informações são transmitidas entre seus componentes mediante estímulos e resposta. Este

comportamento é muito reconhecido em raças africanas de abelhas melíferas (Hepburn & Radloff, 1998).

O comportamento de abandono é característico de todas as abelhas melíferas, mas é particularmente bem expressado em muitas subespécies africanas de *Apis mellifera* e outras espécies tropicais de *Apis* (Hepburn & Radloff, 1998; Ruttner, 1988; Punchihewa, 1994; Kevan, 1995). As raças africanas enxameiam por abandono, com ou sem rainha reprodutiva, deixando até mesmo cria aberta ou fechada e alimento em abundância (Hepburn & Radloff, 1998).

Segundo Seeley (2006), o controle preciso da temperatura do ninho pode ser visto como uma das maiores inovações da biologia da abelha que se tornou possível pela evolução de sua sociedade. Em abelhas melíferas, entre o final do inverno e o início do outono (período anual de desenvolvimento da cria pelas abelhas) a temperatura na região central do ninho (berçário da colônia) é mantida entre 33 e 36 °C, com média aproximada de 34,5 °C, e variando normalmente em menos de 1 °C por dia (estudos desenvolvidos por Hess, 1926; Himmer, 1927; Dunham, 1929).

Os mecanismos que estão por baixo desta impressionante habilidade termorregulatória incluem um conjunto de comportamentos perfeitamente integrados, e dispositivos fisiológicos por meio dos quais as colônias regulam-se (Seeley, 2006).

A atividade apícola no Brasil tem apresentado uma alta taxa de crescimento e na região nordeste do Brasil, a atividade apícola está em grande desenvolvimento e vem ganhando espaço como uma atividade rentável, pois além de ser capaz de aproveitar a mão de obra familiar, fixar o homem do campo e aproveitar o potencial da vegetação do semi-árido apresenta retorno rápido do capital investido (Vilela, 2002). Atualmente o Nordeste brasileiro é responsável por aproximadamente 30 % das exportações de mel sendo que a produção apícola nacional nos últimos cinco anos tem oscilado entre 40 e 50 mil toneladas/ano (informação pessoal de Prof. Dr. Lionel S. Gonçalves). Uma das causas de maior frustração para o apicultor é a enxameação de uma família, ou seja, o abandono da colméia. O desafio dos pesquisadores brasileiros hoje é obter informações e desenvolver técnicas que contribuam no melhoramento da atividade apícola e contribuam para o crescimento da produtividade.

Através do monitoramento das atividades de vôo das abelhas africanizadas em núcleos de fecundação instalados dentro de Câmaras climáticas dotadas de sensores de temperatura e umidade e registradores automáticos de entrada e saída de abelhas (Apidômetros) pretendemos simular o que acontece no ambiente natural com colméias expostas diretamente ao sol, induzindo artificialmente a enxameação por abandono, mediante aumento da temperatura no interior da Câmara climática, sendo este o objetivo deste estudo.

2. METODOLOGIA

a. – Locais de estudo

Os experimentos de indução à enxameação por aumento de temperatura foram desenvolvidos nos Apiários Experimentais do Departamento de Genética da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP e na Fazenda Experimental da Universidade Federal do Semi-árido (UFERSA) em Mossoró/RN.

No *Campus* da USP de Ribeirão Preto as coletas de dados com os equipamentos iniciaram-se em 2005 enquanto que no *Campus* da UFERSA inicialmente agosto de 2006, sendo estes experimentos finalizados em setembro de 2007. Uma réplica fiel dos equipamentos utilizados na USP foi construída, testada e transportada para Mossoró-RN em junho de 2006 onde foram instalados para os mesmos objetivos do estudo em Ribeirão, permitindo assim comparações.

b. – Material biológico e Sistema de coleta utilizado

Enxames de abelhas africanizadas (*Apis mellifera*) foram coletados e transferidos para colméias tipo núcleos de fecundação com 4 quadros. Esses enxames foram alimentados e monitorados quanto ao tamanho populacional até estarem bem populosos para os experimentos. Os enxames foram analisados quanto à presença e idade da rainha (todas as rainhas foram marcadas) a cada seis meses e quanto à quantidade de cria e população periodicamente.

Todas as rainhas das colônias do tratamento e controle foram produzidas no laboratório, através da técnica de transferência de larvas. As rainhas foram fecundadas livremente, tiveram suas asas cortadas e suas posturas foram controladas. Dois dias antes dos experimentos, os quadros de alimento e cria foram verificados em termos de quantidade, assim como o número de abelhas presentes nos núcleos como estimativa populacional.

Durante as primeiras tentativas de indução às enxameações por aumento de temperatura, as mesmas não ocorreram no primeiro momento porque as asas das rainhas estavam cortadas e por essa razão as rainhas caíram no chão ao levantarem vôo. Após esta experiência as asas das rainhas deixaram de ser cortadas. As asas cortadas garantiriam a coleta das rainhas para posterior análise de feromônio.

Ao todo foram realizadas 9 repetições de indução à enxameação por aumento de temperatura: 6 em Ribeirão Preto (28/08/2005-01/09/2005, 4/10/2005-7/10/2005, 21/11/2005-24/11/2005, 9/02/2006-21/02/2006, 11/09/2006-13/09/2006, 26/03/2007-31/03/2007) e 3 induções em Mossoró (30/6/2006-3/07/2006, 20/11/2006-24/11/2006, 27/11/2006). Para cada repetição foram utilizadas duas colônias perfazendo um total de 17 colônias induzidas a enxameação por aumento de temperatura.

Para cada dia de indução foram montados gráficos demonstrando o aumento de temperatura, de acordo com o tempo. Ao final de cada experimento a câmara foi desligada para estabilização da colônia, ou seja, durante a noite a indução não ocorria.

Como a mesma réplica de equipamentos foi fabricada e transferida para Mossoró, comportamentos naturais também foram registrados em Mossoró (Rio Grande do Norte) nas colônias controle em novembro de 2006. As 3 colônias controle que ficavam expostas às condições ambientais também foram analisadas e apresentavam sensores internos (temperatura e umidade, figura 1) e sensores no alvado da colméia (entrada e saída, figura 2). Estas colônias foram monitoradas e qualquer comportamento anormal foi registrado.

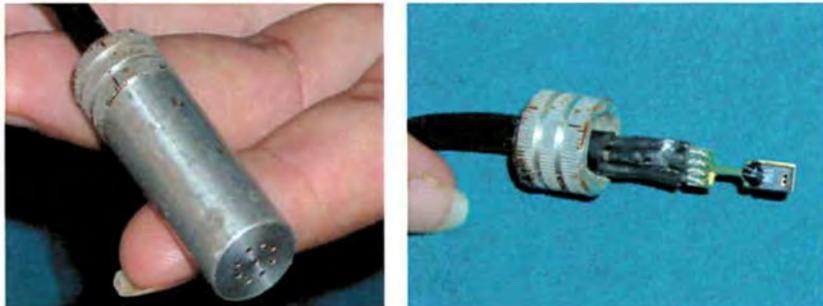


Figura 1: Sensor de temperatura e umidade relativa introduzido no interior do núcleo de fecundação.

c. - Sistema de monitoramento:

Para estudos de indução, foi desenvolvido um sistema de monitoramento de abelhas com vários equipamentos acoplados, como: uma caixa de madeira de controle de temperatura, umidade, etc, a qual denominamos de “Câmara Climática”, contendo sensores de temperatura e umidade e regulador de temperatura; duas interfaces (uma externa, junto as colméias controle e outra dentro da sala onde se encontrava a Câmara Climática (são a memória da coleta de dados); e um programa de computador (denominado Enxame, que recebe estes dados e os traduzem em forma de gráficos e arquivos txt). Estes equipamentos foram

montados pela Empresa Insight Equipamentos de Ribeirão Preto-SP, inclusive a réplica que foi levada e instalada na UFERSA (Figuras 1, 2 e 3). A interface externa coleta os dados das colônias controle que estão no ambiente externo sob todas as condições ambientais assim como as demais colônias do apiário experimental. A interface interna conecta-se aos demais sensores que estão acoplados à Câmara Climática.

A Câmara climática consiste de uma caixa de madeira de 1x1x1,20 m que foi construída para acondicionar 3 núcleos de fecundação com 4 caixilhos. A tampa da câmara é de acrílico para permitir a visualização completa dos núcleos. A caixa de madeira é dotada internamente de por aquecedores (termostatos) que permitiram o aumento de temperatura para no máximo 70°C. Para diminuir a temperatura dentro da câmara a até 25°C, próximo à câmara foi instalado um ar condicionado de 3.600 BTUs cuja corrente de ar está direcionada à câmara para resfriá-la (Figura 2).

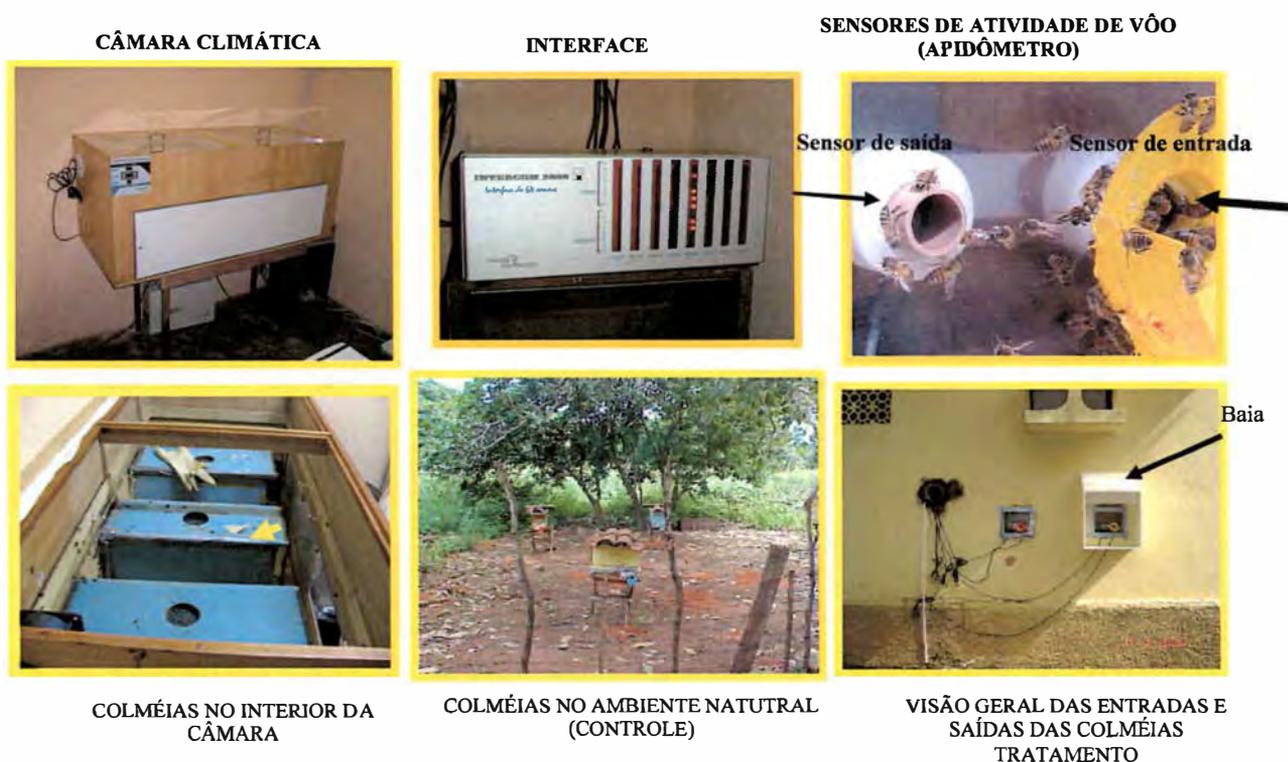


Figura 2: Equipamentos utilizados para análise dos processos enxameatórios em abelhas africanizadas

Em cada núcleo havia um orifício telado em sua tampa para alimentação dos enxames periodicamente, de forma a não prejudicar as atividades internas. Um dos núcleos da Câmara Climática não apresentava abelhas em seu interior, somente sensor de temperatura e umidade e estava localizado no centro da Câmara (Figura 2). Os outros dois núcleos restantes

apresentavam, além do sensor de temperatura e umidade no quadro do centro dentro do núcleo (próximo à cria na região central do quadro), também sensores de entrada e saída (Apidômetros) conectados a dois tubos que saíam da Câmara de cada núcleo. O sensor de entrada apresentava plataforma de pouso de cor diferente para facilitar o reconhecimento da colônia pelas abelhas (Figura 2). No sensor de entrada (em seu interior) havia também uma janela de plástico leve que só permitia a entrada de abelhas e no de saída uma outra janela de plástico que permitia apenas a saída. Sensores de atividade de vôo (Apidômetros) e de temperatura e umidade relativa foram conectados a todas as colônias, tanto controle quanto tratamento. Os dados de temperatura e umidade foram coletados por apenas um sensor que tem estas duas funções (Figuras 1 e 2).

Nas colônias tratamento instaladas dentro da Câmara Climática, foram induzidas apenas enxameações por aumento de temperatura. Para tanto sensores de temperatura e umidade relativa internos (entre o segundo e terceiro quadros na região central da cria) e externo (do lado de fora do laboratório) foram instalados nas colônias controle e nas colônias tratamento, porém apenas houve alteração da temperatura para indução a enxameação nas colônias tratamento. O monitoramento foi automático ao longo de 24 horas/dia até ocorrer a enxameação.

Seis colônias de abelhas africanizadas instaladas em núcleos de fecundação (3 colméias controle e 3 tratamento), montadas com 4 caixilhos foram utilizadas para cada repetição. No entanto, após as duas primeiras induções, mantivemos apenas duas colônias tratamento por causa da invasão de operárias nas colônias vizinhas. Foi instalada também, uma placa ou “baia” de separação entre os orifícios de entradas e saídas das duas colméias para evitar o contato entre as duas famílias de abelhas (Figura 2) ou núcleos de fecundação instalados dentro da Câmara Climática.

Antes do início das induções, desde agosto de 2005, as colônias foram analisadas quanto ao seu padrão normal de atividade de vôo para reconhecimento das condições normais das colônias, assim como, reconhecimento das condições de temperatura e umidade relativa dentro da colônia na região da cria. Antes de todas as induções, os padrões de atividade de entrada e saída das abelhas foram monitorados por no mínimo 5 dias consecutivos.

As alterações gradativas das temperaturas para indução das enxameações foram registradas das 8:00 às 18:00h, variando de 28 a 50°C e aumentando em média 3 °C a cada hora (Figura 4). Após este intervalo de tempo a temperatura da Câmara foi diminuída para 35 °C e depois o reostato foi desligado.

Todos os núcleos foram alimentados duas vezes por semana com xarope (uma mistura de água e açúcar a 50%).

d. – Programa de coleta de dados

Todos os registros de atividades de entradas e saídas de abelhas das colônias tratamento e controle, assim como de temperaturas e umidades relativas foram enviados para um software (programa Enxame) que transforma os registros em gráficos de monitoramento constante das atividades das abelhas e variáveis climáticas *on-line* (no mesmo instante do dado coletado) de todas as colônias (controle e tratamento) e do ambiente com os quais podem ser visualizados e utilizados para reconhecimento dos padrões normais e induções a enxameação. O gráfico registra automaticamente a atividade de vôo das abelhas ao longo do tempo, contando o número de abelhas que entram e saem a cada segundo (Figura 3).

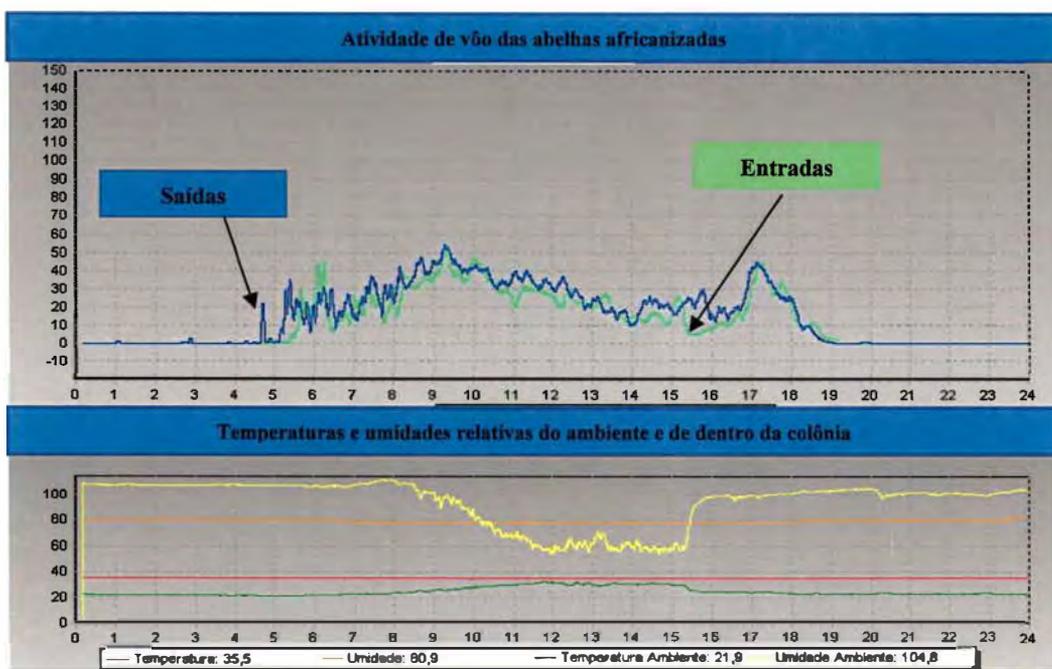


Figura 3: Gráficos de monitoramento das atividades de vôo das abelhas africanizadas (entradas e saídas) e das temperaturas e umidades do ambiente externo ao laboratório e do centro ao longo de 24 horas. Em vermelho, temperatura da cria. Em laranja, umidade de dentro da colônia. Em amarelo, umidade do ambiente e em verde temperatura do ambiente.

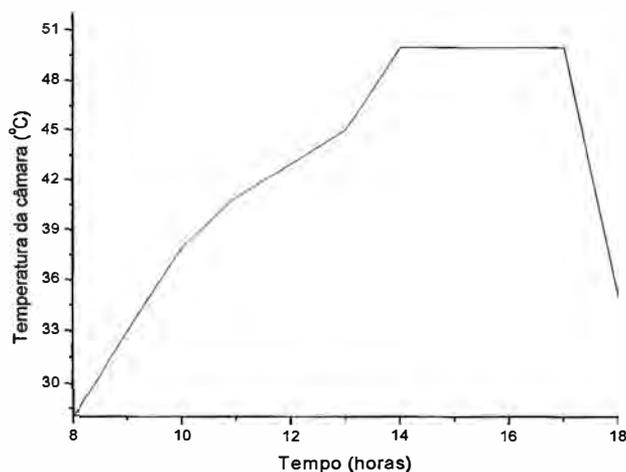


Figura 4: Temperatura média ao longo do dia para indução da enxameação.

e. – Análise do comportamento

O comportamento de entrada e saída das abelhas de cada colônia foi monitorado antes, durante e depois das induções das enxameações. As condições das colônias foram analisadas a cada 15 utilizando-se um protocolo de revisão que consta de: avaliação da população, número de realeiras, presença da rainha e de ovos, número de quadros com cria, número de quadros com alimento, presença de doença, etc.

f. – Análise estatística

No caso das variáveis ambientais, temperatura e umidade relativa, foram calculados média e desvio padrão para cada ponto medido e utilizada a análise de variância ANOVA do *software* STATÍSTICA 6.0. Para analisar diferenças significativas de influência de comportamento, e para temperatura e umidade relativa foi utilizado o *Software* ORIGIN 6.0.

Os dados apresentados em forma de gráficos de atividade de entrada e saída, assim como, os de temperaturas e umidades relativas no interior das colônias e no ambiente natural foram “plotados” automaticamente através do *Software* ENXAME, projetado pela Insight Equipamentos especificamente para atender nossos objetivos e realização deste estudo.

3. RESULTADOS

3.1 - Tentativas de indução da enxameação por aumento de temperatura

3.1.1 – Primeira tentativa de indução da enxameação por aumento de temperatura em Ribeirão Preto- Agosto e setembro de 2005.

A primeira tentativa de indução a enxameação por aumento de temperatura ocorreu no dia 31 de agosto de 2005. Antes desta indução, as colônias, tratamento (NTR1, NTR2 e NTR3) assim como as controle (NCR1, NCR2, NCR3), estavam em boas condições: as rainhas estavam marcadas, todos os quadros estavam com cria nascendo, pupas e alimento em boa quantidade. Nos dias de indução estava ventando bastante e a temperatura ambiente estava em torno de 30°C. As colônias foram monitoradas para que todas as condições internas estivessem normais antes da indução. As colônias controle e tratamento em condições normais (Figuras 5 a 7) apresentaram uma atividade de entrada e saída bastante semelhantes, apresentando uma maior atividade entre as 16 e 17 horas. O início das atividades ocorre por volta das 5:30h da manhã com a saída das abelhas para forragear e cessa com o pôr completo do sol, ao redor de 18:30h.

Algumas abelhas guardas ficam no tubo de saída, durante a noite, cuidando para que eventuais predadores não entrem. Os ciclos de temperatura e umidade relativa no ambiente e no interior das colônias tratamento, demonstram que enquanto a temperatura do ambiente está mais baixa durante a noite (18,6°C) e mais alta durante o dia (38°C) a temperatura dentro da colônia se mantém entre 34,5 e 36°C em condições normais. O mesmo padrão pode ser observado nas colônias controle (Figura 5 e 7). A umidade relativa do ninho também permanece constante em torno de 70 a 80%, enquanto que a umidade relativa do ambiente varia bastante durante a noite (90%) e durante o dia (20%).

As colônias tratamento antes da indução (Figura 5) apresentaram um comportamento de atividade de vôo semelhante entre si (colônias NTR1, NTR2, NTR3) e entre as colônias controle que estavam fora do laboratório e em contato direto com todos os fatores ambientais (Figura 8). Um horário de maior movimento de entrada e saída entre 15 e 16 horas foi verificado nas colônias tratamento, acontecendo mais cedo que nas colônias controle. Esse horário de maior atividade deve estar, provavelmente, relacionado com a incidência de luminosidade, nesses horários, nos tubos de entrada e saída, das colônias controle e tratamento (Figura 8) ou até esmo vôos de reconhecimento por operárias jovens.

O aumento da temperatura nas colônias tratamento (Figura 6), aconteceu das 10 às 16h com temperaturas de indução variando dentro da câmara de 32 a 41 °C. No restante das horas a temperatura se manteve estável, a 30 °C dentro da câmara (Figura 6). As abelhas perceberam o aumento da temperatura desde as 10:00h (32 °C), a colônia NTR3 percebeu primeiro e iniciaram uma pequena aglomeração na entrada da colônia. As abelhas só iniciaram a agitação quando a temperatura da câmara foi aumentada para 38 °C (12:00h).

Quando a temperatura da câmara estava a 41 °C (a partir das 13:00h), o acúmulo das abelhas no tubo e na parede do lado de fora do prédio foi aumentando progressivamente e havia abelhas dançando. As temperaturas do interior das colônias tratamento variaram até 38,5 °C demonstrando que houve distúrbio nas colônias, mas não enxamearam porque a temperatura foi diminuída para 35 °C às 17:00h. Mesmo assim, observamos uma movimentação intensa nos tubos de entrada e saída e uma redução da movimentação com a diminuição da temperatura. No dia seguinte (Figura 6), o padrão de atividade estava um pouco alterado em relação aos dias antes da indução demonstrando stress nas colônias, mas a temperatura e umidade interna se normalizaram.

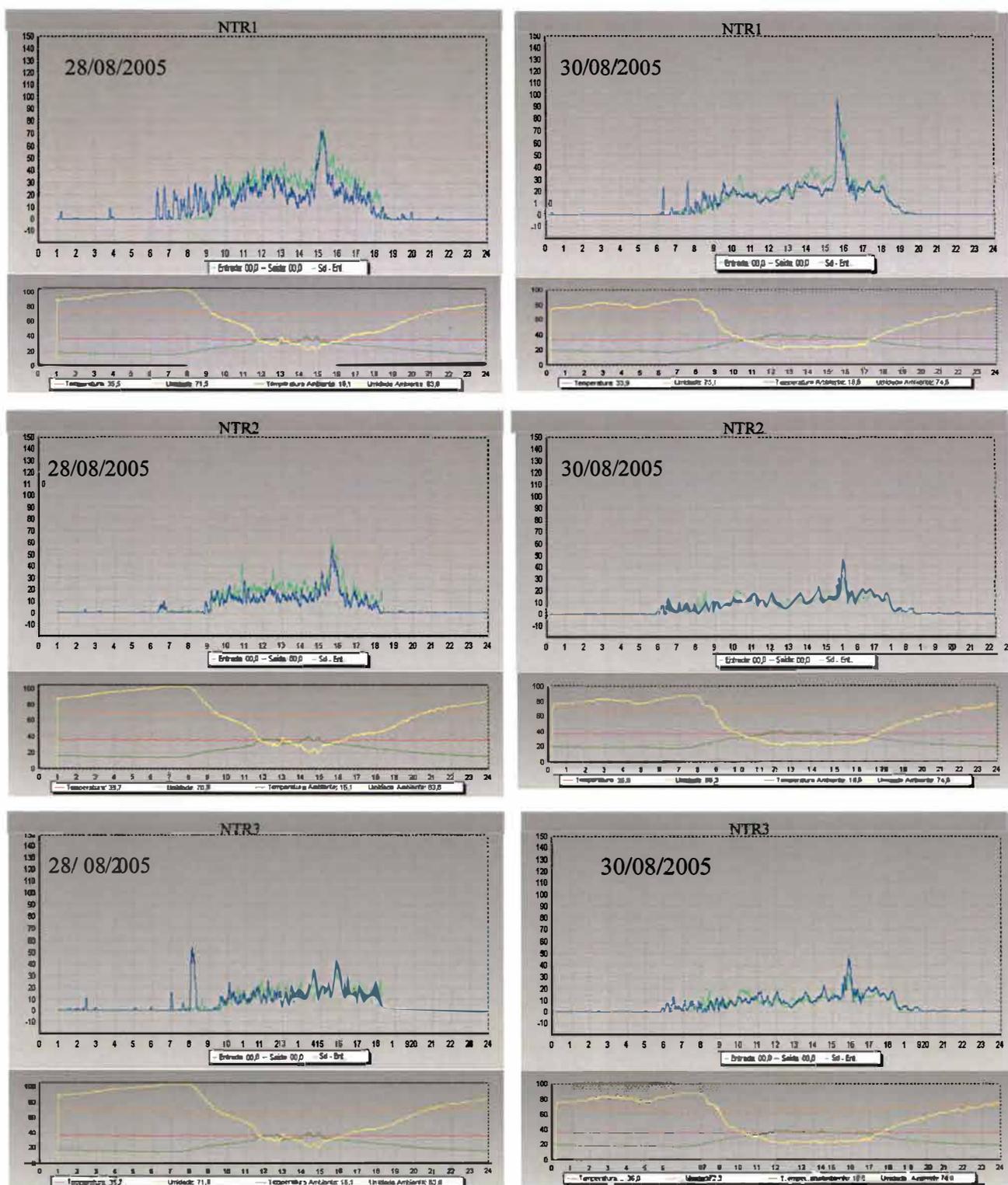


Figura 5: Ciclos de atividade de vôo, de temperatura e umidade relativa interna e do ambiente em três colônias (NTR1, NTR2, NTR3) tratamento de *Apis mellifera* nos dias 28 e 30/08/2005, antes da enxameação.

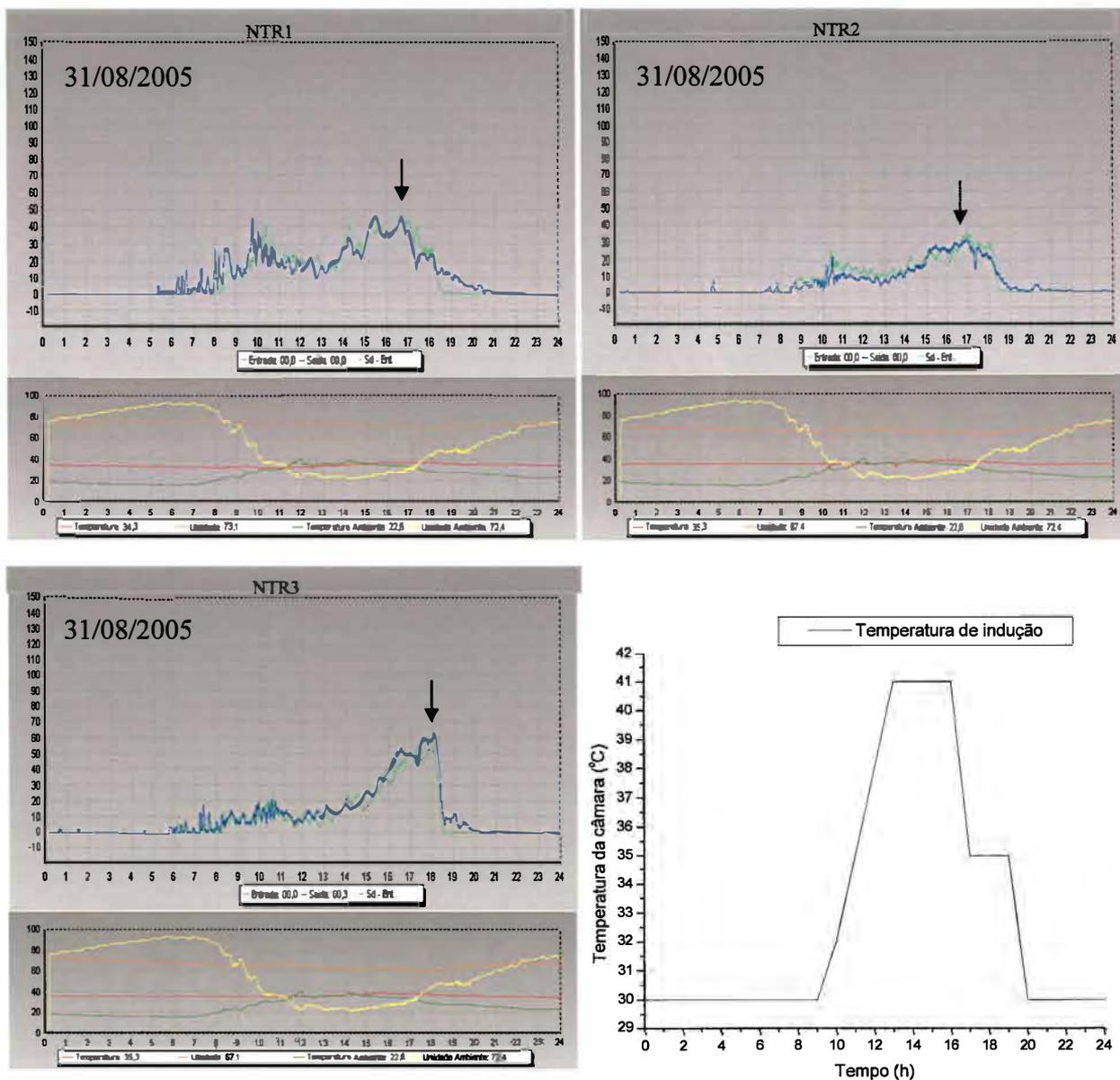


Figura 6: Ciclos de atividade de vôo, de temperatura e umidade relativa interna e do ambiente em três colônias de *Apis mellifera* (NTR1, NTR2, NTR3) no dia 31/08/2005, durante a enxameação e ciclo de temperatura de indução. As setas indicam o momento e horário onde ocorreu a enxameação.

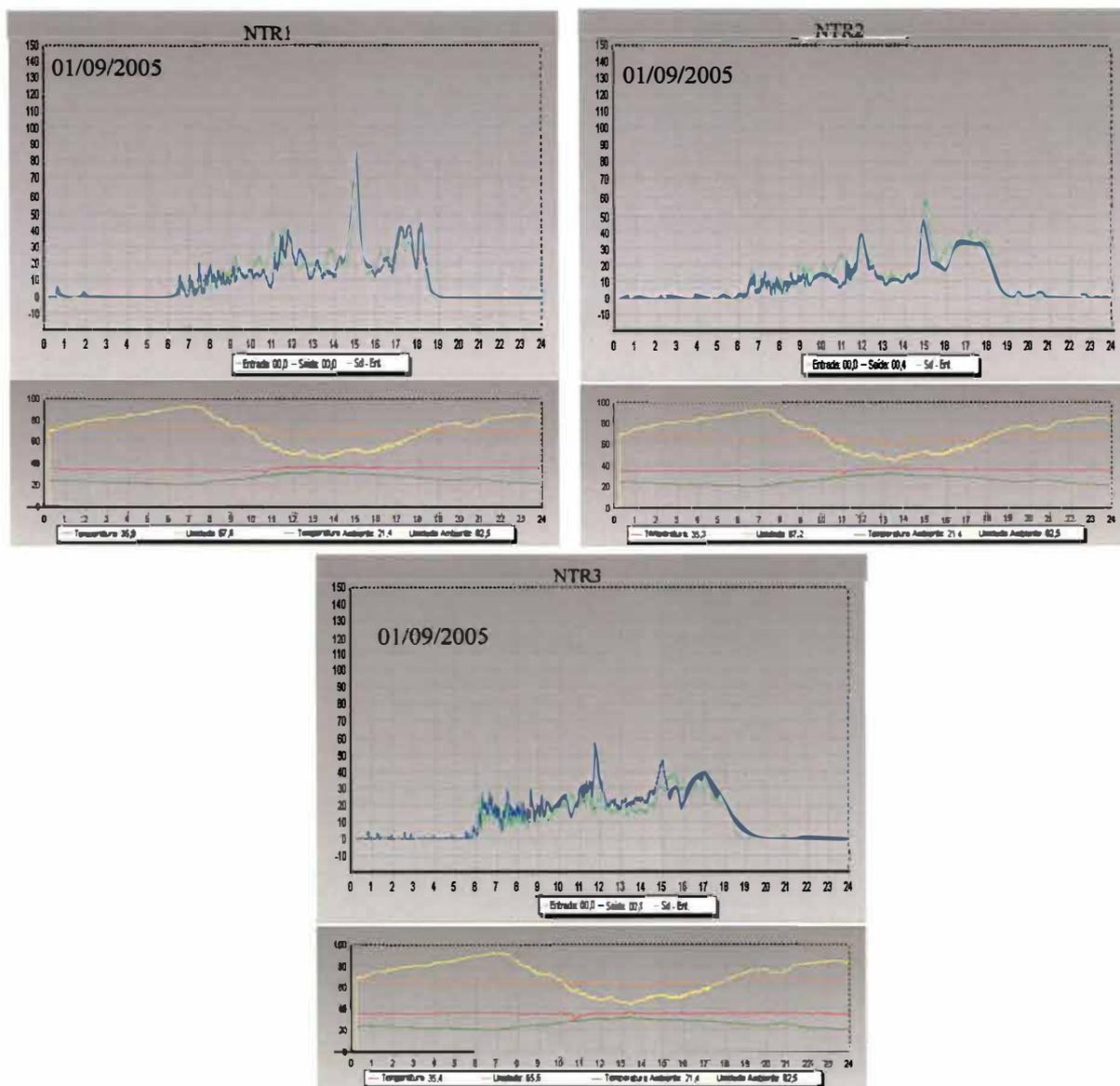


Figura 7: Ciclos de atividade de vôo, de temperatura e umidade relativa interna e do ambiente das três colônias tratamento de *Apis mellifera* (NTR1, NTR2, NTR3) no dia 01/09/2005.

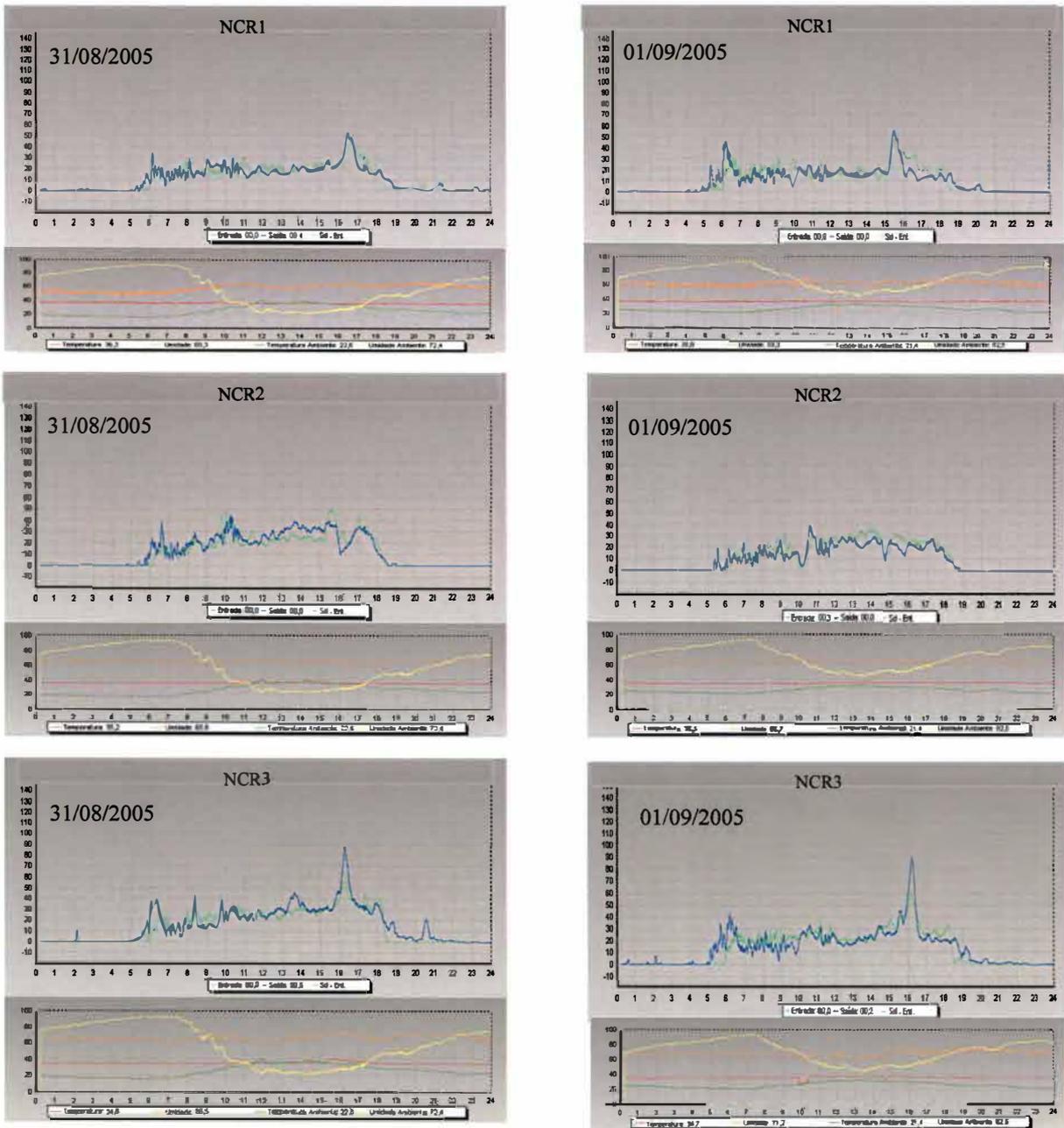


Figura 8: Ciclos de atividade de vôo, de temperatura e umidade relativa interna e do ambiente em três colônias de *Apis mellifera* (NCR1, NCR2, NCR3) nos dias 31/08/2005 e 01/09/2005, das colônias controle.

3.1.2- Segunda tentativa de indução da enxameação em Ribeirão Preto - Outubro de 2005

Nesta indução da enxameação por aumento da temperatura, as colônias NTR4, NTR5 e NTR6 estavam em boas condições, as rainhas marcadas e com as asas cortadas, todos os quadros estavam com crias nascendo, pupas e alimento em boa quantidade e após as induções as crias não estavam mortas. Foram utilizadas 3 colônias tratamento e a baia ainda não estava sendo utilizada.

No dia 30 de setembro (Figura 9), as abelhas começaram a perceber a variação de temperatura a partir das 14:00h (46°C), sendo verificado pela modificação das atividades de saída (excessiva) e entrada (mais baixa) e variação nas temperaturas dentro dos ninhos. A partir deste dia, o tempo estava nublado e as chuvas eram intensas perdurando até dia 3 de outubro; nestes dias os experimentos de indução foram cessados. No dia 4, as induções se reiniciaram promovendo uma maior reação nas atividades de vôo das abelhas e na temperatura interna, mas as abelhas não enxamearam (Figura 10).

A cada dia as abelhas apresentavam o mesmo comportamento de formação de "Cluster" (aglomeração), mas as colônias não enxamearam (Figuras 11 e 12). No dia 7 de outubro, ocorreu a enxameação quando a temperatura da câmara estava a 50 °C (NTR4, NTR5, NTR6- Figura 13).

Sendo assim nesta tentativa de indução, as colônias só enxamearam 7 dias após o início das induções, as barbas ("cluster") foram crescendo continuamente e quando a temperatura na câmara estava a 50°C e a temperatura dentro do ninho a 41,8°C (16:10h) iniciou-se a preparação para enxameação. O enxame da colônia NTR4 parece ter se unido primeiramente ao cluster da colônia NTR5 e depois ao cluster NTR6. Neste momento, as barbas ("cluster") se desfizeram e as abelhas andavam em círculo pela parede externa do prédio e ao redor das entradas e saídas das colméias, após este comportamento todas as abelhas se uniram e enxamearam formando uma nuvem. Como as asas das rainhas estavam cortadas as duas rainhas (NTR4 e NTR6) não conseguiram migrar junto com as abelhas e as duas rainhas caíram no chão marcadas e se comunicaram sem agressividade, o enxame se uniu debaixo da cobertura de proteção contra chuva e insolação das entradas e saídas e enxamearam totalmente após 2 dias. A rainha da colônia NTR5 não foi encontrada.

Os registros de atividade de vôo demonstrados nas figuras ilustram a percepção e agitação das abelhas operárias por causa do aumento de temperatura, principalmente quando a temperatura se excedeu a 38°C (Figuras: 9,10,11,12,13)

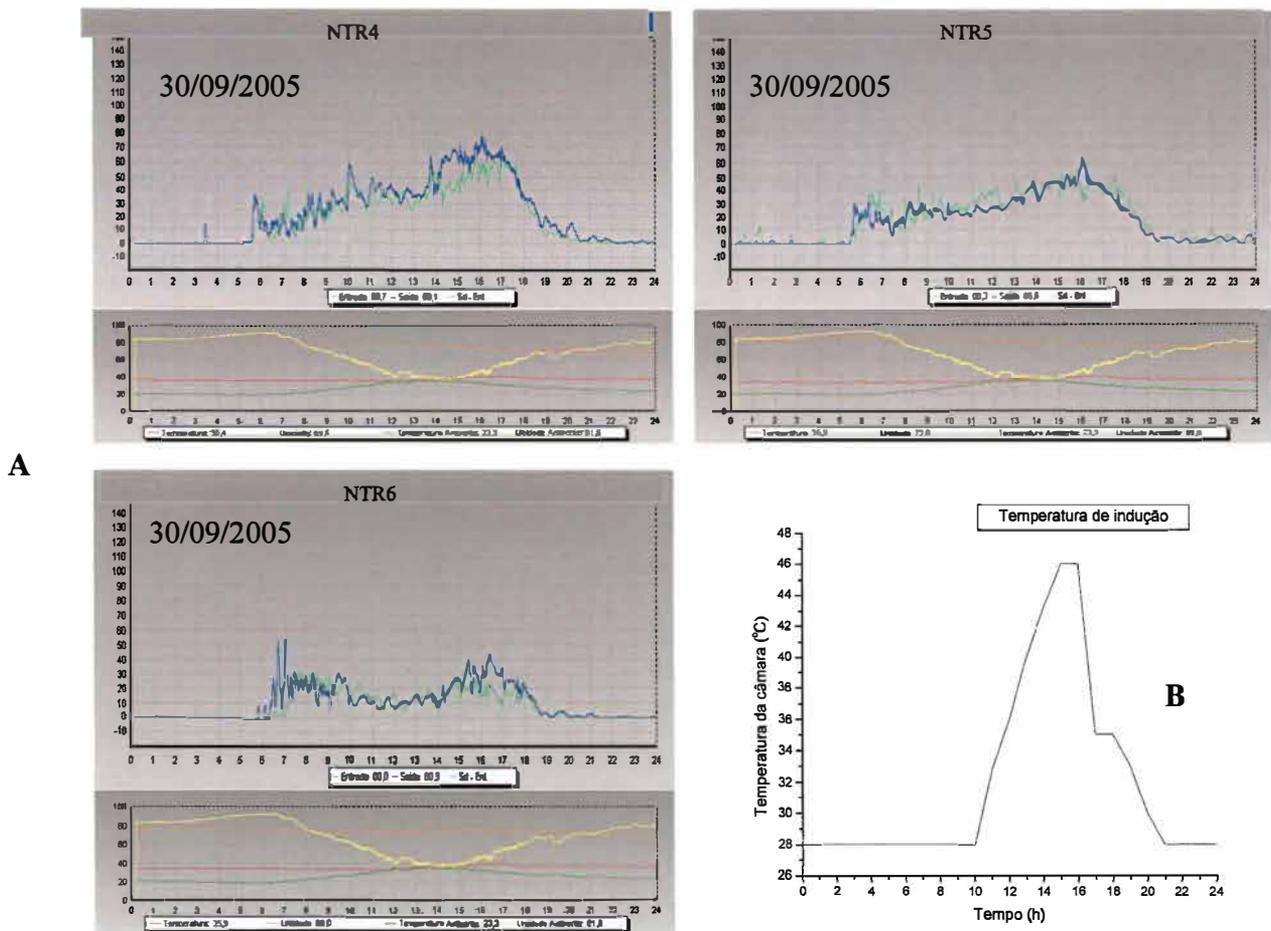


Figura 9: A: Ciclos de atividade de vôo, de temperatura e umidade relativa interna e do ambiente em três colônias tratamento de *Apis mellifera* (NTR4, NTR5, NTR6) no dia 30/09/2005, durante a tentativa de enxameação. B: Ciclo de temperatura induzida.

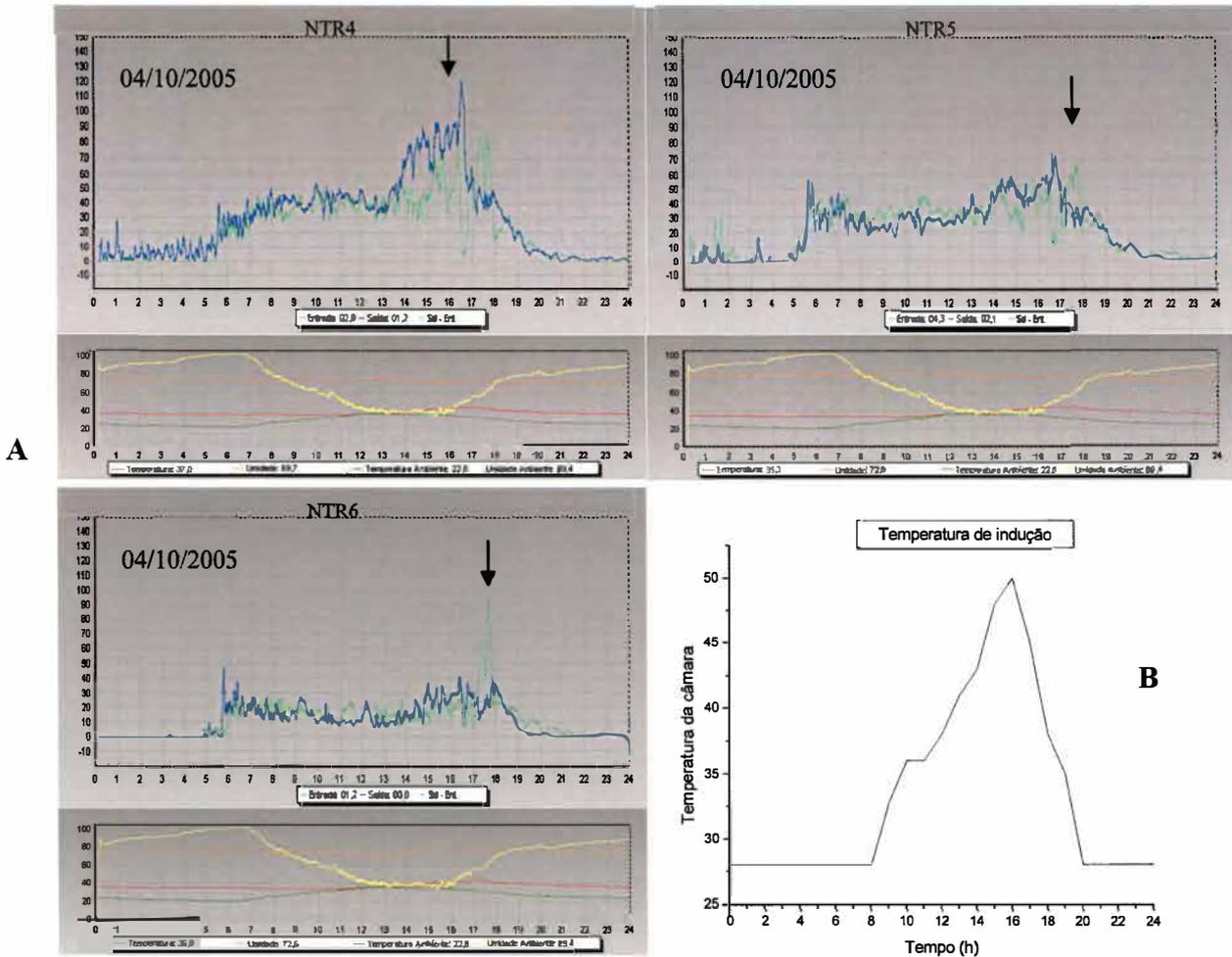


Figura 10: A: Ciclos de atividade de vôo, de temperatura e umidade relativa interna e do ambiente em três colônias tratamento de *Apis mellifera* (NTR4, NTR5, NTR6) no dia 04/10/2005, durante a enxameação. B: Ciclo de temperatura induzida. As setas indicam formação de Clusters.

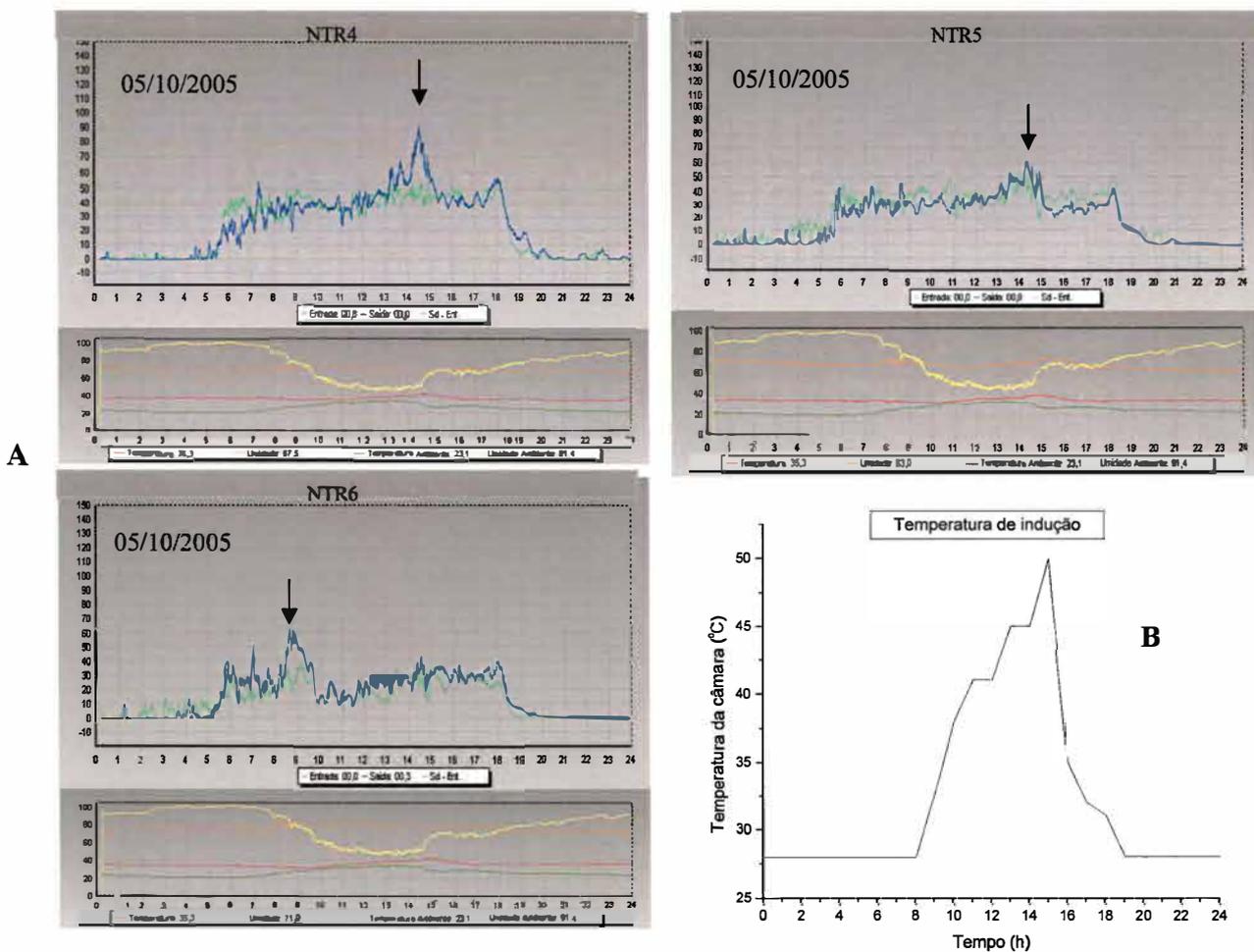


Figura 11: A: Ciclos de atividade de vôo, de temperatura e umidade relativa interna e do ambiente em três colônias tratamento de *Apis mellifera* (NTR4, NTR5, NTR6) no dia 05/10/2005, durante a enxameação. B: Ciclo de temperatura induzida. As setas indicam formação de Clusters.

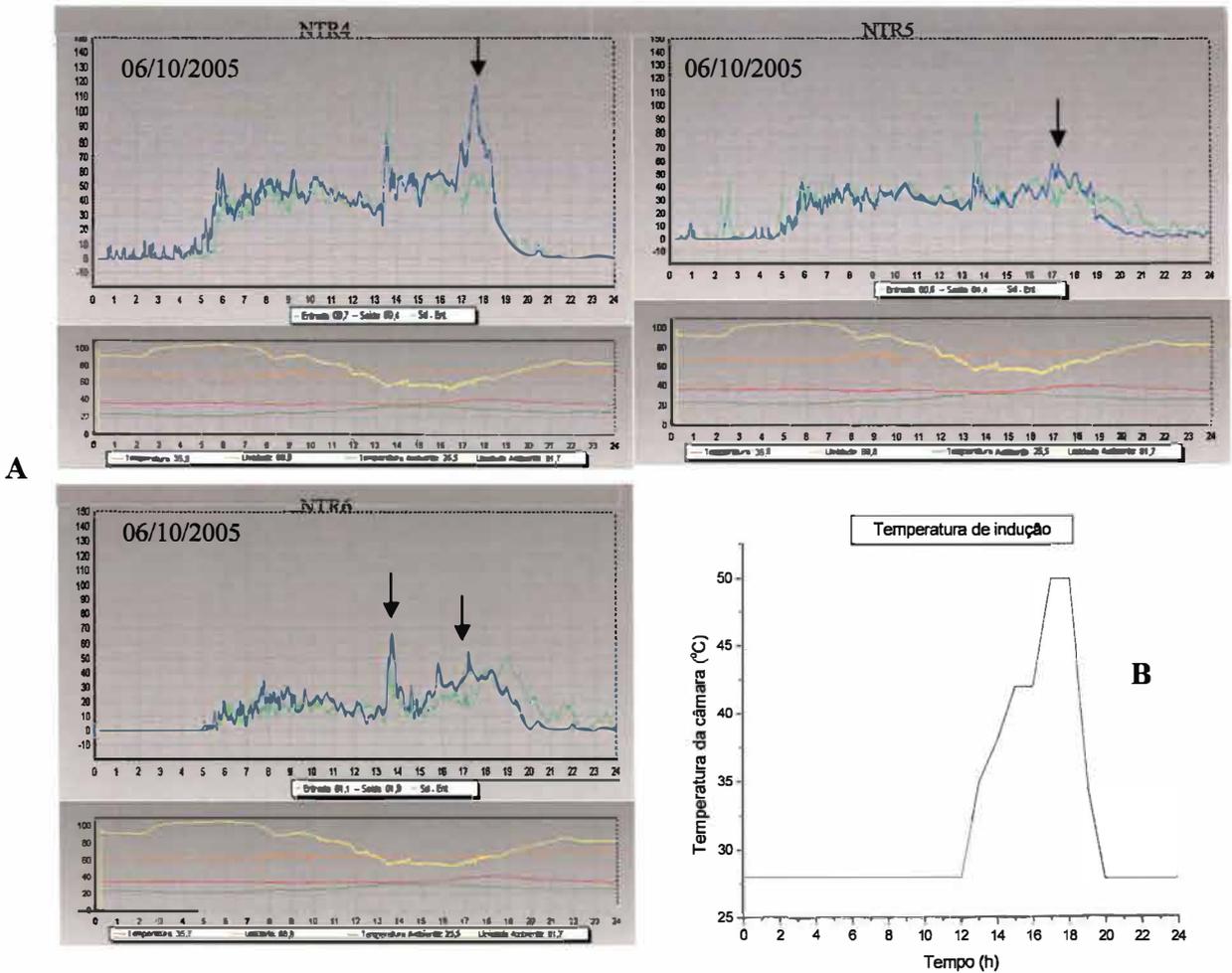


Figura 12: A: Ciclos de atividade de vôo, de temperatura e umidade relativa interna e do ambiente em três colônias tratamento de *Apis mellifera* (NTR4, NTR5, NTR6) no dia 06/10/2005, durante a enxameação. B: Ciclo de temperatura induzida. As setas indicam formação de Clusters.

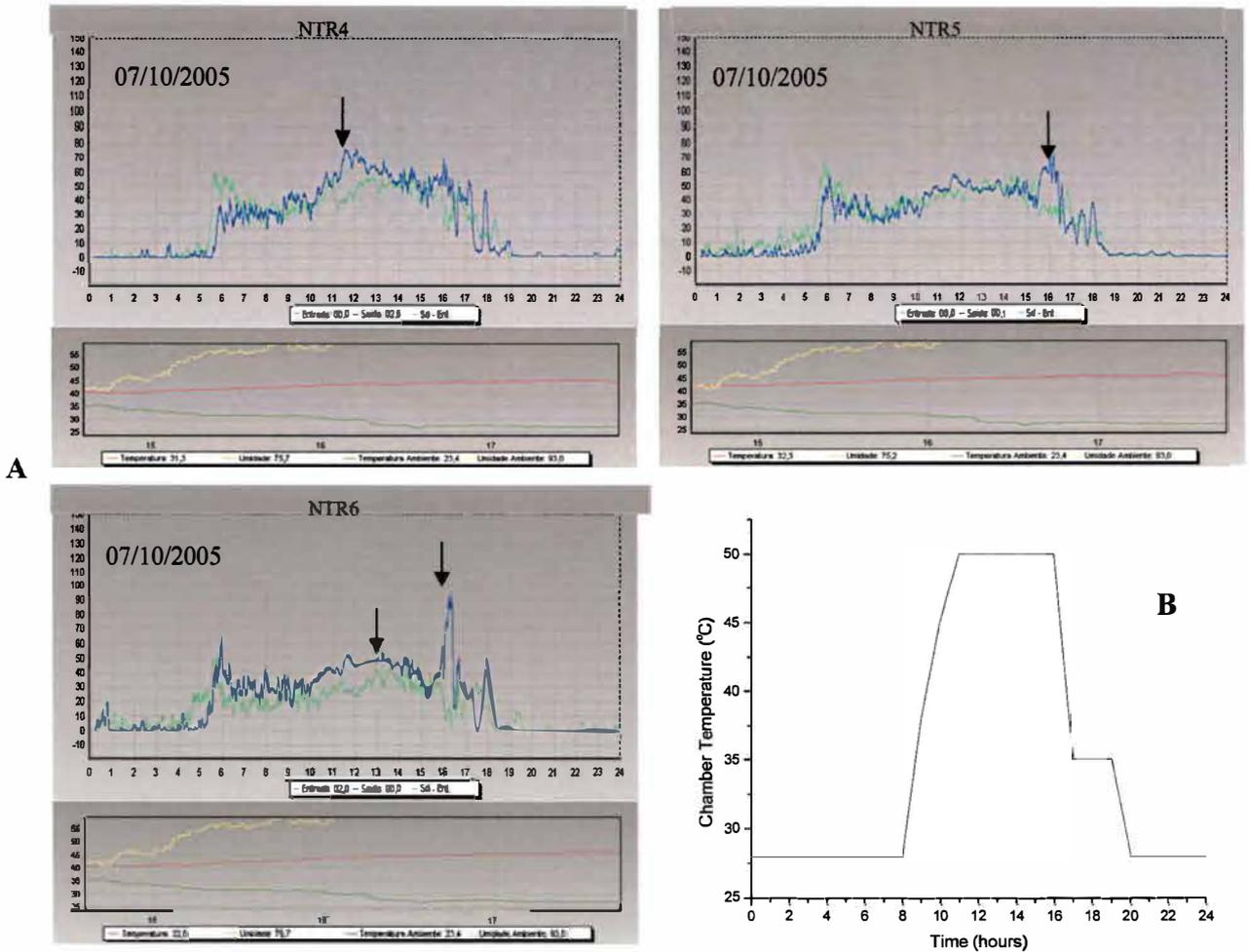


Figura 13: A: Ciclos de atividade de vôo, de temperatura e umidade relativa interna e do ambiente em três colônias tratamento de *Apis mellifera* (NTR4, NTR5, NTR6) no dia 07/10/2005, durante a enxameação. B: Ciclo de temperatura induzida. As setas indicam os ápices de enxameações.

3.1.3- Terceira tentativa de indução da enxameação - Novembro de 2005

Os gráficos nas figuras 14 a 16 registram os ciclos de atividade de vôo das abelhas das colônias NTR7 e NTR8 e os ciclos de temperatura e umidade relativa de temperatura do ninho. As colônias estavam em condições normais, com uma boa população. Cada colônia tinha dois quadros ricos em alimento e dois ricos em cria (crias nascendo, pré-pupa e pupa).

Dois dias antes da indução foi observado um comportamento de início de saque de abelhas de um enxame próximo que estava instalado em um galho de árvore próximo da entrada das colônias tratamento. Às 11:00h as abelhas do enxame tentaram invadir o ninho da colônia NTR7, desestruturando a colônia e promovendo um estresse generalizado, mas no outro dia (20/11/2005) a atividade de vôo retornou às condições normais (Figura 15).

Na terceira tentativa de indução as asas das rainhas não foram cortadas, e a enxameação aconteceu por menos tempo (ninho NTR7 no mesmo dia e ninho NTR8 no dia seguinte). O processo de indução se iniciou com temperatura a 35 °C e foi aumentando a cada hora 3°C, às 12:00h a temperatura da câmara já havia chegado a 50°C e se manteve até o fim do dia (Figura 16). As barbas (“cluster”) iniciaram suas formações às 9:28h quando a temperatura da Câmara estava a 38°C. Com esta temperatura na Câmara, a temperatura do ninho NTR7 estava a 36,3 °C e o ninho NTR8 37,8 °C. Às 11:15h, quando a temperatura da Câmara estava a 45 °C, as temperaturas dos ninhos NTR7 e NTR8, respectivamente, eram de 39,9 °C e 40,6 °C e as suas barbas (“cluster”) estavam bastante grandes com praticamente toda população do ninho NTR7 do lado de fora. As 12:24h a barba do ninho NTR7 apresentou aproximadamente 60 cm de comprimento enquanto a do ninho NTR8 tinha 50 cm; as abelhas corriam pela parede do alvado em círculo. A barba do ninho NTR7 toma toda a parede do alvado às 13:20h e já não é mais possível se contar quantos centímetros tem a barba.

O número de saídas do ninho NTR7 caiu para zero às 13:31h e, neste momento, as abelhas iniciaram a enxameação formando uma nuvem e após sete minutos as abelhas voltaram e se instalaram num galho de uma árvore 4 metros à frente dos tubos de entrada e saída (Figuras 16 e 18). Os enxames não se juntaram por causa da instalação de uma placa de madeira ou baia na frente do ninho NTR8 separando as duas colméias. As abelhas do ninho NTR8 também se prepararam para enxamear neste dia, apresentaram as mesmas características de partida que as do ninho NTR7, formaram a nuvem de abelhas e depois voltaram e se aglomeraram na parede de fora do prédio, próximo a entrada e saída da colméia. No dia seguinte foi mantido o padrão de aumento de temperatura, e as abelhas só enxamearam quando transportaram para fora da colméia a rainha que estava morta dentro da colônia

(Figuras 16, 22/11/2005, NTR8). Desta forma o ninho NTR8 enxameou órfão. Um comportamento muito interessante que aconteceu em ambos os ninhos foi o de operárias dançarem minutos antes da enxameação e logo após a dança a corrida em círculo na parede como se estivesse chamando a rainha para partir. A cessação das atividades dia 23/11/2005, evidência a saída em massa dos indivíduos das colônias.

Um outro fato interessante neste comportamento foi a variação de umidade durante a indução a enxameação. Antes das induções a umidade se mantinha constante entre 70 e 80 % e durante a indução, a umidade diminuiu consideravelmente. As abelhas e tentam aumentar e manter novamente a umidade, mas não conseguem. As operárias devem coletar água para tentar manter a umidade e a temperatura.

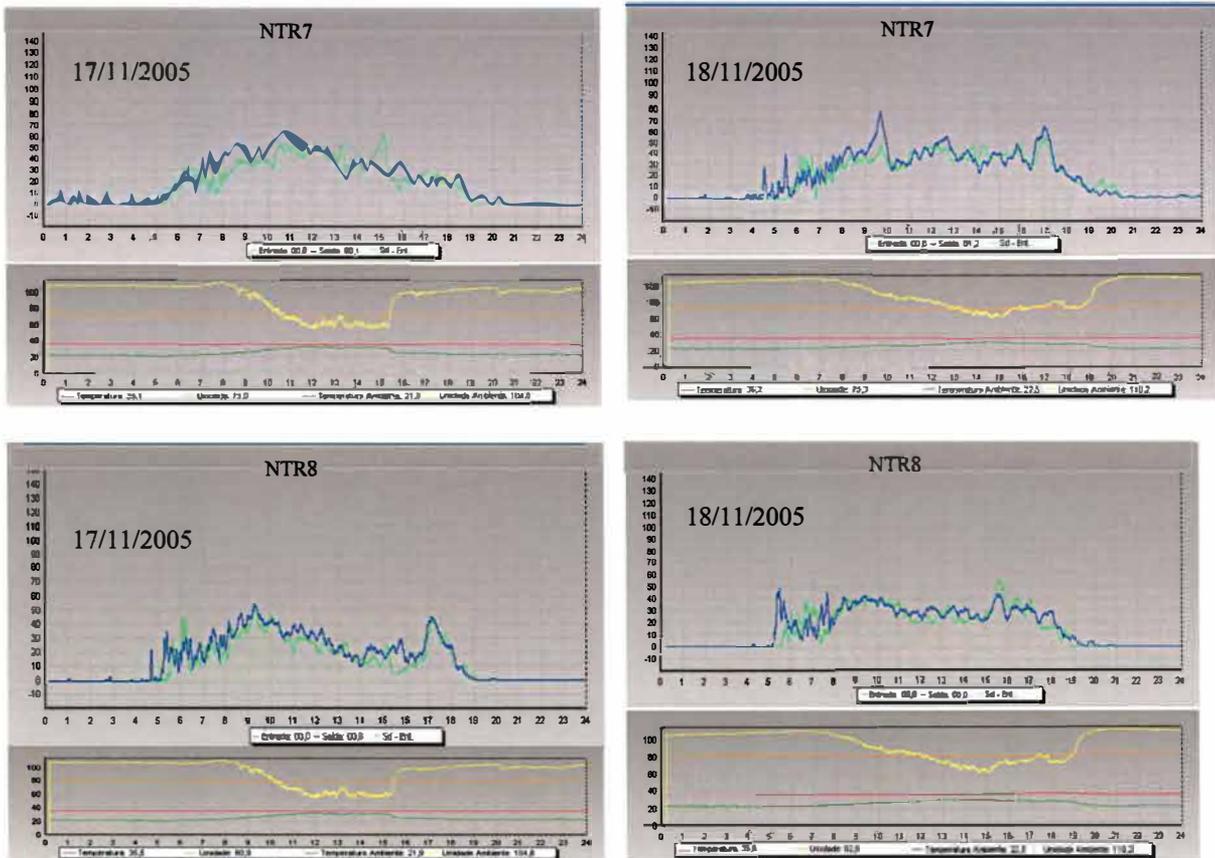


Figura 14: Ciclos de atividade de vôo, de temperatura e umidade relativa interna e do ambiente em três colônias de *Apis mellifera* (NTR7, NTR8) nos dias 17 e 18/11/2005, das colônias tratamento antes da enxameação.

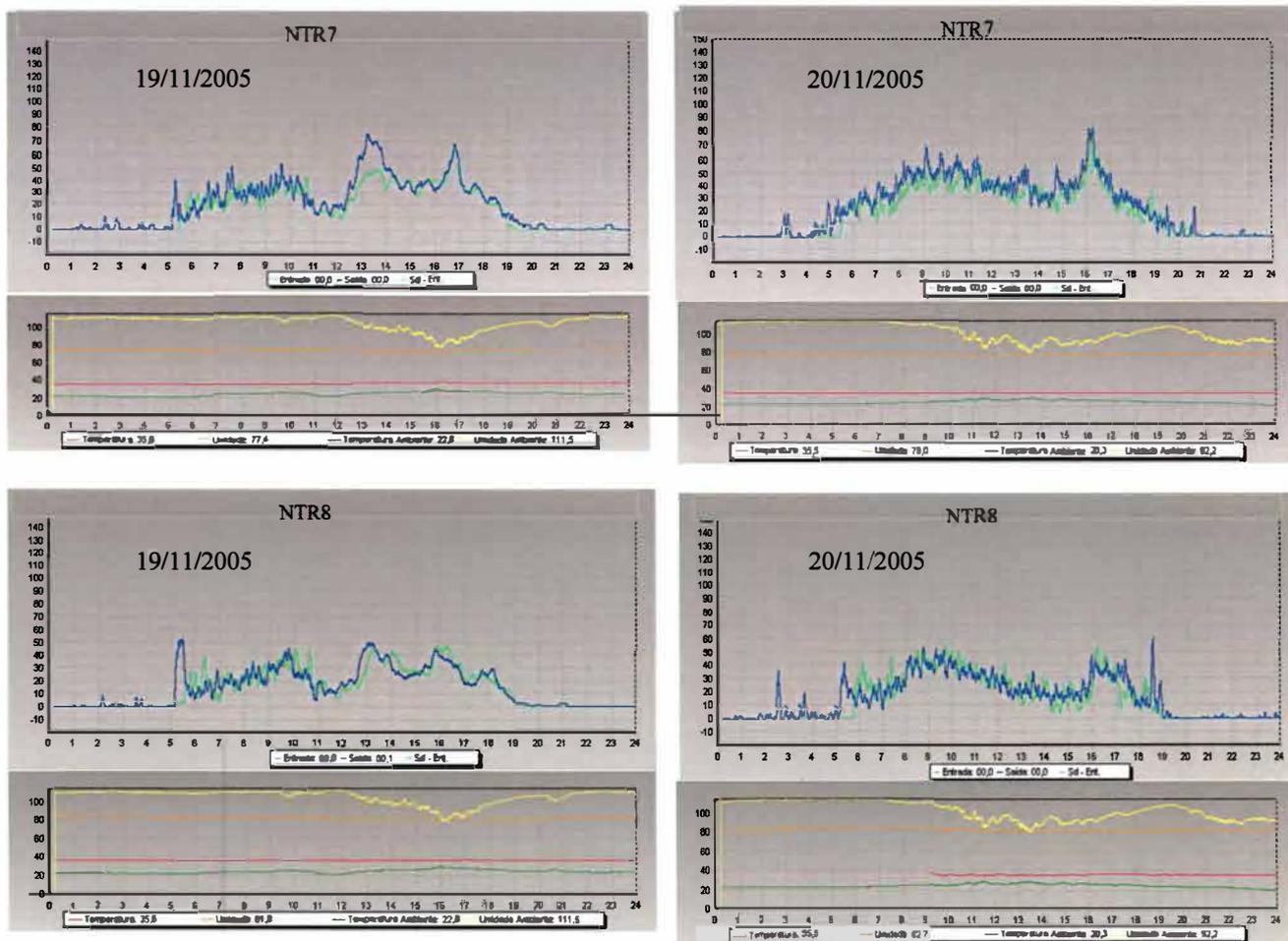


Figura 15: Ciclos de atividade de vôo, de temperatura e umidade relativa interna e do ambiente em três colônias de *Apis mellifera* (NTR7, NTR8) nos dias 19 e 20/11/2005, das colônias tratamento antes da enxameação.

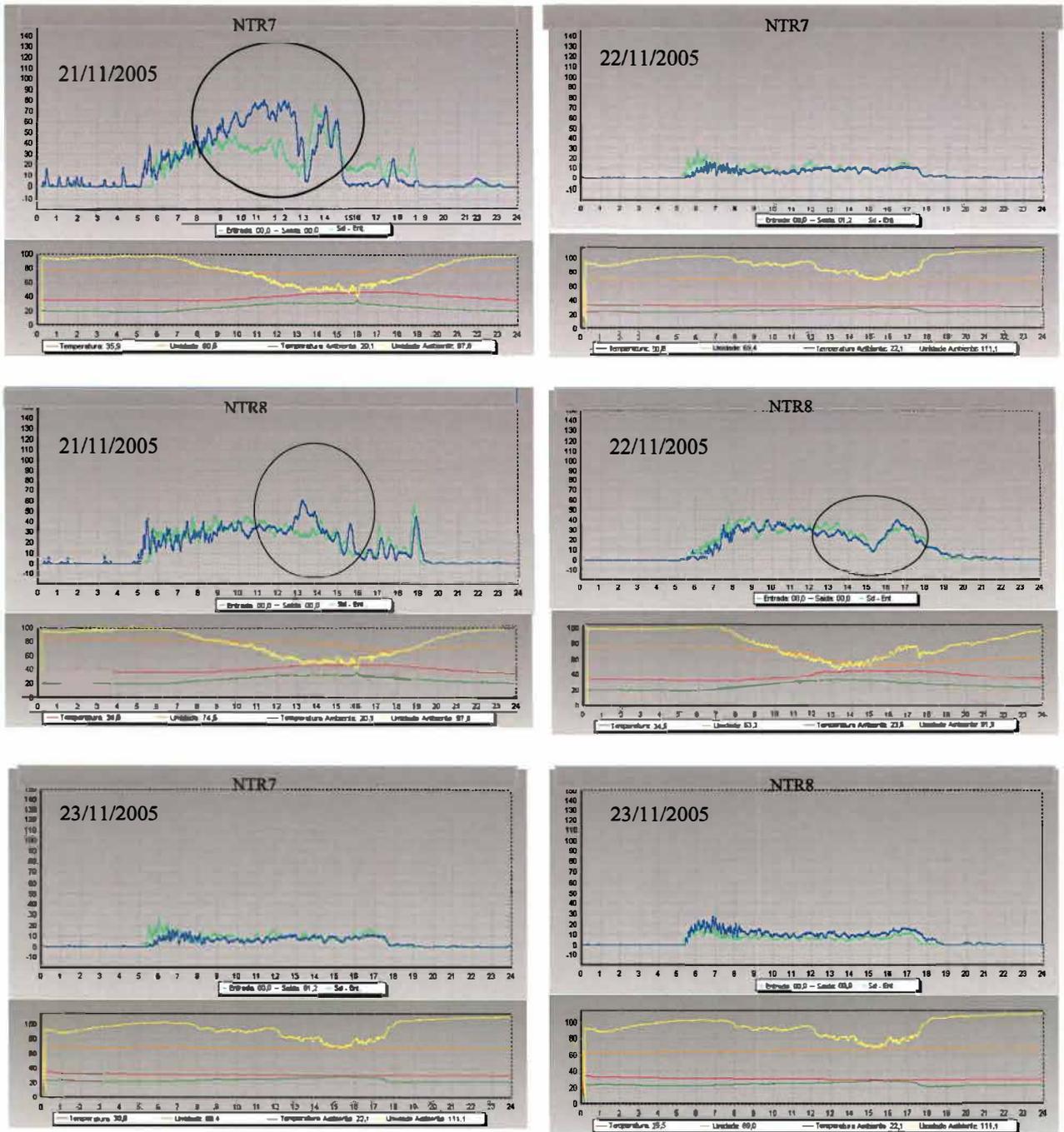


Figura 16: Ciclos de atividade de vôo, de temperatura e umidade relativa interna e do ambiente em duas colônias (NTR7 e NTR8) de *Apis mellifera* do dia 21 ao dia 23/11/2005, das colônias tratamento durante e após as enxameações. Em destaque são vistos os picos das enxameações.

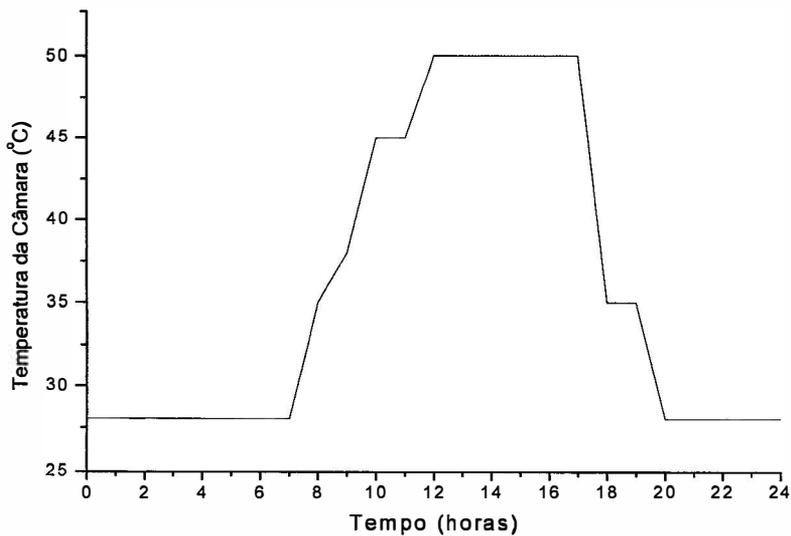


Figura 17: Ciclo de temperatura de indução. Variação de temperatura da câmara ao longo de 24 horas nas duas colônias tratamento de *Apis mellifera* do dia 21 ao dia 23/11/2005, das colônias tratamento durante a enxameação.



Figura 18: A: Entrada (cor branca) e saída da colônia 3, B: Enxame instalado na Baía construída para separação das duas colônias, C: Tubos de entrada (verde) e saída das abelhas da colônia 1, D: Enxame da colônia 1 instalado em um galho de árvore em frente ao local, durante a enxameação dos dias 22 e 23 de novembro de 2005.

3.1.4 – Quarta tentativa de indução da enxameação por temperatura em Ribeirão Preto– 14 a 23 de Fevereiro de 2006.

Nestas induções a enxameação por aumento de temperatura as colônias estavam em boas condições, as rainhas marcadas, todos os quadros estavam com crias nascendo, pupas e alimento em boa quantidade. Havia dois quadros com cria e dois com alimento (pólen e néctar) em cada colônia. As colônias foram introduzidas no interior da Câmara Climática e depois de três dias as colônias apresentaram condições normais de atividade de entrada e saída de abelhas. Durante os dias 14 e 17 de fevereiro houve pancadas de chuva esporádicas ao longo do dia, provocando queda e aumento de atividade de vôo das abelhas como podemos ver nos gráficos da Figura 19. No dia 18 o tempo melhorou, permanecendo fechado pela manhã e abrindo à tarde com maior movimento às 16:30h. No dia 14 de fevereiro de 2006 os primeiros dados foram coletados. Na colônia NTR9, as abelhas entravam e saíam continuamente ao longo do dia e durante a noite sua atividade cessava, mas houve mais atividade de saída do que de entrada e a temperatura do ninho se manteve em 32,6 °C, enquanto o esperado seria 35 °C (Figura 19). Por sua vez a temperatura do ambiente durante o dia estava baixa, chegando durante à noite a 22 °C e a umidade 100%. Por outro lado, sob mesma temperatura e umidade ambiente a colônia NTR10 apresentou temperatura interna em torno de 35 °C.

No dia 17 de fevereiro foi observado durante a noite um distúrbio na temperatura e umidade relativa na colônia NTR9, de 1 hora da manhã até às 5:00h; neste período a temperatura dentro do ninho variou de 31,5 a 40 °C e umidade relativa de 60 a 80%. Nos dias 17 e 18 o padrão de atividade de vôo da colônia NTR9 se assemelha bastante do da colônia NTR10. Já no dia 19 de fevereiro houve uma tentativa de invasão de abelhas de um enxame que se instalou próximo dali, na colônia NTR9. O comportamento de invasão aconteceu às 11:00h e as abelhas brigavam umas com as outras na entrada da colônia, algumas abelhas foram encontradas no chão da entrada (Figura 20).

Nas atividades de vôos das colônias NTR9 e NTR10 foi verificado um número exacerbado de entradas e saídas as 16:00h em praticamente todos os dias analisados. Este comportamento está mais relacionado com vôos de reconhecimento do que por ação da temperatura por que a temperatura estava baixa nestes dias com céu nublado e pancadas de chuva esporádicas (Figura 19)

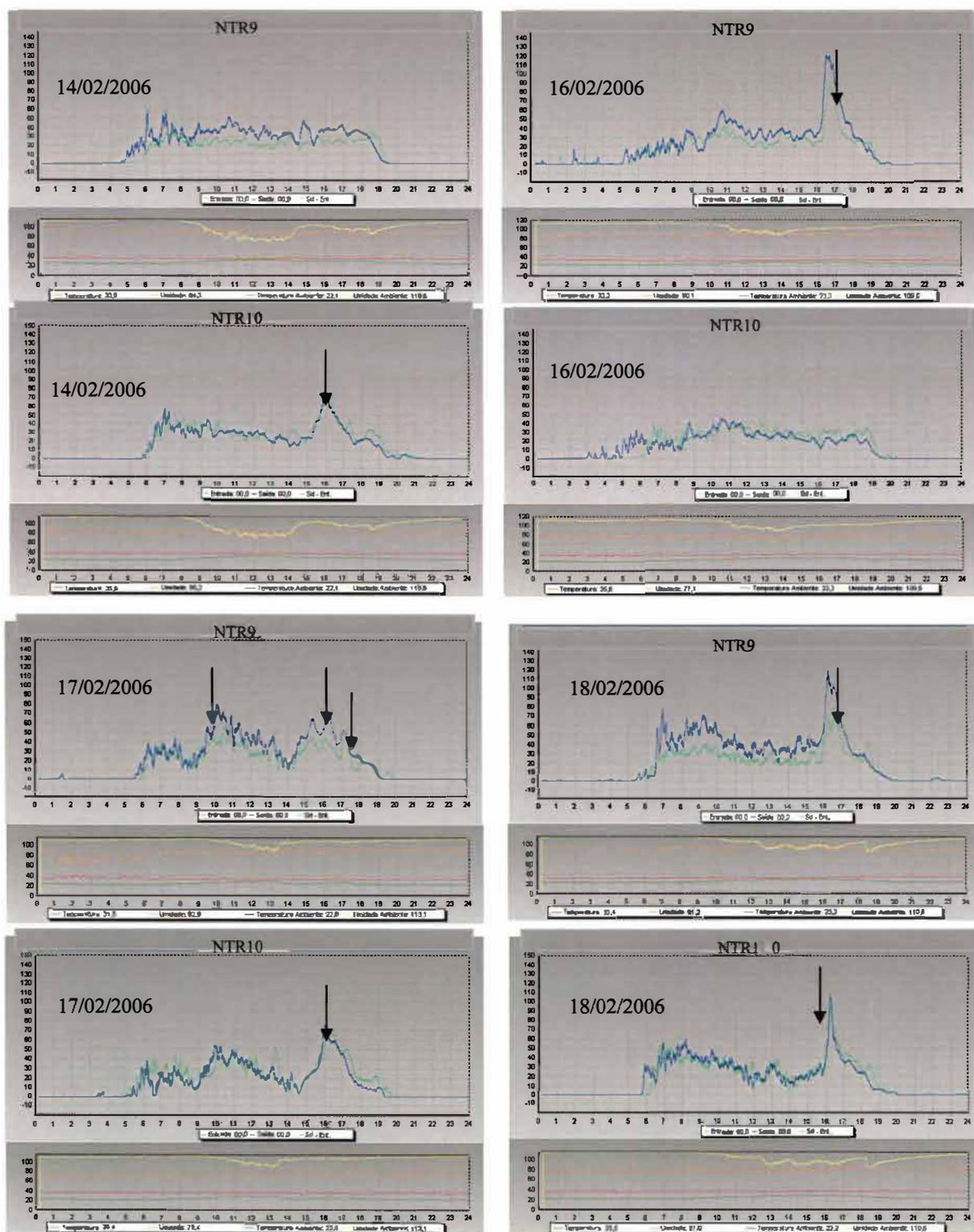


Figura 19: Ciclos de atividade de vô, temperaturas e umidades relativas interna e do ambiente em duas colônias tratamento (NTR9, NTR10) de *Apis mellifera* entre os dias 14 e 18 de fevereiro de 2006. As setas indicam os picos referentes aos picos de chuva. Antes da enxameação.

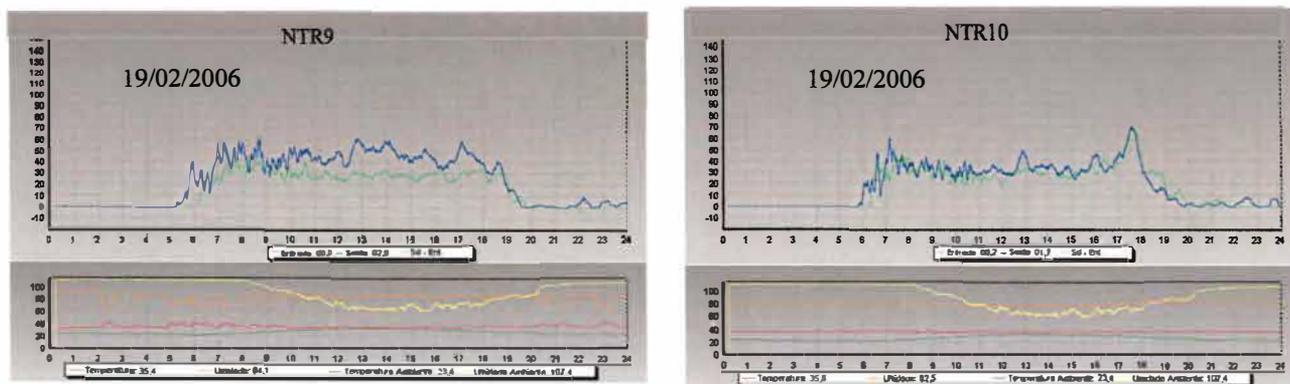


Figura 20: Ciclos de atividade de vôo, temperaturas e umidades relativas interna e do ambiente em duas colônias tratamento de *Apis mellifera* no dia 19 de fevereiro de 2006. Invasão de abelhas de um enxame próximo ao ninho 01 antes da enxameação.

No dia 20 de fevereiro, a indução por temperatura se iniciou às 8:00h com temperatura inicial de 28 °C e às 9:30h a temperatura no interior da Câmara climática já estava a 35 °C (Figura 21). A atividade das abelhas foi aumentando gradativamente, acompanhando o aumento de temperatura. A partir das 10:00h as barbas começaram a se formar. Quando a temperatura dentro das colônias estava a 37,7 °C a barba do ninho NTR10 era bem maior que a do ninho NTR9. As barbas cresceram com o aumento da temperatura. As 11:50h (Temperatura de indução: 38°C) a agitação era grande nas entradas das duas colônias. Algumas operárias ficam no tubo de saída esperando outras saírem e se comunicam. Às 12:20h as abelhas chegam e saem rapidamente se comunicando e as 12:30h elas começam a caminhar em círculo. As 13:30h as abelhas da colônia NTR9 formam uma barba pequena e depois se expandem em forma de nuvem. Às 14:26h outra barba pequena se forma e as abelhas começam a caminhar novamente em círculo (Figura 21).

Às 14:30h as abelhas do ninho NTR9 não conseguem termorregular devido a temperatura da Câmara a 45 °C. Neste momento o ninho NTR10 (temperatura do interior 44 °C e umidade 99,7%) não enxameou, mas praticamente todas as abelhas já estavam do lado de fora da colméia. Às 14:40 as abelhas da barba da colônia NTR9 desfizeram a barba e abandonaram a colônia. As barbas foram se desmanchando pouco a pouco e as abelhas migravam em uma mesma direção, mas não foi possível registrar a localização do enxame. Às 15:50h a atividade de saída do ninho 1 zerou e a atividade do ninho NTR10 zerou também, mas o enxame do ninho NTR10 se concentrou na “baia”. Na colônia NTR10 só houve saída em massa dos indivíduos da colônia no dia 21 de fevereiro culminando com a formação de uma nuvem às 9:55h tendo levado 6 minutos para a formação total da nuvem. O padrão de aumento da temperatura foi o mesmo nos dois dias de indução da enxameação (Figura 21).

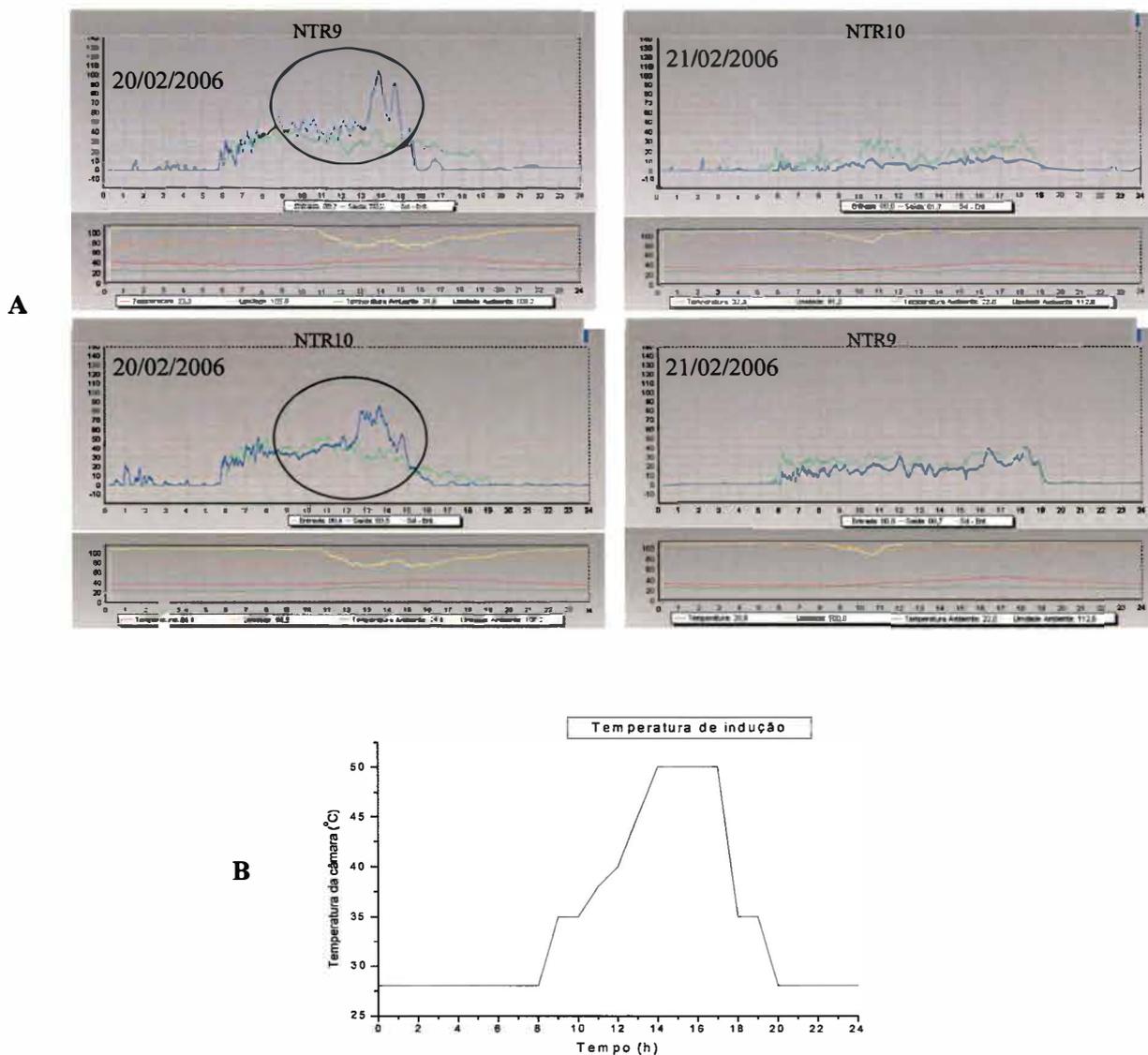


Figura 21: A: Ciclos de atividade de vôo, temperaturas e umidades relativas interna e do ambiente em duas colônias tratamento (NTR9, NTR10) de *Apis mellifera* nos dias 20 e 21 de fevereiro de 2006. B: Ciclo de temperatura de indução nos dias de indução. Em destaque são vistos os picos de enxameações

3.1.5 – Quinta tentativa de indução da enxameação por temperatura em Ribeirão Preto– Setembro de 2006.

No mês de setembro, em condições normais, as atividades de vôo tanto das colônias controle (NCR) quanto das tratamento (NTR) apresentaram um padrão de atividade alto, com grande movimentação das abelhas entrando e saindo. Entre os horários de 16:00h e 16:40h o padrão de entrada e saída aumentou consideravelmente em todas as colônias. Após este intervalo de tempo a atividade diminuía (Figura 22). As 8:00h da manhã, as abelhas já chegavam do campo com pólen e a atividade aumentava de acordo com a entrada de alimento. A temperatura de dentro da colônia se manteve constante a 35°C em todas as colônias enquanto que a umidade do ninho oscilava entre 70 e 80%. Durante a noite foi observado na colônia NCR4 uma grande atividade das abelhas mantendo a umidade no patamar citado anteriormente. Supomos que as abelhas estavam desidratando o néctar coletado durante o dia e assim contribuindo com o aumento da umidade na colônia e ao mesmo tempo ventilando (Figura 22). Por outro lado, durante o dia, a umidade da colônia diminuiu consideravelmente às 14:00h nas duas colônias controle (NCR4 e NCR5). Nota-se no dia 7/9/06 às 16h vôo de reconhecimento. Nestes dias a temperatura ambiente estava bem alta chegando às 14:00h a 35°C na sombra. A colônia NCR5 estava com a população pequena e com poucas abelhas e mesmo assim conseguia termorregular (Figuras 22 e 23).

A figura 23 apresenta os padrões de atividades de vôo das abelhas bem como temperaturas e umidades das colônias e sua relação com o ambiente externo durante as induções e ciclo de temperatura de indução das colônias NTR11 e NTR12. Como podemos perceber, as colônias induzidas não enxamearam em três dias consecutivos de induções. As atividades foram aumentando progressivamente juntamente com as temperaturas de indução e à medida que as abelhas iam sentindo a variação de temperatura do ambiente da Câmara climática, elas iam termorregulando e mantendo a temperatura. As abelhas traziam bastante água para manter a temperatura, sendo observado abelhas coletando água nos reservatórios e os vôos eram bem rápidos. Quando as atividades de entrada estavam maiores do que as de saída, provavelmente as abelhas estavam tentando diminuir a temperatura. As abelhas se aglomeraram progressivamente formando uma barba (“Cluster”) típica de preparação à enxameação. As 14:40h as duas colônias tratamento apresentaram suas barbas de abelhas agitadas. Muitas abelhas ficavam na base da baía da colônia NTR12 com as pernas posteriores juntas e batendo as asas sem parar por uns 10 minutos. O abdômen ficou encurvado e não levantado. As pernas medianas ficavam balançando. Este comportamento pode estar

relacionado com a liberação do feromônio de coesão do enxame por que logo após este comportamento as abelhas se aglomeraram mais. As 15:44h a temperatura dentro das colônias estava em torno de 43 °C. Em outras induções, a partir de 41 °C as abelhas da colônia desistem de termorregular e a temperatura no interior da colônia vai aumentando progressivamente. À temperatura de 43 °C a maioria das abelhas já estavam do lado de fora da colméia. No primeiro dia a colônia NTR12 tentou enxamear quatro vezes, correndo em circulo pelo alvado enquanto que a colônia NTR11 tentou enxamear duas vezes, mas não enxamearam. As induções realizadas do dia 11 ao dia 13 de setembro de 2006 provocaram aglomeração de abelhas e formação de “Cluster” nos tubos de entrada e saída das colônias induzidas. Porém, após a redução da temperatura as abelhas retornaram. As abelhas da colônia NTR12 conseguiram manter a temperatura interna até 41 °C e o tempo todo tentavam diminuir, mesmo com a temperatura atingindo 50 °C dentro da câmara. As umidades relativas dentro das colônias se mantiveram entre 70 e 80 % (valores de colônias em condições normais) o tempo todo. As abelhas da colônia NCR11 sofreram mais perturbações do que as da colônia NCR12. As da NCR11 deixaram que a temperatura de dentro da colônia chegasse a 45 °C. O “cluster” desta colônia foi maior do que o da colônia NTR12.

Após três dias de induções (Figura 24), as atividades registradas foram baixas e mesmo com excesso de temperatura essas colônias não enxamearam. Após mais um dia de coleta sem aumento de temperatura as colméias foram retiradas da Câmara climática para averiguação das condições internas. Constatamos que as rainhas não morreram, ainda havia cria e alimento os favos não se derreteram. Algumas abelhas morreram, mas logo as demais abelhas limpavam a colméia e se restabeleceram.

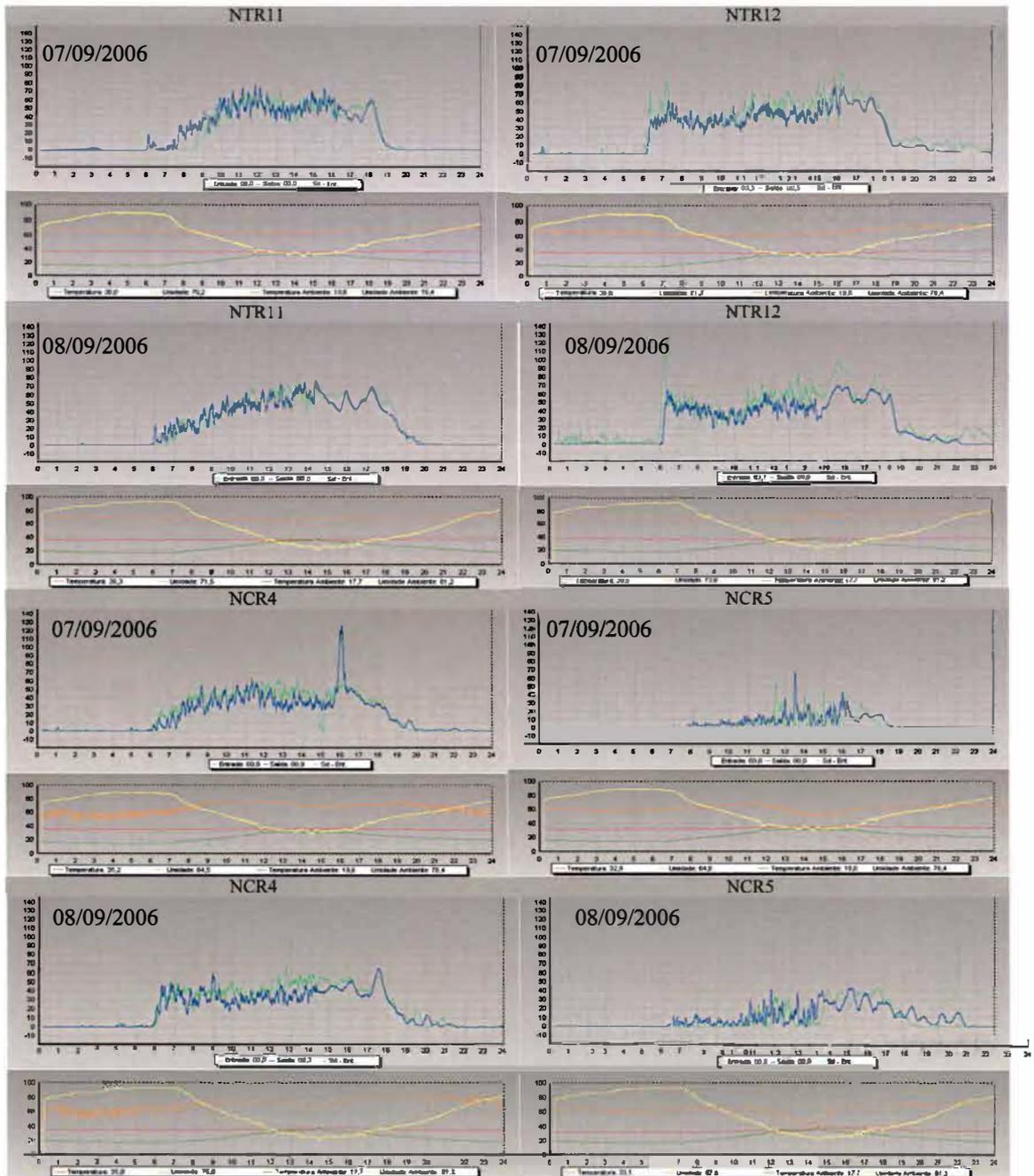
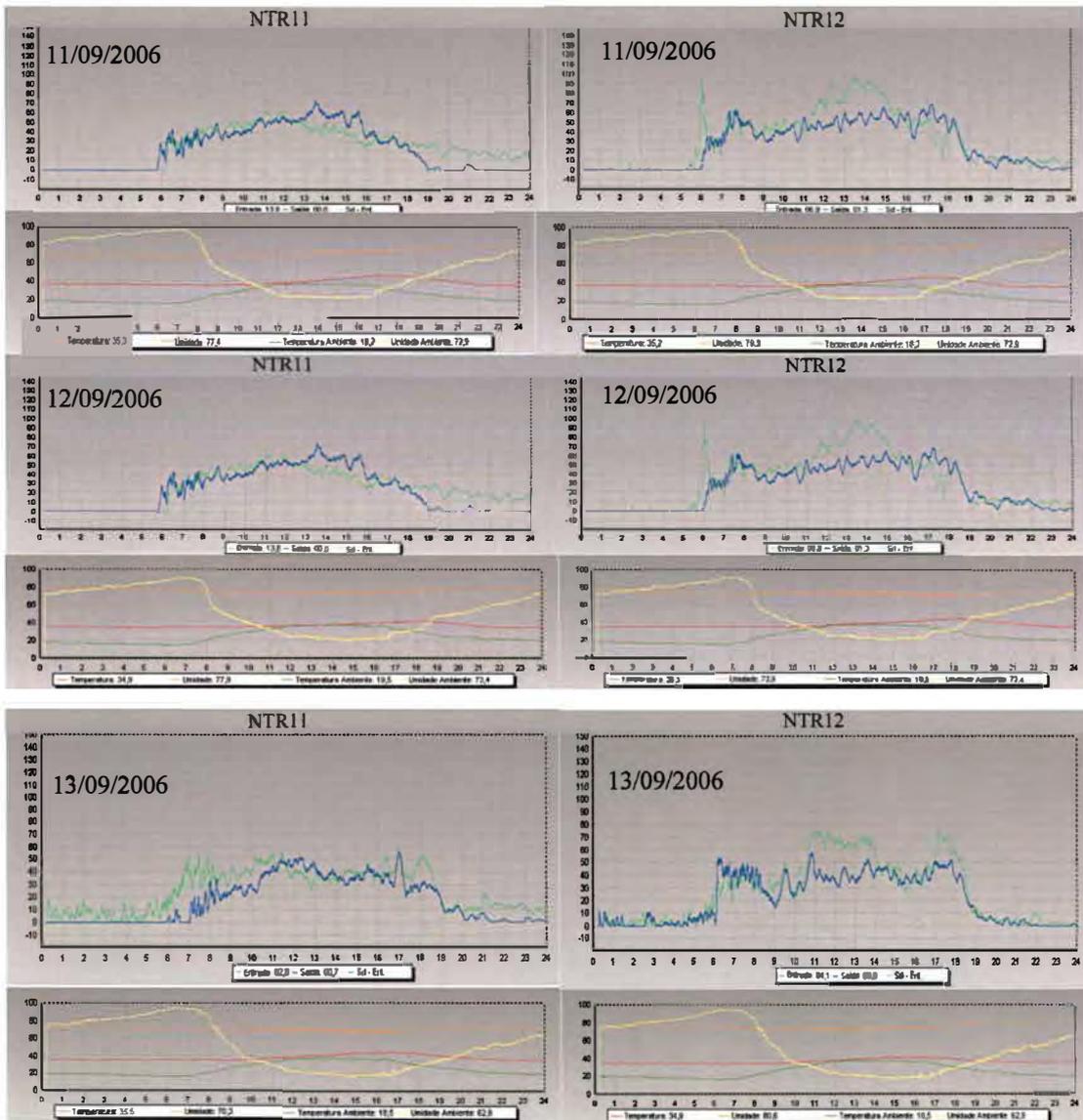


Figura 22: Ciclos de atividade de vô, de temperatura e umidade relativa interna e do ambiente, em condições normais, das colônias controle e tratamento (NCR4, NCR5, NTR11 E NTR12) de *Apis mellifera* nos dias 07 e 08 de setembro de 2006 em Ribeirão Preto. Nota-se na colônia NCR4 às 16 h, um pico correspondente a vô de reconhecimento.

A



B

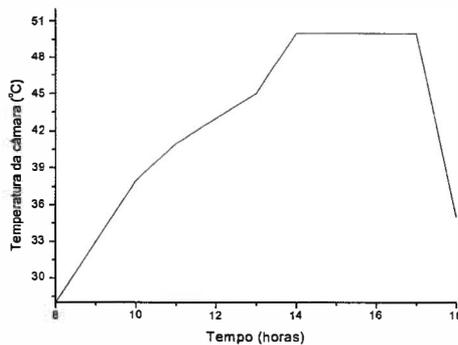


Figura 23: A: Ciclos de atividade de vô, de temperatura e umidade relativa interna e do ambiente, em condições de indução, das colônias tratamento(NTR11 e NTR12) de *Apis mellifera* nos dias 11, 12 e 13 de setembro de 2006 em Ribeirão Preto. B: Temperaturas de indução a cada hora.

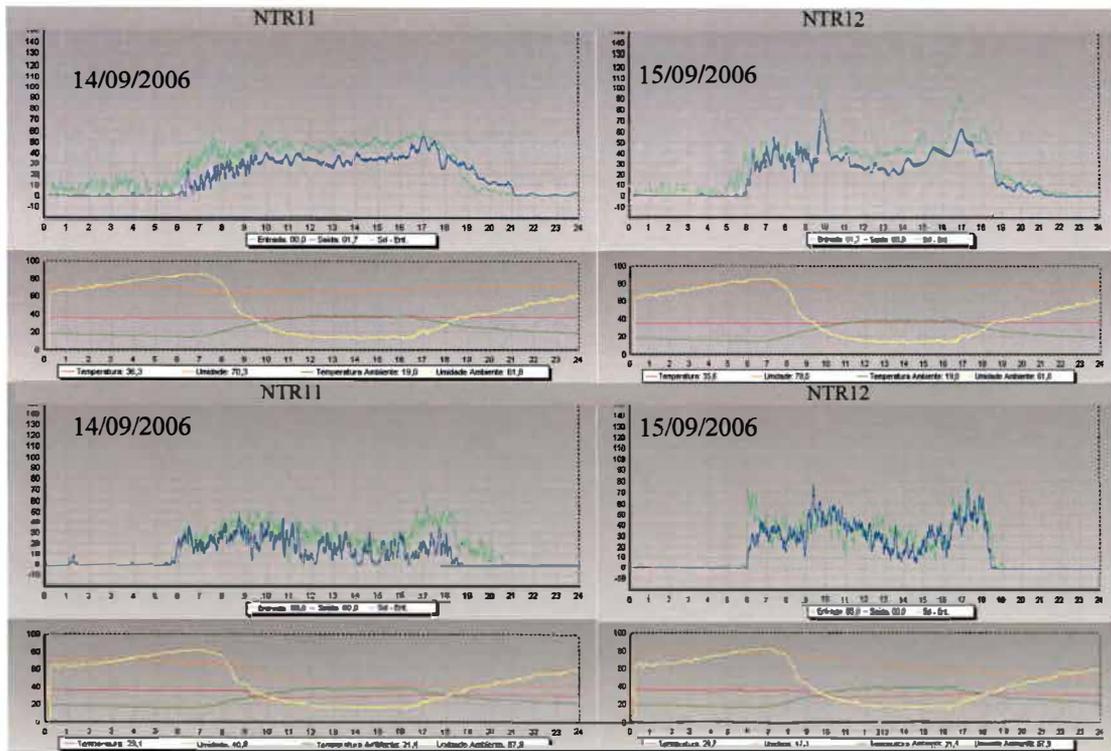


Figura 24: Ciclos de atividade de vôo, de temperatura e umidade relativa interna e do ambiente, após as induções, das colônias tratamento(NTR11 e NTR12) de *Apis mellifera* nos dias 14 e 15 de setembro de 2006 em Ribeirão Preto.

3.1.6 – Sexta tentativa de indução da enxameação por temperatura. Coletas realizadas no mês de julho em Mossoró/RN.

No mês de julho as abelhas começam a sair às 4:30h da manhã. Amanhece muito cedo em Mossoró. Nesta época do ano as colônias estão fortes com bastante população e alimento sendo coletados. Os quadros estavam repletos de cria e os quadros de alimento também. Nesta época do ano também encontramos muitos enxames procurando sítios de nidificação. No dia 25 de julho passaram pela fazenda experimental 8 enxames, destes 6 se instalaram nas caixas iscas. Nesta época do ano também ocorrem chuvas rápidas que refrescam o ambiente, assim como a presença de zangões é mais freqüente.

O padrão de atividade em condições normais das colônias neste mês é crescente durante o dia, com muitas saídas e entradas. Verificamos também picos de atividade no horário das 13:00h e às 16:00 que pode estar relacionado com quantidade e qualidade de recurso no ambiente ou até mesmo vôos de reconhecimento (Figura 25). Coletas de recursos florais a cada três meses estão sendo realizadas para estudos futuros sobre as características das floradas da região.

Dia 30 de junho foi iniciada a indução a enxameação em Mossoró com aumento de temperatura. As 8:00h da manhã a temperatura inicial de indução foi de 35 °C. O tempo estava bom, com céu totalmente aberto e praticamente sem nuvens. A aglomeração de abelhas logo começou a se formar. As abelhas da colônia NTM1 se aglomeraram mais rapidamente que as da NTM2 e não termorregularam. Já as abelhas da colônia NTM2 reagiram diferentemente, a temperatura do ninho 3 se elevou bastante após as 8:20h. Quando a temperatura de indução estava a 38 °C, as 9:22h as abelhas da colônia NTM1 migraram formando uma nuvem (Figura 26). Algumas abelhas retornaram as 9:35h para manter contato com o tubo de entrada e ficaram rodando em círculo pelo alvado. As 12:15h do mesmo dia a saída da colônia NTM1 zerou e poucas abelhas ficaram no tubo de entrada. As abelhas da colônia NTM2 se aglomeravam progressivamente na parede do alvado e quando quase toda a população já estava do lado de fora (15:15h e 45,4 °C dentro da colônia) a atividade de saída zerou. As abelhas desta colônia não enxamearam formando nuvem neste momento, mas migraram para a parede superior da baia sem pretensão de formação de nuvem (Figuras 27, 28, 29). As induções permaneceram até o dia 2 de julho de 2006. O enxame da colônia NTM2 não foi embora e se instalou na parte superior da baia (Figuras 25, 27, 28, 29). No dia 3 de julho as colméias foram abertas para serem analisados seus estados e quantidade de cria e alimento. Todos os quadros estavam cheios de cria e alimento e a maioria dos favos tinham derretido com a temperatura alta e o mel havia derramado.

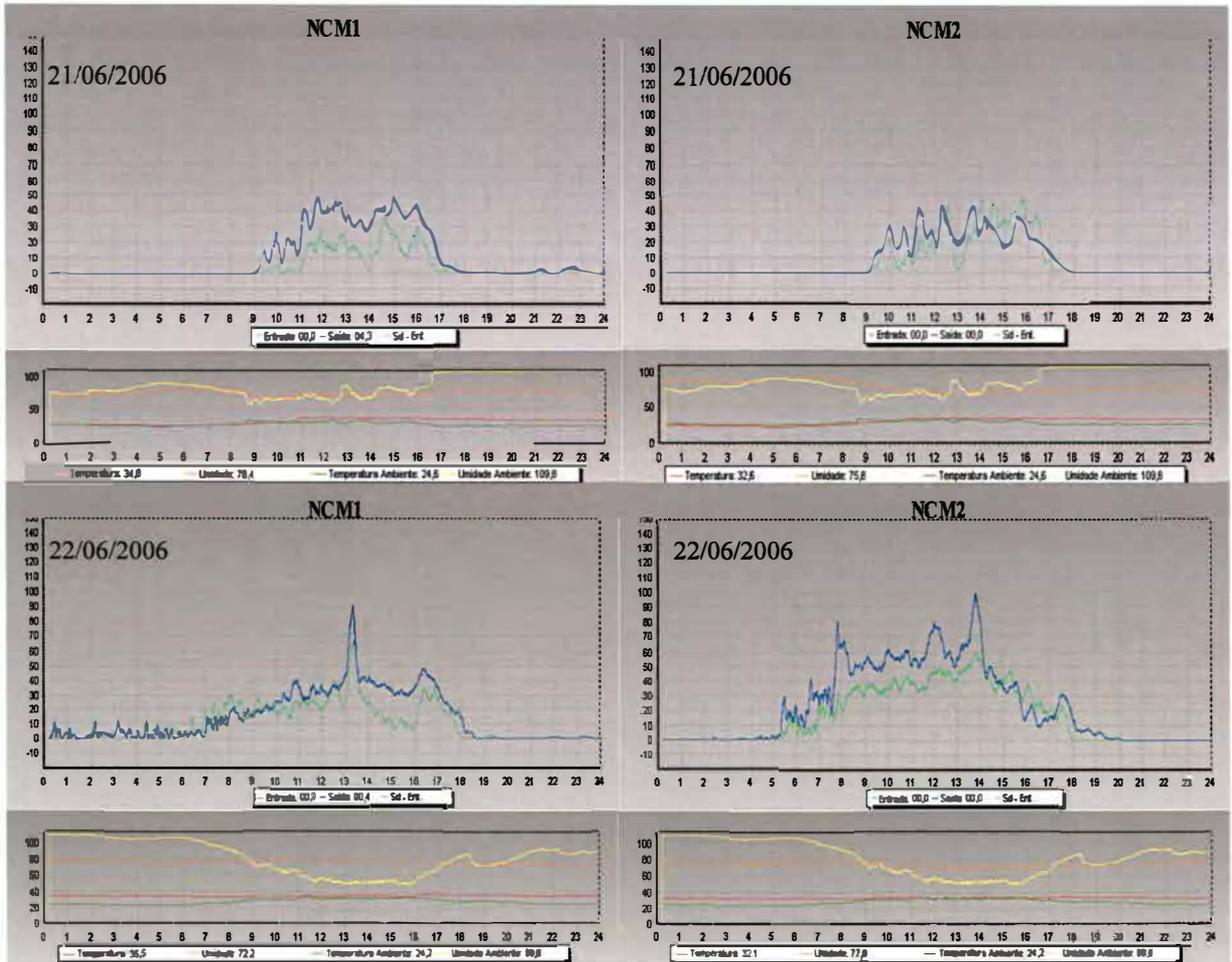


Figura 25: Registros de padrão de atividade de vôo, temperatura e umidade em colônias controle (NCM1 e NCM2) na fazenda experimental da Ufersa/Mossoró-RN nos dias 21 e 22 /06/2006.

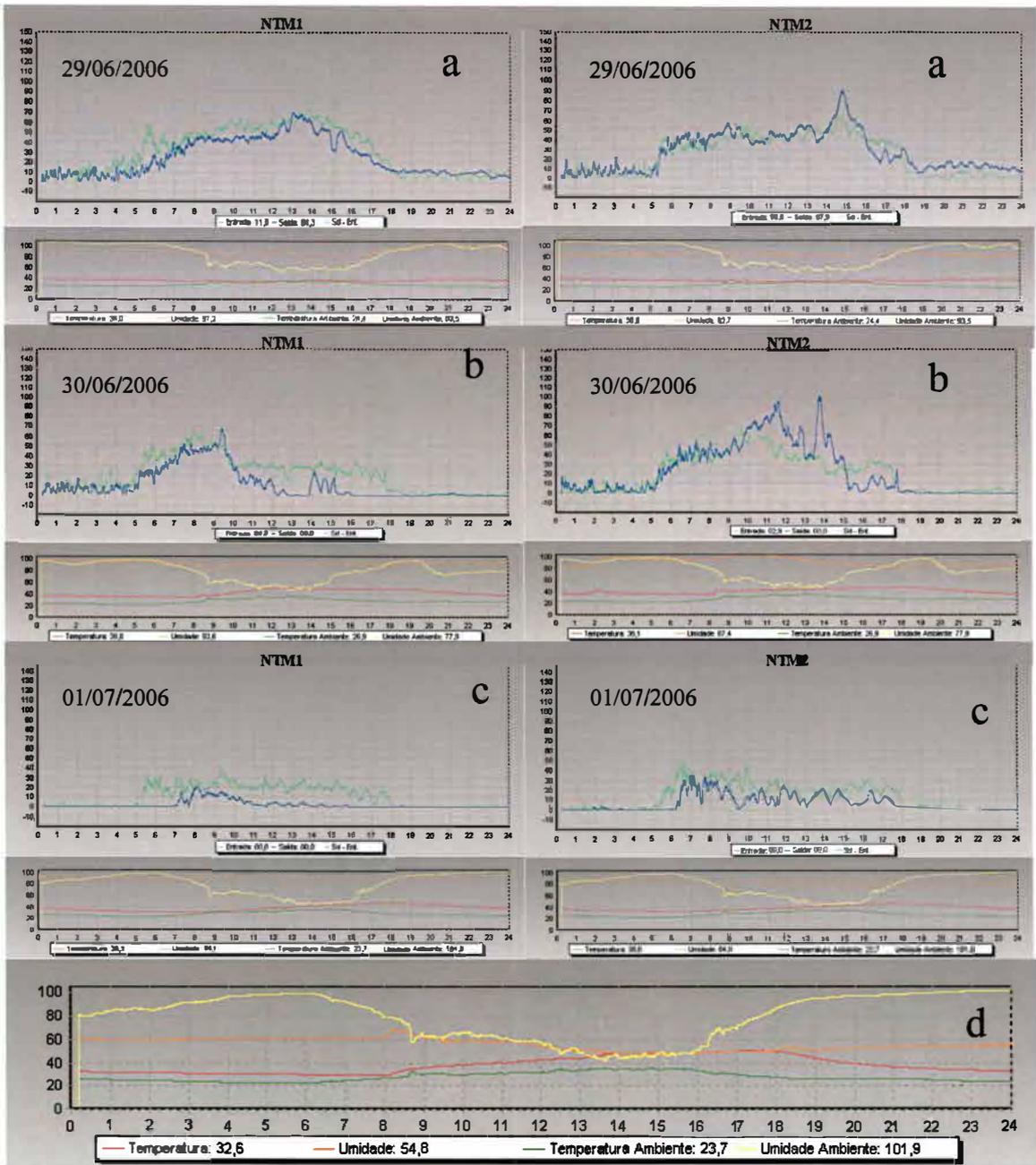


Figura 26: Registros de padrão de atividade de vô em condições normais (a), induzidas - primeiro e segundo dias de indução (b e c) e suas respectivas temperaturas e umidades nas colônias tratamento (NTM1 e NTM2). Dados coletados na fazenda experimental da Ufersa/Mossoró-RN entre os dias 29/06/2006 e 01/07/2006. (d) Temperatura de indução ao longo do dia em vermelho.

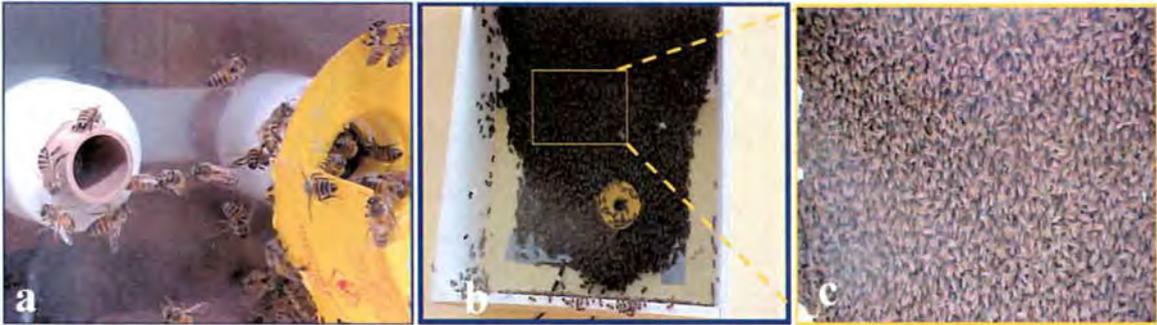


Figura 27: Demonstração da formação do “cluster” antes da enxameação, colônia induzida a enxameação por aumento de temperatura. (a) tubos de saída e entrada e início da formação do “cluster”, (b) e (c) “Cluster” já formado minutos antes da migração. Registros em Mossoró/RN, julho 2006.

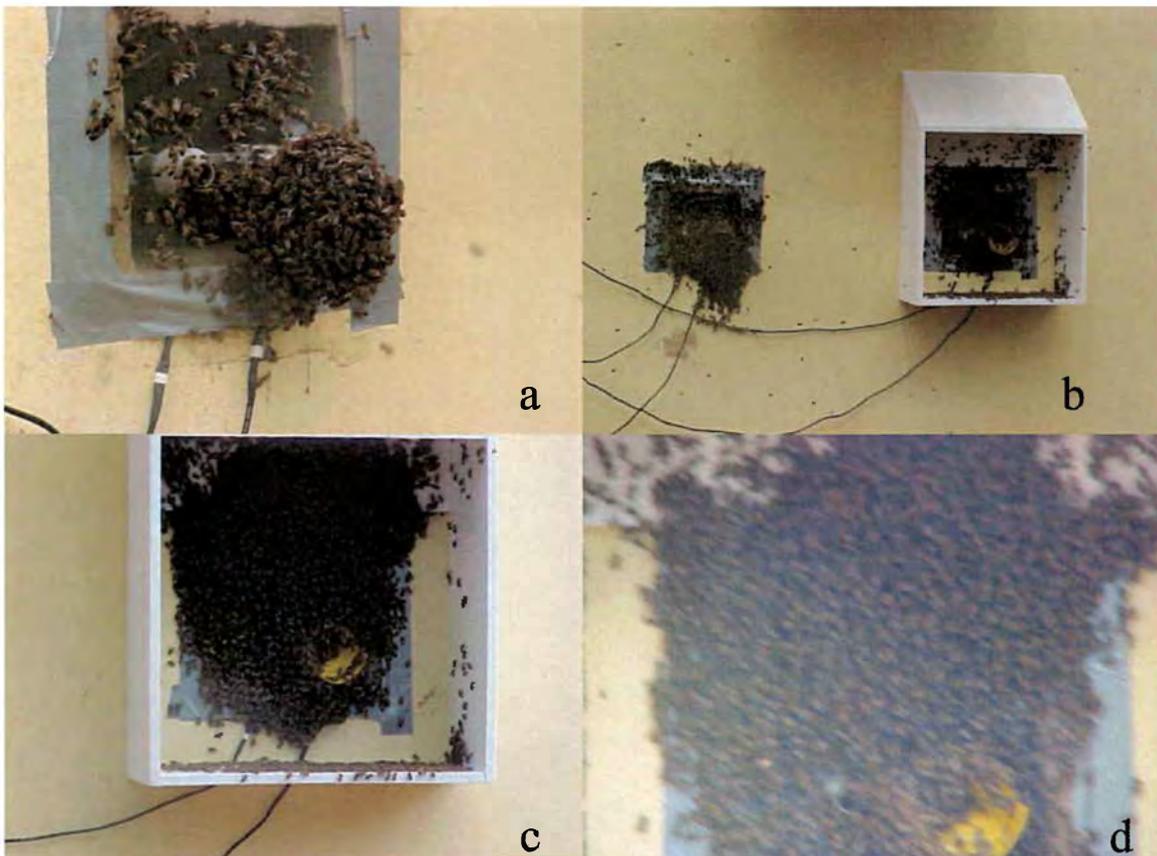


Figura 28: Demonstração da formação do “cluster” antes da enxameação, nas colônias induzidas a enxameação por aumento de temperatura no mês de julho de 2006 em Mossoró/RN, minutos antes da migração, julho 2006. Colônias NTM1(a), NTM2(c e d), visão geral das duas colônias (b).



Figura 29: Demonstração da formação do “cluster” antes da enxameação, nas colônias induzidas a enxameação por aumento de temperatura no mês de julho de 2006 em Mossoró/RN, minutos antes da migração julho 2006.

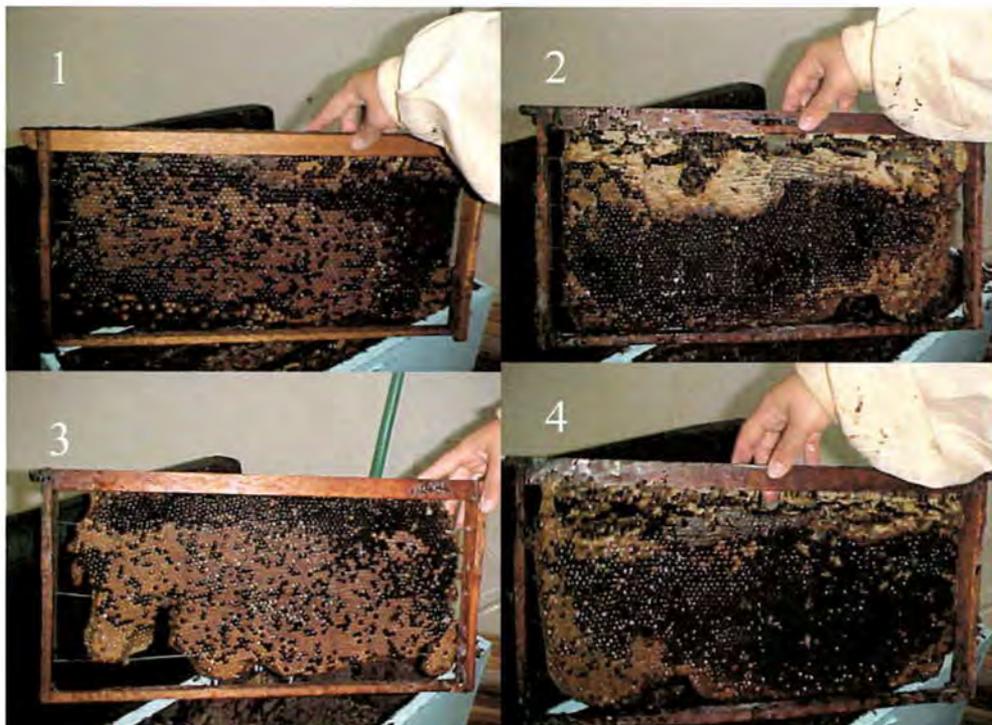


Figura 30: Condições dos favos após a enxameação. 1 e 3 quadros de cria; 2 e 4 quadros de alimento.

3.1.7 – Sétima tentativa de indução da enxameação por temperatura. Coletas realizadas no mês de novembro 2006 em Mossoró/RN.

No mês de novembro a temperatura ambiental estava bem mais alta do que as registradas nos meses de junho e julho na Fazenda Experimental da UFERSA. Na sombra a temperatura ambiental chegava a 36 °C das 11:30 as 14:30h. As populações das colônias estavam bastante reduzidas comparadas com as colônias do mês de julho. As atividades de vôo pela manhã eram baixas (Figura 31) e aumentavam à tarde a partir das 12:00h. Picos de atividade exacerbada foram verificados nos horários de 14:30 e 16:30h (Figura 31) e nestes mesmos horários foram observados muitas abelhas coletando em duas espécies florais ainda não identificadas. Poucas espécies de plantas estavam floridas nesta época. As colônias estavam com escassez de alimento e tivemos que alimentá-las. No dia 20 de novembro as 8:00h foram iniciadas as induções por aumento de temperatura. A temperatura de indução inicial foi 33 °C. As abelhas das colônias tratamento começaram a se aglomerar as 11:30h quando a temperatura dentro do ninho estava a 37,8°C. Às 17:00h deste mesmo dia as colônias pareciam ter desistido de termorregular porque as temperaturas das colônias estavam a 45°C e o “cluster” estava super agitado. A Câmara climática foi desligada as 18:00h e o “cluster” permaneceu do lado de fora.

A colônia NTM3 enxameou no segundo dia (21/11/2006) de indução e parece ter se unido a um outro enxame que se instalou em um galho à frente dos tubos de entrada e saída das colônias que estavam sendo induzidas. Este enxame do galho aumentou consideravelmente de tamanho logo após a enxameação da colônia NTM3. O “cluster” da colônia NTM4 se concentrou na região superior da baía rejeitando os tubos de entrada e saída. Nos tubos de entrada e saída do ninho NTM4, algumas abelhas entram e saem apenas para reconhecimento da situação da colônia ou até mesmo para se alimentar. Entre 14:45h e 15:15h houve um movimento grande de abelhas entrando e saindo tanto nas colônias controle quanto nas colônias tratamentos. Apesar deste comportamento estar sendo ainda estudado, pode-se dizer que se assemelhou a um saque de alimento por outras abelhas, um comportamento muito comum nos apiários desta região nesta época do ano. O enxame da colônia NTM4 foi capturado para Análise de feromônio, inclusive a rainha (Figura 32).

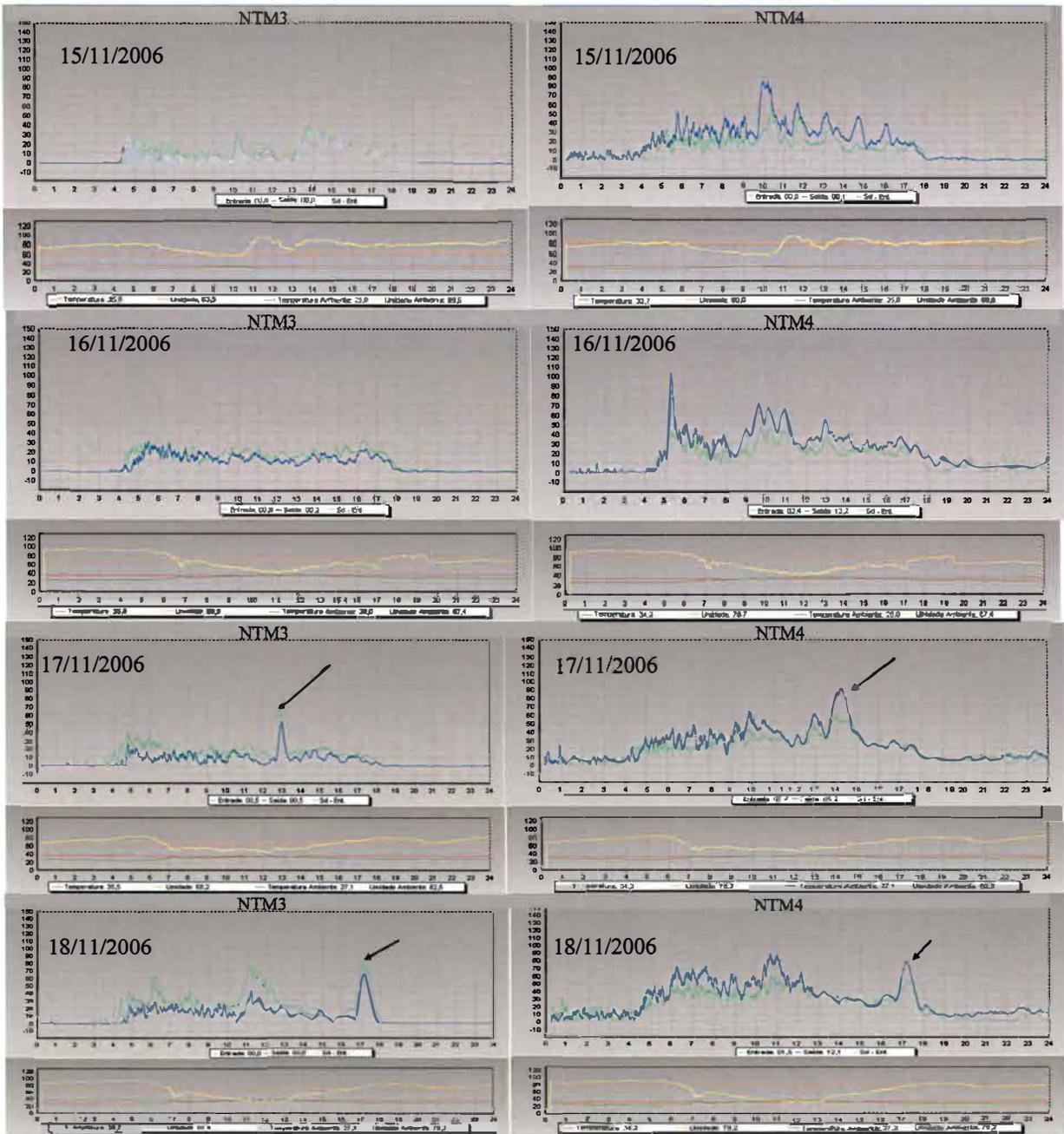


Figura 31: Registros de padrão de atividade de vôo, temperatura e umidade em colônias tratamento (NTM3 e NTM4) na fazenda experimental da Ufersa/ Mossoró-RN entre os dias 15/11/2006 e 18/11/2006. As setas indicam picos de atividade exacerbada.

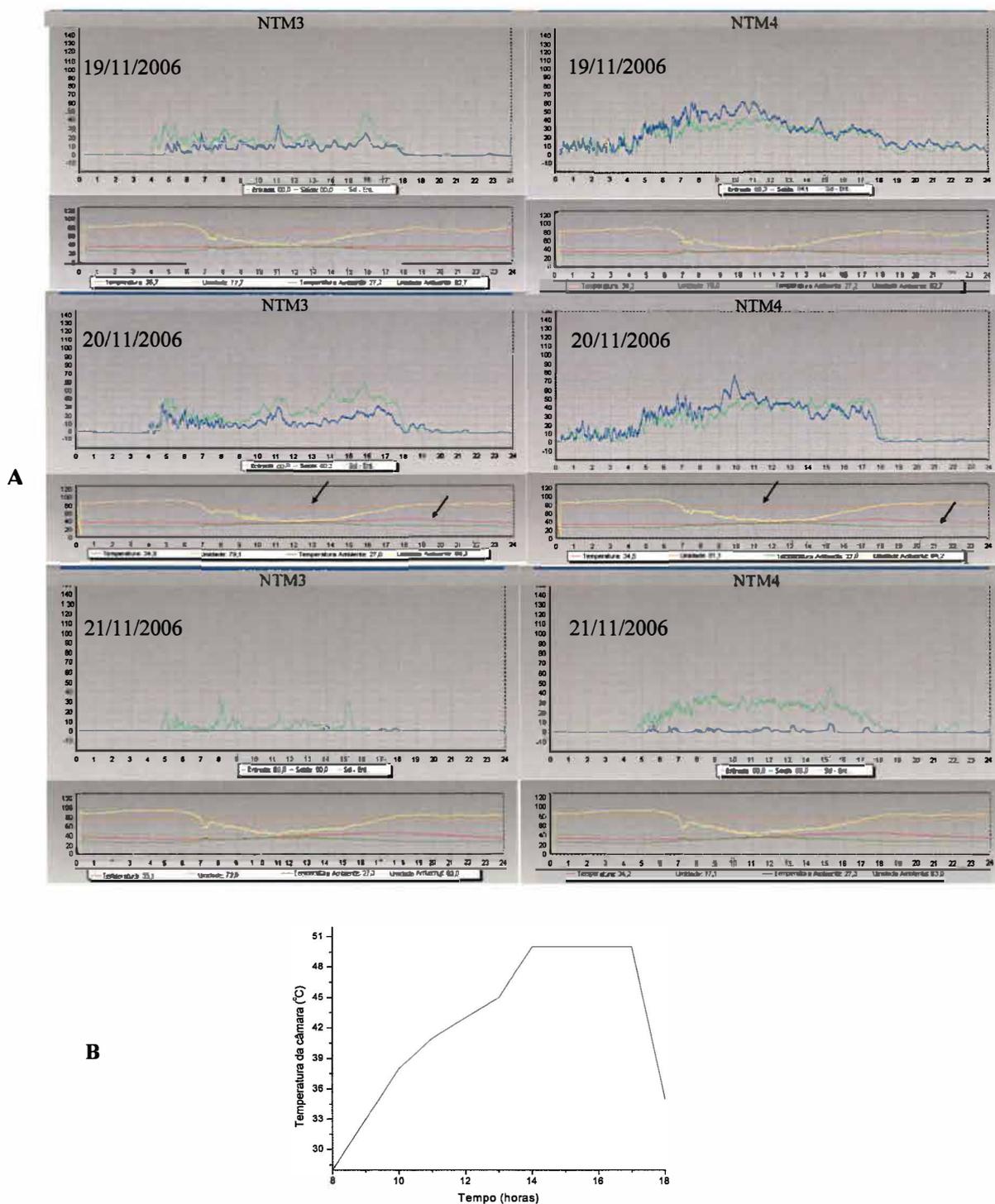


Figura 32: A: Registros de padrão de atividade de vôo, temperatura e umidade em colônias tratamento (NTM3 e NTM4) na fazenda experimental da Ufersa/ Mossoró-RN nos dias 19/11/2006, 21/11/2006. Antes, durante e depois da enxameação. As setas indicam temperatura e umidade de dentro das colônias. B: Ciclo de temperatura de indução ao longo do dia. As setas indicam variação de temperatura e umidade

3.1.8 – Oitava tentativa de indução da enxameação por temperatura. Coleta realizada no mês de novembro 2006 em Mossoró/RN, segunda etapa.

Na Fazenda Experimental da UFERSA, no mês de novembro foram realizadas duas etapas de induções a enxameação, estes resultados que seguem são provenientes da segunda etapa e foi realizada desde o dia 23 de novembro de 2006, com a introdução de colônias novas até dia 29 quando o experimento se encerra. Do dia 23 ao dia 26 foram introduzidas novas colônias na Câmara climática (NTM5 e NTM6) e registradas as atividades em condições normais e suas respectivas temperaturas e umidades. As colônias se apresentavam com a população reduzida da mesma forma que as outras induzidas no mesmo mês. O padrão de atividade de vôo e o tamanho populacional nesta época do ano é bem menor comparado com julho e setembro (Figura 33). No primeiro dia de indução desta etapa a Câmara climática foi ligada às 8:00h com a temperatura de 35°C. O início da formação da barba ocorreu às 11:00h quando a temperatura de indução estava em 41 °C e a temperatura no interior das colônias estava 37,5 °C (NTM5 e NTM6). O número de abelhas saindo aumenta e se distância da entrada às 12:30h, quando a temperatura da Câmara estava a 43 °C e a temperatura no interior das colônias era 39,8 °C. O enxame da colônia NTM5 migrou às 15:00h (temperatura dentro da colméia era 45,2 °C), enquanto que a colônia NTM6 (temperatura interna 44,9 °C) cessou a saída às 16:00h. Após as enxameações as abelhas não termorregularam, apenas entram e saem como se quisessem recuperar algo (Figura 33). Após a enxameação existe pouca atividade porque algumas abelhas do enxame ainda mantêm contato com as colônias mãe (Figura 34), mas esta atividade não se assemelha a uma atividade de vôo em condições normais.

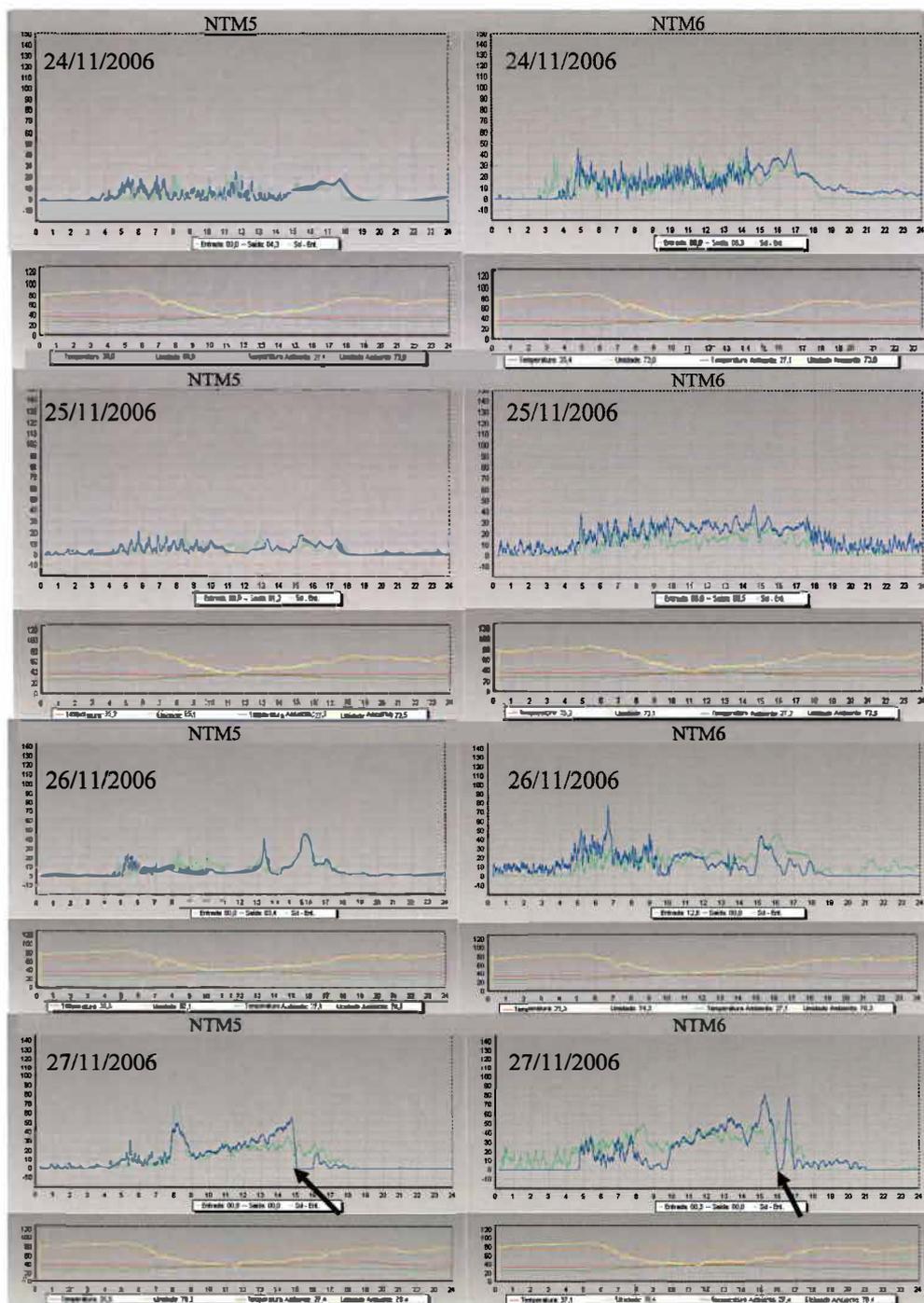


Figura 33: Registros de padrão de atividade de vôo, temperatura e umidade em colônias tratamento (NTM5 e NTM6) na fazenda experimental da Ufersa/Mossoró-RN entre os dias 24/11/2006 e 27/11/2006. As setas indicam o momento exato das formações das nuvens, logo após a saída em massa dos indivíduos das colônias induzidas.

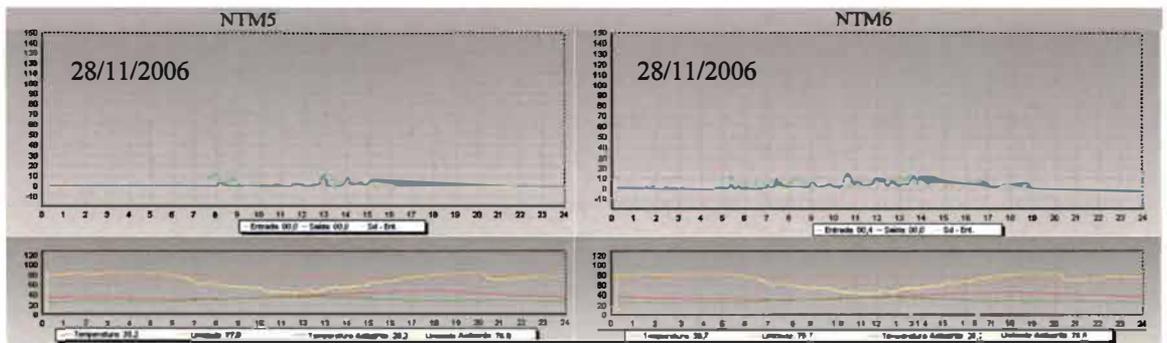


Figura 34: Registros de padrão de atividade de vôo, temperatura e umidade em colônias tratamento (NTM5 e NTM6) na fazenda experimental da Ufersa/ Mossoró-RN nos dias 28/11/2006. Segunda etapa. Após a enxameação

3.1.9 – Nona tentativa de indução da enxameação por temperatura. Coleta realizada no mês de março de 2007 em Ribeirão Preto.

As atividades de entrada e saída das abelhas das colônias tratamento NTR13 e NTR14 estavam em condições normais. Nesta repetição, as asas das rainhas foram cortadas para que pudéssemos localizar e coletar as rainhas após a enxameação para análise de feromônios. As abelhas entravam e saíam em uma atividade constante durante o dia, com início das atividades às 6:15h e término às 18:00h e não apresentavam formação de Cluster na entrada do alvado (Figura 35) nos dias 25, 27, e 28/03/2007. No padrão de atividade de vôo em condições normais das colônias NTR13 e NTR14 foi verificado um pico de atividade exacerbada de abelhas entrando e saindo às 15:00h. Observando os comportamentos anteriores verificou-se também que estes picos vinham aparecendo também por volta do mesmo horário em várias outras colônias, sendo assim um comportamento repetitivo nas abelhas africanizadas tanto de Ribeirão Preto quanto de Mossoró. Neste horário foi observado que algumas abelhas entravam com pólen e outras sem carga visível, mas poderia ser tanto néctar quanto água para manutenção da umidade no interior da colônia. Foi observado também entradas e saídas rápidas de zangões. Provavelmente estes picos sejam também vôos de reconhecimento.

No dia 29 inicia-se as induções por aumento de temperatura (Figura 36), com temperatura inicial de 35 °C. Às 9:26h, quando a temperatura da Câmara era a 38 °C e a temperatura de dentro da colônia NTR13, era de 38,4 °C e da colônia NTR14 era 37,8 iniciou-se o acúmulo de abelhas nas plataformas de pouso e nas saídas. Antes deste acúmulo as abelhas estavam entrando mais do que saindo. Às 10:20h a temperatura dentro das colônias era 39 °C e o Cluster estava aumentando gradativamente. As 10:42h a temperatura de indução ainda continuava 38 °C, sendo que a temperatura do núcleo de fecundação vazio era 37,8 °C. Isto significa que a temperatura no interior das colônias coincide com a temperatura que está sendo induzida. Neste último horário, as abelhas já estavam bem agitadas e seus Clusters continuavam aumentando. As 13:30h os Clusters já estavam com 45 cm de comprimento cada. As 15:00h da tarde as abelhas da colônia NTR14 apresentavam grande atividade de vôo, correndo pelo acrílico e o cluster mais disperso, enquanto que na colônia NTR13 o cluster ainda estava crescendo e o comportamento mais tranqüilo. Neste horário NTR14 não consegue mais termorregular porque a temperatura interna já está a 44 °C e na Câmara 46 °C. As 15:40h, as abelhas estavam bastante stressadas e brigavam umas com as outras e muitas caíam no chão mortas. As 15:45h o enxame retornou após ter formado a nuvem e no retorno tentaram invadir a colônia NTR13, mas não conseguiram. O número de abelhas entrando e

saindo chegou a zerar. As 16:15h a rainha da colônia NTR14 estava no chão com mais 10 operárias em volta e foi capturada para análise de feromônio. A colônia NTR13 não enxameou no mesmo dia (Figura 36).

No dia 30, às 8:00h da manhã os dois Clusters ainda estavam formados do lado de fora dos núcleos de fecundação. O Cluster da colônia NTR14 estava bem reduzido, com apenas 4 cm de comprimento, enquanto que o da NTR13 bem maior (45 cm). Poucas abelhas entravam e saíam da colônia NTR13 e a temperatura de dentro da colônia variava muito rápido com o aumento da temperatura de indução. O enxame da colônia NTR13 formou a nuvem às 16:15h e a rainha voltou e caiu no chão. Neste momento a temperatura da colônia estava 44 °C.

As nuvens de abelhas das duas colônias retornaram porque as rainhas não tinham condições de voar pois as asas foram cortadas, sendo as rainhas coletadas para análise de feromônios. As abelhas que retornaram para os núcleos reduziram e as frequências de entradas e saídas das colônias não cessaram.

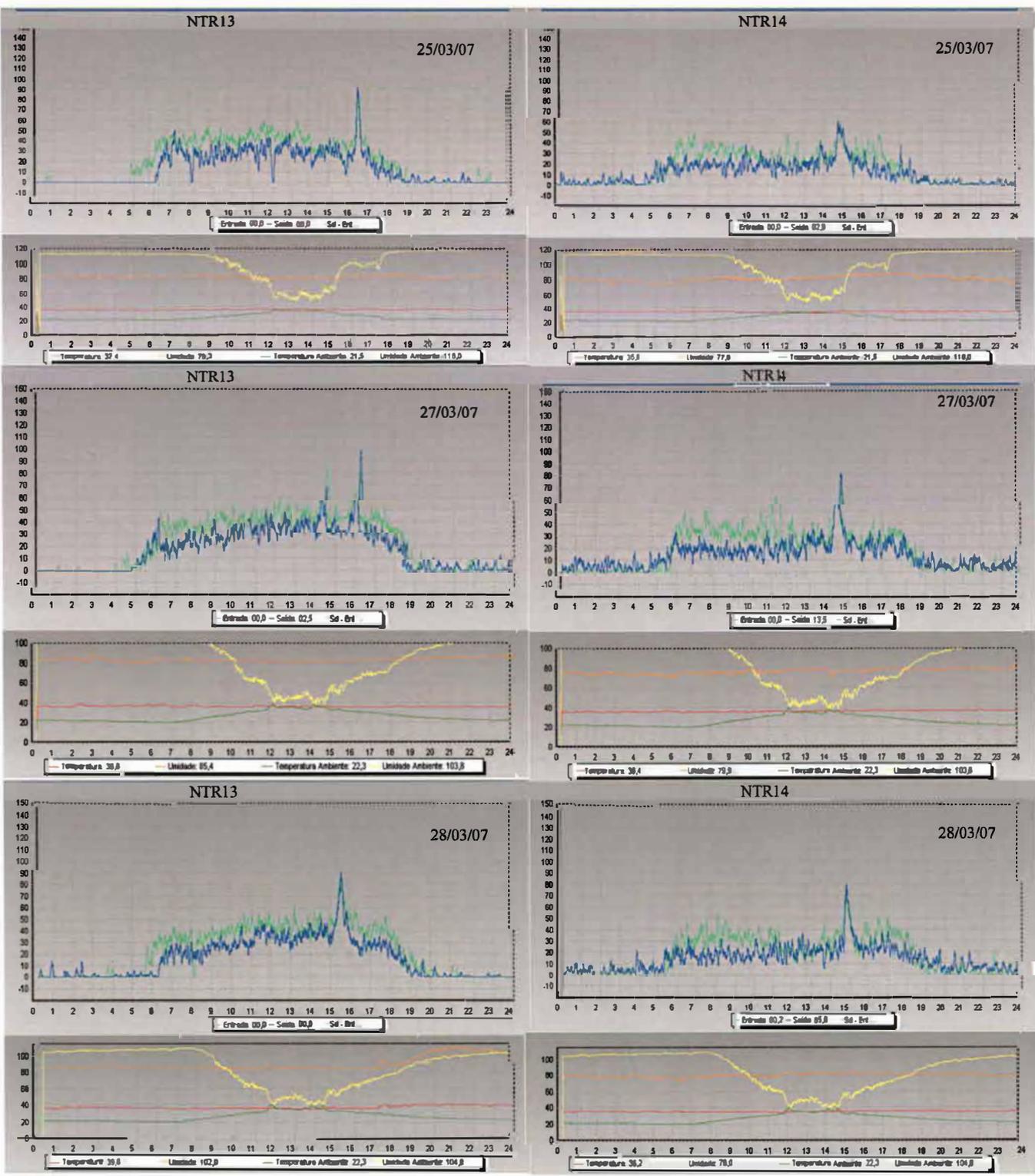


Figura 35: Registros de padrão de atividade de vôo em condições normais (25/03/07), induzidas - primeiro e segundo dias de indução (27 e 28/03/07) e suas respectivas temperaturas e umidades nas colônias tratamento (NTR13 e NTR14). Dados coletados no Campus da USP/Ribeirão Preto no mês de março de 2007.

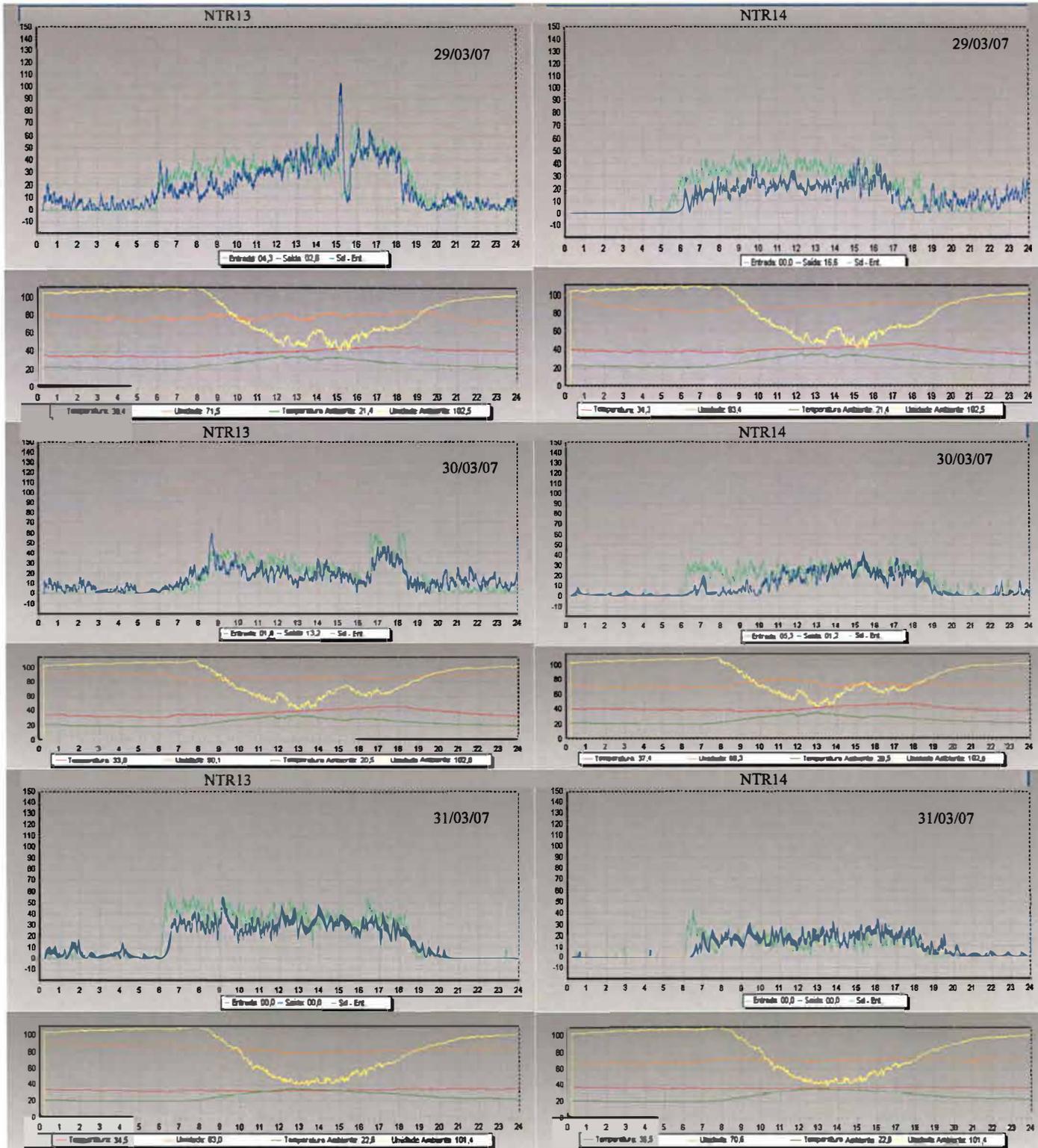


Figura 36: Registros de padrão de atividade de vôo em condições normais (29/03/07), induzidas - primeiro e segundo dias de indução (30 e 31/03/07) e suas respectivas temperaturas e umidades nas colônias tratamento (NTR13 e NTR14). Dados coletados no Campus da USP/ Ribeirão Preto no mês de março de 2007.

3.2- Enxameação natural ocorrida nas colônias controle no Campus da Ufersa.

No mês de novembro de 2006, na Fazenda Experimental da UFRSA foram observados comportamentos enxameatórios de abandono naturais nas colônias do Apiário Experimental. Dois fatores foram reconhecidos e registrados por nossos equipamentos. O primeiro comportamento a ser registrado é em relação ao comportamento de abandono de colônias de abelhas por saque de formigas Saraça (formiga *Camponotus* sp.) e o outro comportamento é em relação ao comportamento de abandono por aumento de temperatura.

A) Comportamento de saque por formigas:

O saque pelas formigas iniciou-se no dia 15 de novembro de 2006 quando alguns quadros de alimento e cria foram introduzidos nas colméias controle para aumento de população e manutenção do equilíbrio interno porque as colônias estavam com escassez de alimento e cria. Após a introdução desses quadros, comportamentos exacerbados de saídas e poucas entradas (chegou a zerar) foram verificados na manhã seguinte e o inverso à tarde nas colônias NCM2 e NCM3 (Figura 37). O padrão de atividade da colônia NCM1 apresentava quadro normalizado até então. Após constatarmos esta anormalidade no dia 16 de novembro as colônias NCM2 e NCM3 foram abertas detectando-se abandono por causa de ataques da formiga Saraça. Essas formigas normalmente só saem durante a noite à procura de alimento. As formigas destruíram as duas colônias. Muitas abelhas estavam mortas dentro da colméia e o resto abandonou a colméia deixando cria e alimento. Após o ocorrido retiramos os restos do local, limpamos e lavamos a colméia, tendo sido detectado que as formigas destruíram a tela de plástico da tampa da colméia que servia para alimentação, local por onde elas entravam na colméia (um orifício superior coberto com tela que utilizávamos para introdução de alimento). As colônias foram substituídas por outras novas, NCM4 e NCM5, no mesmo dia as 17:45h (16/11/2006-Figura 37).

As telas das tampas foram trocadas por telas de aço para que as formigas não invadissem mais as colônias, porém todos os cuidados não adiantaram de nada. As formigas na noite do dia 18 saquearam as colônias controle NCM4 e NCM5, comeram o mel que estava nos favos de alimento e destruíram os favos para retirarem o pólen. Elas furaram as crias também, mas não mexeram nos ovos e larvas. Os sensores acusaram grande atividade noturna, provavelmente devido ao fato das formigas tentarem entrar na colméia e as abelhas tentarem sair. Pela manhã os tubos de entrada e saída estavam entupidos de abelhas mortas

(Figura 37, NCM6 e NCM7). Estas formigas cortam primeiro as asas das abelhas e depois as pernas, impedindo de ir embora. As abelhas que conseguiram sair estavam sem asas e as mortas dentro da colméia estavam sem asas, pernas e até mesmo sem cabeças. Constatamos que muitas formigas ficavam imóveis durante o dia dentro da colméia. A colônia NCM1 não foi saqueada. Em seqüência outras duas famílias de abelhas (19/11/2006) foram introduzidas nas colméias para continuação dos experimentos. Para evitar os saques das formigas foram colocados nos pés dos cavaletes suportando as colméias, recipientes contendo óleo queimado e espumas enroladas nos fios dos sensores embebidos de graxa e só assim as formigas não conseguiram entrar na colméia (Figura 39a). Nesta noite esperamos o retorno das formigas e achamos os seus respectivos ninhos seguindo-as por uma trilha. Elas preferem ocos de árvores apodrecidos e havia vários na redondeza. No dia seguinte (20/11/2006) esses ninhos foram queimados e algumas amostras coletadas para confirmação.

B) Comportamento de abandono por aumento de temperatura:

O comportamento de abandono por aumento de temperatura ambiente apenas foi detectado na colônia NCM1 (Figura 38). O abandono não foi de um dia para o outro. No dia 15/11/2006 foi verificado que a população dessa colônia estava reduzida, assim como todas as outras do apiário, e a rainha estava botando poucos ovos. Esta colônia foi bem alimentada colocando-se quadros de alimento e pasta de soja. O abandono se iniciou aos poucos no início do dia 20, quando foi verificado um aumento de temperatura interna de 35°C para 38 °C, enquanto que a temperatura ambiente estava a 35,5 °C. A partir do dia 20, a temperatura da colônia NCM1 até as 10:00h ficava a 35 °C, a partir desse horário ela aumentava progressivamente até 38 °C e ficava até escurecer. Através dos gráficos da figura 38 pode-se perceber o aumento da temperatura da colônia de acordo com a temperatura do ambiente, desde o dia 19/11/2006. Neste dia a temperatura interna chegou aos 40 °C. As abelhas não estavam conseguindo termorregular. Esta colônia estava com incidência direta do sol a partir das 10:00h. O “cluster” se formou no dia 26 de novembro e a colônia enxameou totalmente no dia 28 de novembro de 2006 (Figura 38 e 39). O cluster ficou três dias do lado de fora esperando a temperatura abaixar, mas isso não ocorreu. A incidência do sol a partir das 10:00h da manhã era continua até escurecer.

Além destes comportamentos, em novembro formação de clusters e enxames temporários foram registrados em abundância tanto nos meses de julho e novembro de 2006 em Mossoró quanto no mês de fevereiro de 2007 em Ribeirão Preto. Esses enxames foram

capturados tendo sido encontrados até quatro rainhas em cada um deles. Os enxames parecem ser provenientes de enxameação por abandono de colônias pequenas por causa da quantidade de abelhas (quatro mil aproximadamente). Todas as quatro rainhas coletadas nos enxames coletados em Ribeirão no mês de fevereiro de 2007 estavam fecundadas. Destas, três foram observadas quanto ao desenvolvimento da espermateca e utilizadas para análise de feromônio e a restante foi introduzida com o enxame em um núcleo de fecundação para indução posterior. Em três dias a rainha estava fazendo postura.

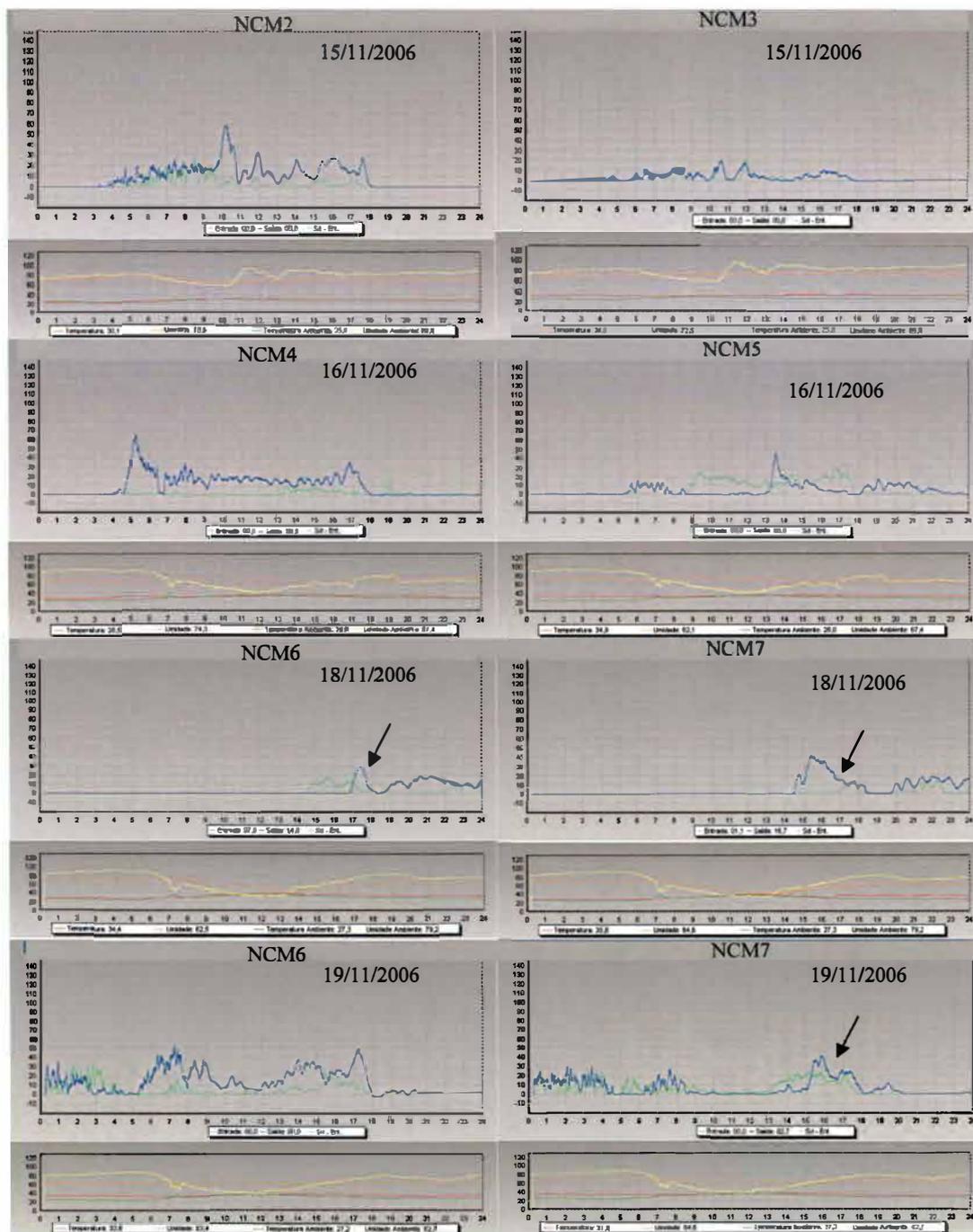


Figura 37: Registros de padrão de atividade de vôo, temperatura e umidade das colônias controle na fazenda experimental da Ufersa/ Mossoró-RN entre os dias 15 e 19 de novembro de 2006. Ataques de Saraça. Efeito do stress generalizado em diferentes colônias. As setas indicam a saída de abelhas devido ataque da Saraça.

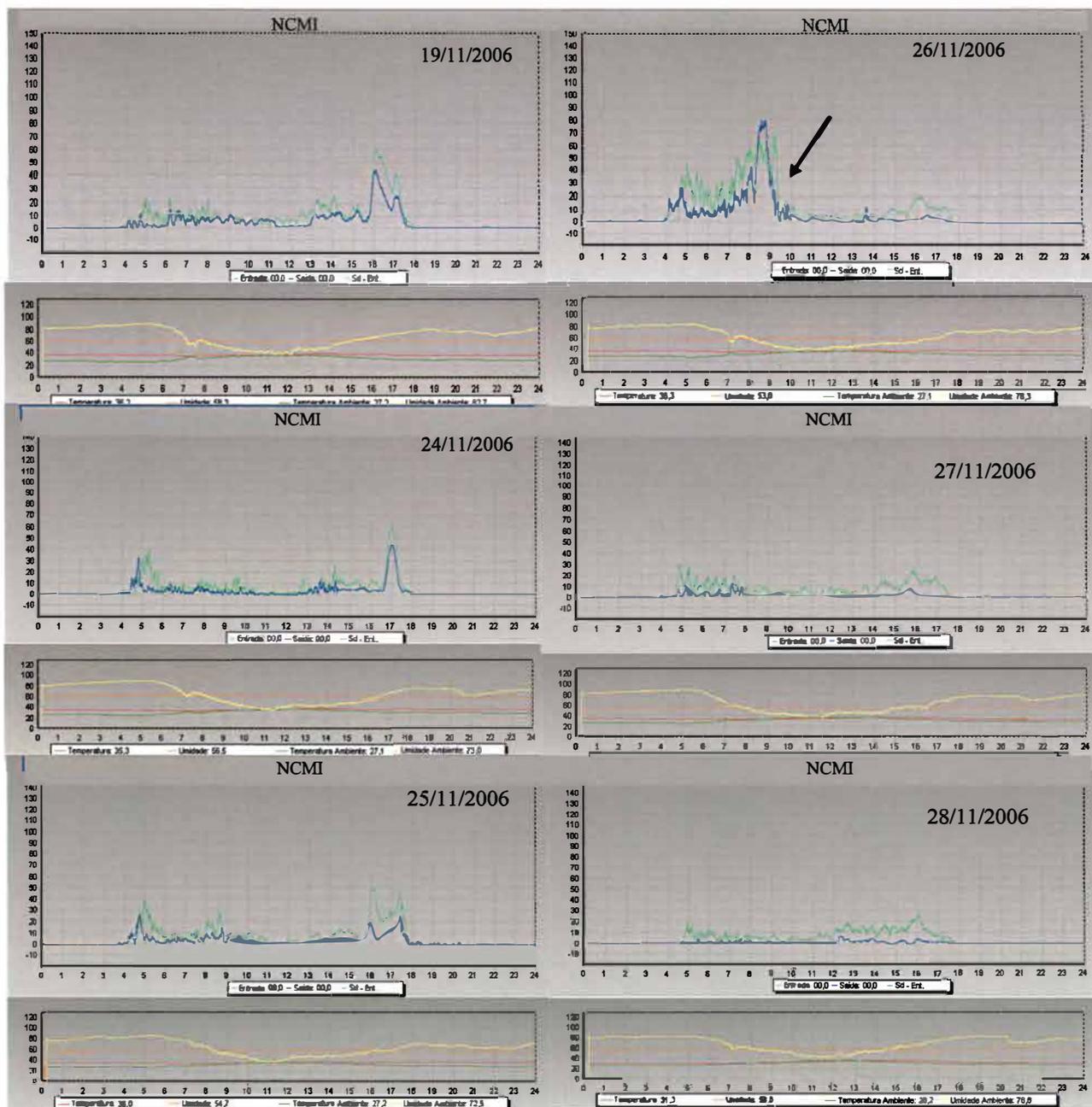


Figura 38: Registros de padrão de atividade de vôo, temperatura e umidade da colônia NCM1 (controle) na fazenda experimental da Ufersa/ Mossoró-RN entre os dias 19 e 28/11/2006. Registros antes durante e após a enxameação natural. A seta indica o momento exato após a saída das abelhas e formação do cluster.



Figura 39: A- Colméia controle com setas brancas indicando recipientes contendo óleo queimado nos pés dos cavaletes e espuma embebida de graxa em torno dos sensores para impedir que as Saraças invadissem o interior da colméia. B- Colônia NCM1 em aproximação demonstrando o Cluster formado após o abandono da colônia por aumento excessivo da temperatura do ambiente ao longo de vários dias. C- Imagem mais aproximada do Cluster já formado, demonstrando a posição das operárias no cluster por enxameação natural. D- Colméia NCM1 sendo vistos os tubos de entrada e saída.

4. DISCUSSÃO

Após os trabalhos pioneiros no Brasil sobre registro automático (Apidômetros) das atividades de vôo de abelhas melíferas (*Apis mellifera* L.) por Gonçalves & Oliveira (1986), Buriolla (1988), Souza (1993) e de abelhas sem ferrão por Bellusci (2003), Almeida (2004), Teixeira (2004) e Hilário (2005), trabalhos esses cujos resultados foram tomados como subsídios para o presente estudo, foram reiniciados por nós os trabalhos sobre monitoramento e registro das atividades diárias das abelhas. Todavia, embora o monitoramento possa trazer muita contribuição sobre a biologia das abelhas, desta vez os estudos visaram principalmente o comportamento enxameatório das abelhas africanizadas e em especial com o intuito de se entender e se possível controlar o comportamento enxameatório de migração ou abandono dessas abelhas que tem trazido grandes prejuízos aos apicultores brasileiros e em especial aos nordestinos que registram perdas de 40 a 50 % por abandono. Nossos dados obtidos refletem uma gama de informações ao longo de 24 horas de registros diários a respeito das colônias controle e tratamento, inclusive em relação ao momento exato da enxameação das abelhas e do comportamento estímulo-resposta.

Os experimentos induzidos e os registros em gráficos ao longo de 24 horas de monitoramento permitem analisar colônias caso a caso e identificar o momento exato da enxameação. Após uma revisão detalhada sobre os estudos com comportamento enxameatório (que são poucos), assim como, os resultados registrados neste presente estudo, podemos verificar que o termo enxameação em abelhas africanizadas, pode ser definido como saída em massa dos indivíduos da colméia; e o comportamento enxameatório está dividido em três tipos: reprodutivo, migratório e por abandono; estando de acordo com os trabalhos de Hepburn & Radlof (1998) em estudos com abelhas africanas.

Sabe-se que a quantidade e muitas vezes a qualidade dos recursos coletados na natureza pelas abelhas do gênero *Apis* interferem na vida normal da colônia, o que facilmente pode ser constatado mediante o registro da atividade de vôo das abelhas com o aumento e diminuição de entradas e saídas, como foi verificado em nosso estudo e já constatado em estudos anteriores (Kefuss & Nye, 1970; Nunes & Saunders, 1999, Woyke, 1992, Biesmeijer & Tóth, 1998; Biesmeijer *et al.*, 1999; Pernal & Currie, 2001).

As atividades de vôo, a umidade relativa e temperatura de dentro das colônias analisadas refletem também as condições da população. Padrões de atividades baixos indicam tamanho populacional menor e padrões altos de atividade normalmente indicaram tamanho populacional maior. Já em relação à umidade e temperatura isso não ocorre, uma vez que, as

abelhas conseguem termorregular e manter (na maioria das vezes) a temperatura interna em torno de 35°C e a umidade relativa em torno de 80%, como observado na maioria dos registros em gráficos que representam as condições normais em nossos estudos com 17 colônias. Populações em condições adversas causam normalmente um distúrbio na temperatura e umidade dentro do ninho. Portanto, qualquer alteração de fatores ambientais ou fatores internos determinam modificação da homeostase. Durante a indução da enxameação por aumento da temperatura podemos perceber claramente a variação de temperatura interna em relação à temperatura induzida. As abelhas tentam termorregular até uma certa temperatura (41-43 °C), sendo que após este limiar elas em geral abandonam a colônia deixando cria e alimento, mesmo que essas duas variáveis estejam em abundância. Esse tipo de reação das abelhas africanizadas é visto com maior frequência no nordeste, sendo que a mesma reação foi também detectada através de nossas induções a enxameação por aumento de temperatura realizadas em Mossoró/RN e Ribeirão Preto-SP, sendo nossos experimentos de enxameação induzida os primeiros exemplos com dados sobre termorregulação por parte das abelhas e que terminam em abandono. Outros estudos sobre abandono se restringem a levantamentos de comportamentos de migração e abandono em colônias do Estado do Ceará (Freitas *et al.*, 2007).

Segundo Mellanby (1931) os insetos são animais pecilotérmicos e, como tal, têm seu metabolismo e atividade influenciados pela temperatura corpórea que, por sua vez, é dependente da temperatura do ambiente sendo que as temperaturas mais altas estimulam o animal. Quanto ao comportamento termorregulatório em abelhas sem ferrão, Camargo (1972) e Kerr *et al.*, (1984) observaram um grande incremento na atividade dessas abelhas quando a temperatura ambiente encontra-se entre 34 e 40 °C.

Temperaturas excessivamente altas para a espécie como a *Apis mellifera* utilizada em nossos experimentos resseca a epiderme e provoca uma agitação generalizada. Nas abelhas, com o aumento da temperatura no interior da colméia, as operárias tentam sair por todos os orifícios que existam na colméia. Os nossos dados de entrada e saída das abelhas também refletem este tipo de comportamento. O excesso de temperatura faz com que as operárias colem bastante água para diminuir a sensação térmica e abaixar a temperatura da colônia e, com isso, a umidade dentro da colônia aumenta consideravelmente. Este comportamento observado reflete uma outra estratégia termorreguladora que é adotada pelas operárias, quando a temperatura ambiente é alta, ou seja, elas espalham a água transportada no papo sobre todas as células da colônia e com a subsequente evaporação há uma diminuição da temperatura interna da colônia (Lindauer, 1955, Esch, 1960; Heinrich, 1974). No nosso caso

de indução da enxameação por aumento constante da temperatura, as abelhas tentavam termorregular até um limite, porém como a temperatura no interior da colméia mesmo assim não abaixava porque estava sendo induzida, as abelhas desistiam de abaixar a temperatura e finalmente enxameavam por abandono.

Isso demonstra a capacidade que as abelhas ou um organismo tem de controlar, manter e normalizar suas condições internas de temperatura, através de uma resposta comportamental ou fisiológica termorreguladora ativa a ação do seu ambiente natural como verificado por May (1979). No caso de nosso experimento, que teve um aumento constante da temperatura, as abelhas africanizadas mesmo tentando termorregular não conseguiram controlar as condições internas da colônia e finalmente reagiram com a resposta comportamental de abandono da colméia, fato este que também ocorre em ambiente natural sob altas temperaturas.

Das nove tentativas de indução nas 17 colônias induzidas à enxameação por aumento de temperatura, apenas duas colônias não abandonaram. Das colônias que enxamearam por abandono, elas formavam os “Clusters”, algumas colônias formaram o enxame em transito no mesmo dia outras esperaram até por três dias consecutivos, e apenas 2 esperaram fora da colméia até cessar a indução e retornaram para a colméia. Estas duas colônias que foram utilizadas na indução por aumento da temperatura em Ribeirão Preto tiveram suas colônias reestabelecidas pouco tempo depois dos estímulos e mantiveram suas populações em grande quantidade. Isso implica que existem colônias resistentes a esses stresses e a rainha tem um papel muito importante neste processo, pela sua descendência.

Todos os resultados de induções demonstram que as abelhas africanizadas enxameiam por abandono com o aumento de temperatura, deixando até mesmo cria e alimento em abundância na colméia, fato que se constata também nas enxameações na natureza com as abelhas africanizadas.

O tipo de comportamento enxameatório induzido por aumento da temperatura descrito até o momento de fato retrata enxameação por abandono e não enxameação reprodutiva, já que a enxameação ocorre sem deixar realeiras, mesmo com grande quantidade de cria e alimento e as operárias abandonam a colônia deixando tudo, como descrito por Lipinski (2001). Este tipo de comportamento também foi registrado na África em abelhas africanas por Hepburn & Radlof (1998). As abelhas africanas também abandonam suas colônias por qualquer distúrbio deixando cria e alimento. Nossos resultados experimentais demonstram que as abelhas africanizadas do Brasil apresentam uma maior semelhança comportamental

com as abelhas africanas originais da África (*A. m. scutellata*) do que com as outras raças de *Apis*.

O tipo de comportamento enxameatório encontrado em nossos experimentos também não pode ser do tipo migratório porque este tipo de enxameação é sazonal, ocorre em épocas de seca e sem flores ao longo do ano (Fletcher, 1978- abelhas *adansoni*; SARH, 1986 - abelhas do México) e também não deixam células de zangão e realeiras (Hepburn & Radlof, 1998-abelhas africanas). O único tipo de enxameação que deixa realeiras é a enxameação reprodutiva, já que a colônia precisa se dividir e deixar uma nova rainha na colônia. A enxameação por abandono não é sazonal e ocorre por qualquer distúrbio ou stress provocado na colônia, seja ela por aumento de temperatura ou não (Lipinski, 2001- *Apis cerana*). Como das 17 colônias induzidas ao longo dos anos, 15 enxamearam por abandono e apenas duas não enxamearam, nossos resultados indicam que o fator que provocou o stress generalizado nas nossas colônias realmente foi o excesso de temperatura incidente nas colméias. Podemos associar um outro fator a esse; a falta de água. Este fator deve estar associado ao das altas temperaturas já que as abelhas coletavam bastante água durante o comportamento de termorregulação, antes do abandono das abelhas de suas colméias.

Quando a temperatura dentro do ninho excede a 35°C, a barba (ou “Cluster”) inicia sua formação do lado de fora da colméia. Em todas as colônias, existiu o sentido de percepção, aglomeração, decisão de grupo e formação de nuvem (nas que enxamearam). A partir de 38 °C, à medida que a temperatura dentro do ninho vai aumentando, o “Cluster” também aumenta e a atividade de saída supera à atividade de entrada, as abelhas tentam reverter à situação, mas quando a temperatura atinge 41°C o sensor indica a enxameação por abandono e as abelhas voam em forma de uma nuvem circular. O círculo de abelhas formado é mantido até ocorrer a chegada da rainha para posteriormente partir em uma única direção. Se as abelhas não encontram a rainha no círculo elas retornam e formam novamente a barba (“Cluster”) na entrada da colméia. No entanto, se a rainha morrer durante a enxameação elas voam órfãs mesmo até o novo local de nidificação.

Temperatura constante é crucial para o crescimento e desenvolvimento normal dos estágios imaturos (Himmer 1927; Degrandi-Hoffman *et al.*, 1993). Durante o verão, quando a temperatura do ninho excede o limite máximo, operárias coletam água e espirram sobre a cria; a ventilação causa sua evaporação e resulta em um resfriamento ativo (Lindauer, 1955). Água é coletada por abelhas especializadas ou por forrageamento de néctar (Lindauer, 1955; Huhnholz & Seeley, 1997). Alguns autores supõem que a função da umidade é importante no desenvolvimento da cria (Park 1949; Lindauer, 1955), existe pouco conhecimento sobre como

este parâmetro é regulado pelas abelhas (Ribbands 1953, Budel, 1960, Simpson 1961, Johansson & Johansson 1979; Willmer 1986). As primeiras medidas de umidade foram realizadas em colméias vazias com metade dos quadros e número de abelhas, por causa dos monitoramentos com hidrotermografos (Oetel 1949). Os resultados encontrados inferiram que a umidade relativa é dependente da temperatura e que as abelhas não regulam ativamente. Já Human, et al., 2006, estudando a regulação da umidade em ninhos de *Apis mellifera* com aparelhos mais sofisticados e usando tecnologia miniaturizada encontraram que as operárias podem ajustar a umidade a limites sub-ótimos. A umidade é passivamente (através da transpiração dos indivíduos da colméia e capacidade do efeito do néctar) ou ativamente regulada (coleta de água e transpiração). Nossos resultados em relação a umidade suportam com as conclusões relatadas por Human et al., 2006. O fato de que em nossos relatos, as abelhas mantêm a temperatura a 80% em colônias em condições normais e trazem água para resfriar a colônia durante as induções do comportamento enxameatório a altas temperaturas podem explicar esta regulação ativa da umidade já relatada pelos pesquisadores

O enxame formado logo após a enxameação por abandono pode se instalar, inicialmente, bem próximo à colônia originária (aproximadamente 5 a 10m) e manter contato antes do vôo definitivo para o novo sítio de nidificação para verificação de condições de retorno como foi verificado em muitas das induções. O enxame por abandono também pode se juntar a um outro temporário que esteja passando ou já instalado em um galho próximo, como registrado em Mossoró/RN. Estes comportamentos de decisão de grupo estão de acordo com os comportamentos verificados em outras subespécies ou raças (Vissher, 2000; Seeley *et al.*, 2003; Seeley & Tautz, 2001; Britton *et al.*, 2002).

Estas induções por temperatura demonstram o cuidado que as operárias e rainhas têm com a prole em um momento de fuga por quê a rainha só sai da colméia minutos antes da enxameação, como se ela estivesse comandando a partida. Além disso, antes da partida existe um mecanismo de comunicação entre todos integrantes da colônia. As operárias escoteiras retornam do campo e informam possíveis locais de nidificação por meio de danças repetidas vezes e como resposta todas as outras correm em círculo pelo alvado. Quando todas as abelhas ou a maioria aponta na dança para uma mesma direção o local de nidificação ocorre a enxameação ou saída das abelhas da colméia.

Um outro fator enxameatório importante que ocasiona abandono de colônias é o ataque de formigas Saraça encontrado em nossos estudos em Mossoró. Santiago (2006), estudando a cultura da bananeira como fonte alternativa de néctar para a Apicultura em períodos de escassez de alimento, detectou o aparecimento destas formigas também em

muitas colônias de abelhas africanizadas no Ceará durante a escassez de alimento provocando abandono das colméias. O autor identifica esta espécie como *Camponotus* sp., sendo provavelmente a mesma encontrada invadindo nossas colônias. A forma de proteção de nossas colônias com recipientes de óleo queimado na base ou nos pés dos cavaletes parece ter ajudado no controle das formigas, mas a procura e retirada de galhos podres das proximidades do Apiário contendo colônias completas de *Camponotus* sp., também ajudou a combater o abandono. Essas formigas agem principalmente à noite, quando todas as abelhas estão no interior das colônias.

Nossos estudos utilizando monitoramento e induções a enxameação pela ação do aumento da temperatura têm proporcionado dados originais e muito interessantes, sobre as causas da enxameação por abandono; indicando que ao se atingir a temperatura interna de 41 °C as abelhas não mais conseguem termorregular e abandonam as colméias. Nosso estudo permitiu elucidar os apicultores sobre a importância das altas temperaturas na enxameação, principalmente no Nordeste onde ocorre o fenômeno na maior parte do ano. Para se evitar a perda das colônias é necessário sempre acondicioná-las em locais protegidos ou em meia-sombra. É importante salientar também que colocar colméias em locais ventilados vai permitir maior circulação do ar entre as frestas das colméias diminuindo a sensação térmica. Um outro fator importante seria selecionar colméias que mesmo com altas temperaturas formam o “Cluster” do lado de fora das colméias, mas não vão embora e esperam a temperatura abaixar para retornar para o interior das suas colméias; essas estarão adaptadas ao ambiente inóspito. Água próxima dos apiários também facilita a coleta de água pelas operárias permitindo a diminuição da temperatura dentro das colméias, mantendo temperatura e umidade em condições ideais.

DETERMINAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE FEROMÔNIOS DA GLÂNDULA MANDIBULAR DE RAINHAS EM ABELHAS AFRICANIZADAS DO BRASIL PARA ESTUDOS DE COMPORTAMENTO USANDO CROMATOGRAFIA LÍQUIDA.

Resumo

Muitos comportamentos das abelhas sociais são regulados por feromônios. Estes, por sua vez, regulam uma variedade de funções dentro da colônia, incluindo atração das operárias para o enxame e estabilização do enxame. Nosso objetivo foi desenvolver uma metodologia de separação e quantificação dos feromônios 9 ODA e 9 HDA produzidos pela glândula mandibular de rainhas virgens e reprodutivas de abelhas africanizadas usando Cromatografia Líquida para utilização de suas quantidades em análises de comportamentos enxameatórios por abandono. Os dois feromônios foram obtidos pela Phero Tech Inc(Delta, BC, Canadá). A curva padrão das concentrações dos dois feromônios sintéticos usados variaram de 1 to 25 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Os estudos com identificação e quantificação dos feromônios 9ODA e 9HDA demonstraram que a quantidade de 9ODA em abelhas africanizadas é muito baixa em relação às outras raças já estudadas e que a quantidade deste feromônio possa estar contribuindo para as altas taxas de comportamentos enxameatórios assim como o 9HDA em grande quantidade durante a saída em massa dos indivíduos por aumento de temperatura, tendo estes dois feromônios um efeito de agente estabilizante, atrativo e dispersor do Cluster.

Palavras-chave: Feromônios, Comportamento Enxameatório, Abelhas Africanizadas, 9 ODA, 9-HDA, Cromatografia Líquida.

1. INTRODUÇÃO

É devido à necessidade de colaboração entre os indivíduos da colônia, na coleta de alimentos, cuidados com a prole, reprodução, defesa, etc. que os insetos sociais se utilizam dos distintos sistemas de comunicação envolvendo feromônios, os quais controlam quase todas essas atividades (Carvalho *et al.*, 2001).

Há anos várias pesquisas vêm sendo realizadas sobre o comportamento e biologia de abelhas do gênero *Apis*, para explorar sua produção de mel, polinização, expansão dessas abelhas pelo mundo e também para entender seu complexo comportamento social. Estas abelhas vivem em colônias de 10 a 50 mil indivíduos que, cooperativamente, cuidam de sua prole através da divisão de trabalho entre castas biológicas, reprodutivas e não reprodutivas (Crespi & Yanega, 1995). Uma simples rainha é responsável pela reprodução, várias centenas de zangões existem somente para fecundação das rainhas e milhares de fêmeas e milhares de operárias estéreis mantêm a colônia (Winston, 1987). Para regular o complexo de interações sociais, estas abelhas desenvolveram um sistema complexo de comunicações químicas que incluem numerosas glândulas que produzem um complexo de misturas de feromônios. (Slessor *et al.*, 2005).

Tanto as informações químicas (feromônios), como as físicas (táteis, auditivas e visuais) são utilizadas como ferramentas para o controle da homeostase social da colônia, termorregulação e conseqüentemente, manutenção e perpetuação da espécie (Gould & Gould, 1988).

Os feromônios constituem o principal meio de comunicação química dentro do ninho nas espécies de abelhas sociais, sendo estes os responsáveis pela manutenção e pelo funcionamento de uma colônia que, apesar de ser constituída por milhares de indivíduos, opera como uma unidade coesa e eficiente (Free, 1980, Pettis *et al.*, 1995b). O feromônio da rainha ainda é ágil para suprimir o sistema nervoso central de abelhas operárias. O sistema nervoso central governa a expressão de comportamentos inatos (Lipinski, 2006a). A maioria dos feromônios é produzida pela rainha através das glândulas mandibulares. O feromônio é exudado no ar, liberado sobre seu corpo e passado às abelhas nutrizas durante o comportamento de limpeza ou higiênico, quando estas estão sendo alimentadas por trofalaxis (Gould & Gould, 1988).

Este sistema complexo de comunicação reflete dentro da colônia e é utilizado na coleta de alimento ou outras substâncias e até mesmo na eliminação de outras. Através da

atividade de vôo, sabe-se que a quantidade e muitas vezes a qualidade dos recursos alimentares coletados na natureza pelas abelhas do gênero *Apis* interferem na vida normal da colônia, o que facilmente pode ser constatado mediante o registro da atividade de vôo das abelhas com o aumento e diminuição de entradas e saídas, como foi verificado em nosso estudo (capítulo 1) e já constatado em estudos anteriores (Kefuss & Nye, 1970; Nunes & Saunders, 1999, Woyke, 1992, Biesmeijer & Tóth, 1998; Biesmeijer *et al.*, 1999; Pernal & Currie, 2001).

As atividades de vôo, a umidade relativa e temperatura de dentro das colônias analisadas refletem também as condições da população. Padrões de atividades altos ou baixos indicam tamanho populacional maior ou menor, respectivamente. Já em relação à umidade e temperatura, isso não ocorre uma vez que, as abelhas conseguem termorregular e manter (na maioria das vezes) a temperatura interna em torno de 35°C e a umidade relativa em torno de 80%, como observado na maioria dos gráficos que representam as condições normais em nossos estudos (capítulo 1). Quando ocorrem condições adversas à colônia as abelhas apresentam distúrbios na temperatura e na umidade dentro do ninho.

A temperatura definitivamente tem um papel regulador importante. Geralmente as abelhas cessam as saídas para coletas a uma temperatura de 42 °C, na sombra (Kerr *et al.*, 1984). Além disso, foi observado um grande incremento na atividade quando a temperatura ambiente encontra-se entre 34 e 40 °C (Camargo, 1972).

Segundo Seeley (2006) o controle preciso da temperatura do ninho pode ser visto como uma das maiores inovações da biologia das abelhas que se tornou possível pela evolução de sua sociedade. No entanto, as abelhas africanizadas reagem as mudanças de temperatura e conseguem termorregular e manter a temperatura a 35 °C, porém quando esta temperatura chega a 41 °C as abelhas já não conseguem mais termorregular e iniciam o comportamento enxameatório de abandono ou de saída em massa dos indivíduos da colônia, utilizando para isso, vários tipos de comunicações químicas entre os membros da colônia. A rainha tem um papel muito importante neste processo, já que o enxame não vai embora sem a sua presença a não ser que ela tenha morrido, como relatado em nossos estudos, fenômeno que também é identificado pelas operárias devido a ausência de feromônio da rainha.

As decisões de grupo provêm de um extraordinário sistema de investigação sobre como a seleção natural e sua complexidade tem ocorrido e isto tem sido bastante estudado por pesquisadores (Vissher, 2000; Seeley *et al.*, 2003; Seeley & Tautz, 2001; Britton *et al.*, 2002).

A enxameação natural (reprodutiva) e o comportamento enxameatório por abandono, associados à alta capacidade destas abelhas explorarem diferentes nichos e sobreviverem,

permitiram a dispersão das abelhas africanizadas no continente americano, sendo necessárias técnicas de análise de caracterização das populações, bem como o controle desta dispersão no intuito de prevenir e controlar acidentes. Abandono ou “Absconding” é a deserção do ninho, enquanto colônia em resposta a qualquer distúrbio (Hepburn & Radloff; 1998). Estudos sobre a análise feromonal de rainhas que sofreram abandono inexistem na literatura e se tornam importantes na compreensão desse comportamento sendo o presente trabalho, o primeiro relato com resultados experimentais.

A rainha produz feromônios específicos para atrair um aglomerado de operárias. A fonte principal destes feromônios é a glândula mandibular, e o composto principal produzido pelas rainhas é o 9-keto-(E)-2-decenoic acid, chamado de 9-ODA (Barbier & Lederer 1960; Slessor *et al.*, 1988). O principal composto produzido nas glândulas mandibulares das operárias é o 10-hydroxy-(E)-2-decenoic acid, chamado de 10-HDA (Callow *et al.*, 1959). Entretanto, as operárias podem passar a produzir 9-ODA (*Apis mellifera capensis*) durante a reprodução na ausência da rainha (Crewe & Velthius, 1980; Pankiw *et al.*, 1996). As operárias são tratadas então como rainhas e funcionam como tal: atraem um aglomerado de operárias assistentes (Sakagami 1958; Velthius *et al.*, 1990) e impedem mudanças no “bouquet” mandibular de seus nidificantes (Hemmling *et al.*, 1979).

Muitos comportamentos das abelhas sociais são regulados por feromônios. 9-ODA e 9-HDA são os feromônios mais abundantes produzidos pela glândula mandibular da rainha e estão relacionados com o desencadeamento de várias funções dentro da colônia como: inibição para desenvolvimento do ovário e conseqüentemente de rainha, atração das operárias para o enxame, estabilização do agrupamento do enxame, estímulo da operária para forrageamento, dentre outros. As glândulas alteram a quantidade dos componentes de um determinado feromônio em função das atividades desempenhadas e de acordo com a idade do indivíduo (Carvalho *et al.*, 2001).

Alguns pesquisadores (Butler & Fairey, 1964; Butler & Simpson, 1967) concluíram que o 9 HDA, também das glândulas mandibulares de uma rainha, causaram a dispersão do “cluster”, e que embora as abelhas sem rainhas fossem atraídas para uma fonte de 9 ODA, elas raramente se agruparam sobre ele e somente foram induzidas a formar um cluster estável quando o 9HDA estava presente. Parecia então que o 9ODA e o 9HDA juntos eram tão efetivos quanto uma rainha reprodutiva viva, ou quanto a uma cabeça de rainha que havia sido exprimida para liberar os feromônios; assim o 9ODA parece agir como um atrativo e o 9HDA como agente estabilizante.

Nossos estudos com indução à enxameação por aumento de temperatura demonstram que o aumento de temperatura promove à saída em massa dos indivíduos da colônia, deixando inclusive cria e alimento e os registros automáticos em gráficos, ao longo de 24 horas. Os estudos permitiram analisar colônias caso a caso, no momento exato da enxameação; sendo possível inclusive coletar rainhas no momento exato da saída em massa, assim como analisar a sua composição feromonal. Estudos sobre a comunicação química entre as abelhas ainda são pouco exploradas pelos pesquisadores, havendo a necessidade de mais estudos. O objetivo deste trabalho foi padronizar a técnica de análise dos feromônios 9-ODA e 9-HDA com base nos procedimentos de Koshio & Almeida-Muradian (2003) para detecção de 10-HDA em geléia real para, a partir daí determinar e quantificar os feromônios de rainhas de abelhas africanizadas (principalmente de rainhas obtidas de colônias que sofreram enxameações por abandono), utilizando cromatografia líquida de alta eficiência, para possíveis comparações da presença e utilização desses feromônios em comportamentos de abandono em abelhas africanizadas.

2. METODOLOGIA

Material

Para as análises de feromônios 9 ODA e 9HDA foram coletadas rainhas reprodutivas de abelhas africanizadas sendo, rainhas virgens de 1 dia de vida produzidas para este fim e rainhas reprodutivas com mais de 6 meses de vida provenientes de colônias em condições normais, colônias que enxamearam naturalmente por falta de alimento e colônias que enxamearam por indução à enxameação por aumento de temperatura. Todas as rainhas foram introduzidas em Eppendorf em solução de Ringer a 10% e congeladas a -20°C até o momento de serem utilizadas para análise cromatográfica líquida de alta eficiência (CLAE). Foram analisadas 8 rainhas reprodutivas, 5 rainhas virgens, 3 rainhas reprodutivas que enxamearam naturalmente por falta de alimento e 3 rainhas reprodutivas que enxamearam por indução do aumento da temperatura.

As rainhas das colônias induzidas à enxameação por aumento da temperatura foram coletadas após o término das induções tão logo ocorria o abandono pelas operárias nos experimentos específicos realizados em Ribeirão Preto-SP e em Mossoró-RN. Enquanto que as rainhas que enxamearam por falta de alimento foram coletadas de 3 enxames pequenos que se uniram. Estas rainhas estavam marcadas, foram encontradas em um galho no centro do Apiário e eram provenientes de colônias presentes no apiário experimental do Departamento de Genética (Bloco A). As rainhas estavam intactas. Os feromônios sintéticos usados para controle de 9 ODA e 9 HDA foram comprados nos EUA (Phero Tech Inc.- Delta, BC, Canadá.) e utilizados para determinação de curvas padrões destes feromônios e tempo de retenção dos mesmos.

Método de Determinação de 9 ODA e 9 HDA

Foi utilizado o método analítico por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), de fase reversa com eluição isocrática, baseado nos procedimentos de Koshio & Almeida-Muradian (2003), modificando-se o tempo de retenção para 20 minutos. Utilizou-se um aparelho de análise cromatográfica (cromatógrafo líquido de alta eficiência) Shimadzu modelo LC-9A em sistema isocrático composto por bomba, controlador de sistema e auto-injetor Shimadzu colocado a nossa disposição no laboratório de Cromatografia Líquida do

Departamento de Química da Faculdade de Filosofia Ciências e Letras da USP de Ribeirão Preto. A curva padrão das concentrações usadas variou de 1 a 25 $\mu\text{g mL}^{-1}$. As condições cromatográficas utilizadas foram: coluna RP 18 (250-4mm, 5 μm) Merck- select B, fase móvel com metanol e água em taxas de (50:50, v/v) acidificados em pH=2.5 com ácido fosfórico, $\lambda= 230 \text{ nm}$ (detector UV-Vis), 0.7 ml /min de sistema isocrático e fluxo usando α -naftol como padrão interno.

Para preparação dos padrões e das amostras, foi utilizado uma solução de padrão interno de α -naftol. Para a curva padrão de cada feromônio (9-ODA e 9-HDA) foram utilizados feromônios sintéticos obtidos da Phero Tech Inc(Delta, BC, Canadá) pesados e dissolvidos com a fase móvel para 25 mL (168 $\mu\text{g/mL}$).

Para o preparo das amostras, 30 mg de cada amostra foram pesados em balão volumétrico de 10 mL, adicionados cerca de 5 mL de fase móvel, ultrassonicados até completa dissolução da amostra (10 a 30 min), adicionados 1 mL de α -naftol, completados ao volume com a fase móvel e filtrados por filtro Millex 0,45 μm . Uma alíquota de 5 μL de cada solução foi injetada no cromatógrafo (Figura 1).

As análises estatísticas realizadas foram de regressão e de variância dos dados obtidos por meio do software Microsoft Excel 2000.

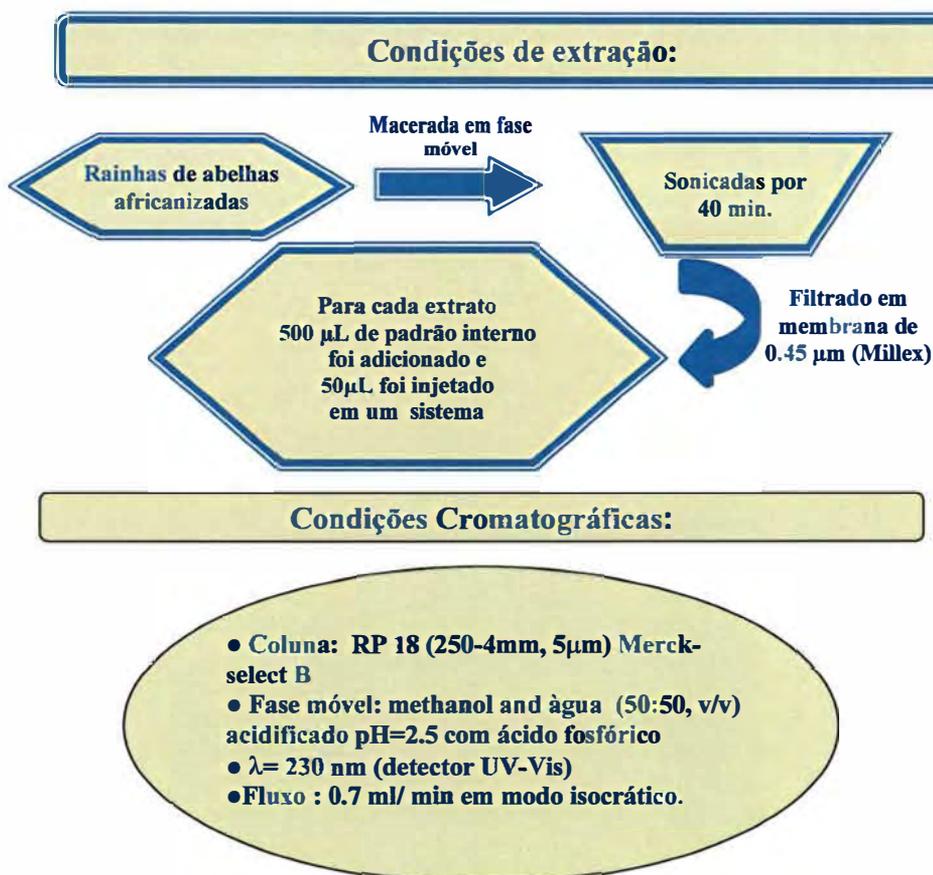


Figura 1: Seqüência de procedimentos de condições de extração e cromatográficas para determinação e quantificação dos feromônios de rainhas de abelhas Africanizadas.

3. RESULTADOS

Logo após a injeção dos feromônios sintéticos 9ODA e 9 HDA no cromatógrafo, curvas foram formadas e as substâncias foram identificadas separadamente. Posteriormente, estes picos foram analisados em relação à área padrão e a área do padrão interno ao longo de várias concentrações (1 a 25 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de 9-ODA e 9-HDA sintéticos). As curvas analíticas traçadas pela área do padrão interno em relação às concentrações utilizadas apresentaram fatores de regressão linear maiores que 0,98 (Figura 38), assim permitindo a aplicação posterior destas equações para cálculo de concentrações nas amostras reais. Estes resultados indicaram que a metodologia empregada está ajustada para a determinação e quantificação dos feromônios 9-ODA e 9-HDA em abelhas africanizadas e que esta metodologia pode ser aplicada a estudos de comportamentos enxameatórios em abelhas africanizadas. As equações presentes nos gráficos de regressão foram utilizadas para o cálculo das concentrações das amostras analisadas (Tabela 1). Quanto às amostras das rainhas, o tempo de retenção de 9ODA acontece aos 11 min., 9HDA aos 13 min. e padrão interno 20 min. (Figuras 39, 40, 41 e 42).

Em termos de quantificação dos feromônios 9ODA e 9HDA, as amostras analisadas (Tabela 2) demonstraram que as rainhas reprodutivas em condições normais apresentaram maior quantidade de 9 ODA (em média 10,63 $\mu\text{g /abelha}$) em relação a todas as outras, tanto nas rainhas virgens (1 dia de vida, 6,56 $\mu\text{g /abelha}$) quanto nas reprodutivas que enxamearam por falta de alimento (mais de 6 meses de vida, 2,60 $\mu\text{g /abelha}$). A quantidade de 9 ODA na rainha reprodutiva enxameou por aumento de temperatura (GMRR1, 11,123 $\mu\text{g /abelha}$) é maior que a média das rainhas reprodutivas que enxamearam em condições normais.

Quanto a quantificação do feromônio 9 HDA presentes nas rainhas analisadas (Tabela 2), este estava maior em relação ao 9ODA das mesmas rainhas, principalmente em rainhas reprodutivas em condições normais (média= 179,40 $\mu\text{g /abelha}$) e rainhas reprodutivas em condições de enxameação por falta de alimento (109,95 $\mu\text{g /abelha}$). As rainhas virgens apresentaram baixa quantidade de 9 HDA (média= 2,08 $\mu\text{g /abelha}$), assim como, rainhas que enxamearam por indução do aumento de temperatura, comparadas com as rainhas que enxamearam por falta de alimento (43,65 $\mu\text{g /abelha}$).

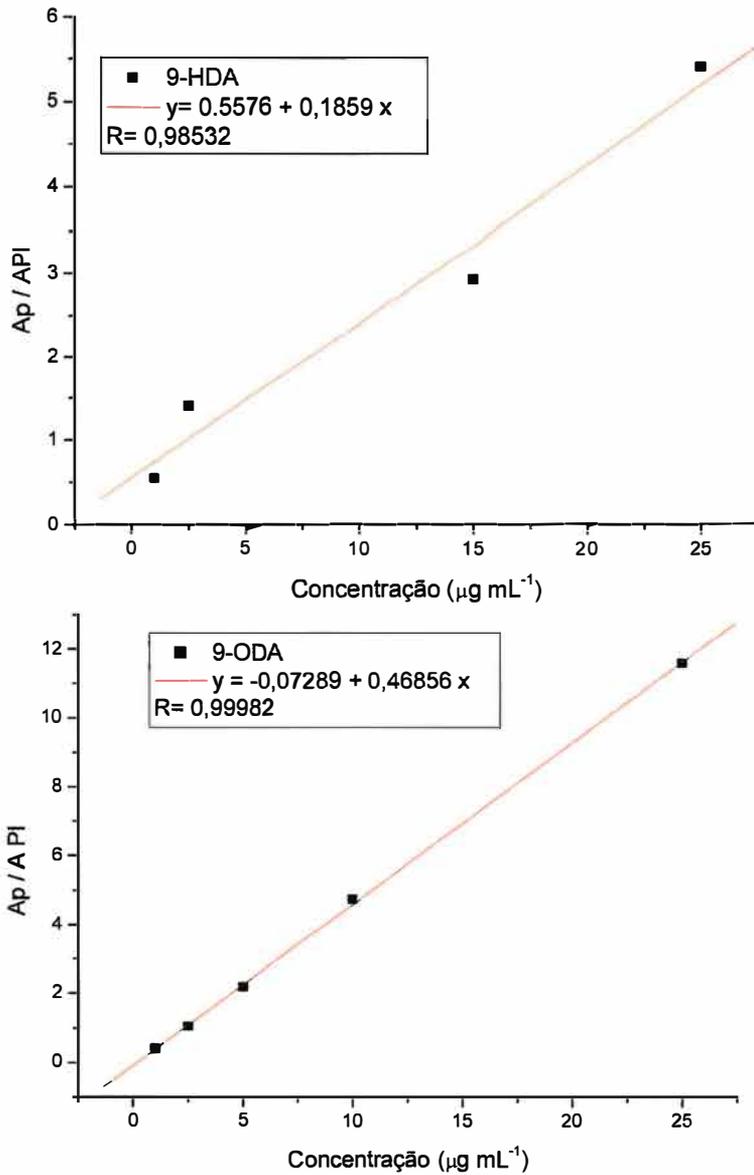


Figura 38: Curvas analíticas traçadas pela área do padrão interno em relação às concentrações de 1 a 25 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de 9-ODA e 9-HDA, validando a técnica de coleta de feromônios.

Tabela 1. Regressões lineares e coeficientes de correlação determinados através das soluções padrão e utilizados na quantificação dos compostos presentes nas abelhas rainhas analisadas.

| Padrão | Regressão Linear | Coefficiente de correlação(r^2) |
|---------------|---------------------------|---|
| 9ODA | $Y = -0,07289 + 0,46856x$ | 0,99982 |
| 9HDA | $Y = 0,5576 + 0,1859x$ | 0,98532 |

Tabela 2. Análise dos componentes da glândula mandibular em abelhas africanizadas. ID: identificação, X+/- SE: Média +/- Erro padrão,

| RAINHAS | QUANTIDADE ($\mu\text{g}/\text{abelha}$) | | | | |
|---|--|--------------|-------------|--------------------------|--------------------------|
| | ID | 9 ODA | 9HDA | X+/- SE 9 ODA | X+/- SE 9 HDA |
| <u>Rainhas reprodutivas</u> | RW138 | 4,066 | 463,66 | | |
| | RN86 | 1,70 | 332,137 | | |
| | RN6 | 0,45 | 294,482 | | |
| | RR73 | 9,58 | 3,67 | 10,63+/- 18,17 | 179,40+/-173,91 |
| | RR67 | 0,38 | 2,85 | | |
| | RN9 | 12,37 | 184,746 | | |
| | RMV2 | 54,27 | 151,76 | | |
| | RRME4 | 2,22 | 1,896 | | |
| | RV1 | 11,24 | 3,54 | | |
| | RV2 | 5,97 | 1,79 | | |
| <u>Rainhas virgens (1 dia)</u> | RV3 | 6,422 | 0,95 | 6,56+/-2,74 | 2,08+/-0,94 |
| | RV4 | 4,61 | 1,98 | | |
| | RV5 | 4,56 | 2,15 | | |
| | RFE1 | 1,166 | 18,92 | | |
| | <u>Rainhas reprodutivas que enxamearam</u> | RFE2 | 2,931 | 211,915 | 2,60+/-1,30 |
| RFE3 | | 3,719 | 99,027 | | |
| GMRR1 | | 11,123 | 43,665 | | |

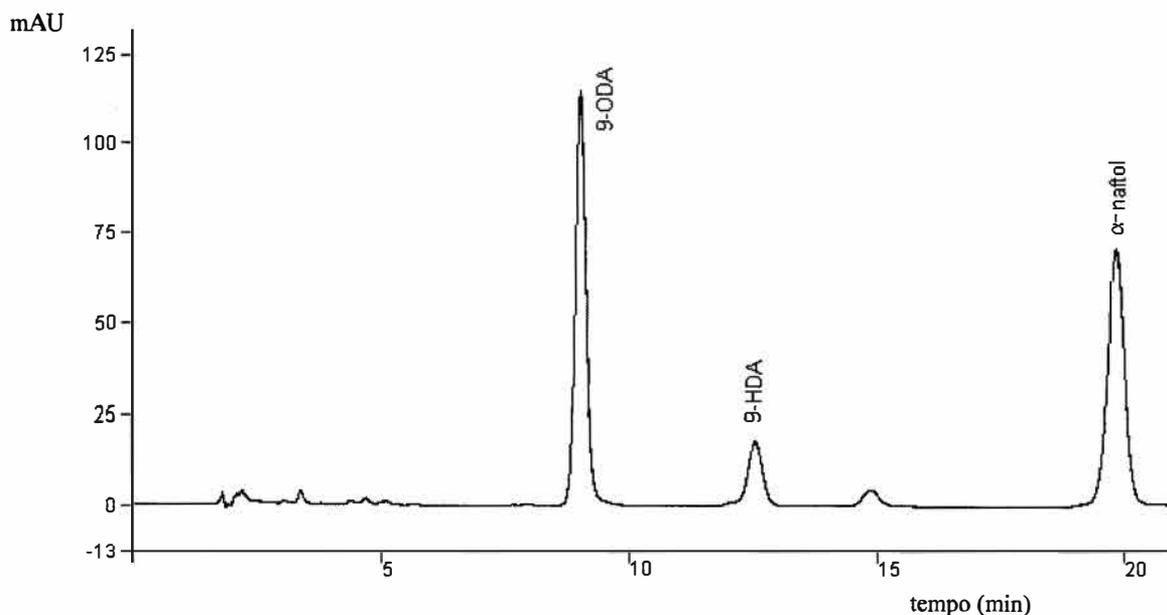


Figura 39. Cromatograma de extrato da glândula mandibular de uma rainha reprodutiva de abelhas africanizada(GMRR1) enxameada por indução do aumento de temperatura, usando como fase móvel solução de metanol e água. Tempo de retenção dos feromônios 9-ODA, 9-HDA e o padrão interno durante as análises de CLAE, demonstrando a presença destes feromônios nas rainhas reprodutivas.

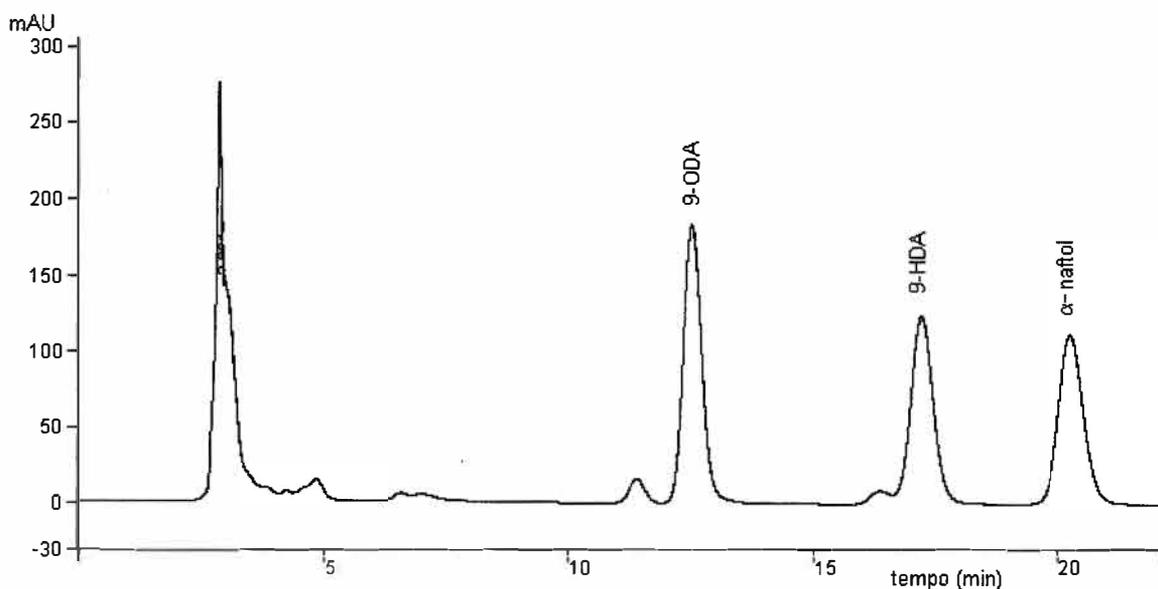


Figura 40. Cromatograma de extrato da glândula mandibular de uma rainha reprodutiva de abelhas africanizadas (RFE1) enxameada naturalmente por falta de alimento, usando como fase móvel solução de metanol e água. Tempo de retenção dos feromônios 9-ODA, 9-HDA e o padrão interno durante as análises de CLAE, demonstrando a presença destes feromônios na rainha reprodutiva que enxameou.

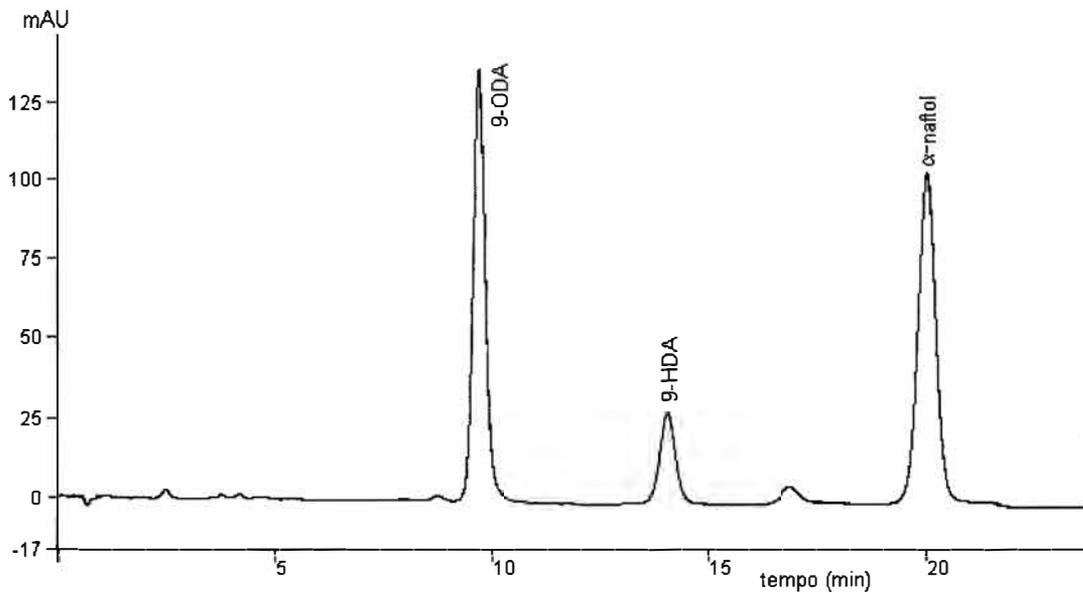


Figura 41. Cromatograma de extrato da glândula mandibular de uma rainha reprodutiva de abelhas africanizadas (RR73), usando como fase móvel solução de metanol e água. Tempo de retenção dos feromônios 9-ODA, 9-HDA e o padrão interno durante as análises de CLAE, demonstrando a presença destes feromônios na rainha reprodutiva.

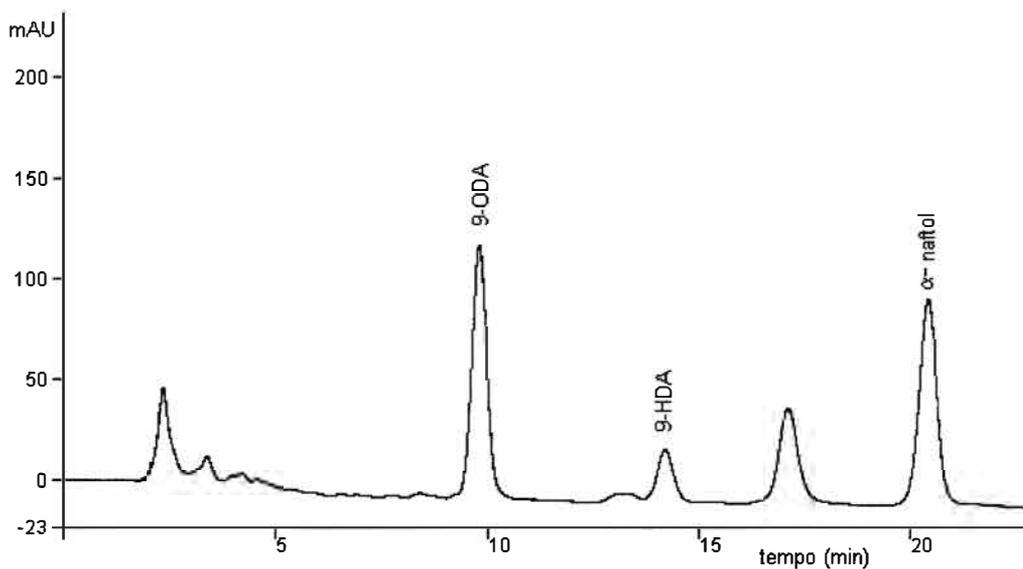


Figura 42. Cromatograma de extrato da glândula mandibular de uma rainha virgem de abelhas africanizadas (RV1) com apenas um dia de vida, usando como fase móvel solução de metanol e água. Tempo de retenção dos feromônios 9-ODA, 9-HDA e o padrão interno durante as análises de CLAE, demonstrando a presença destes feromônios na rainha virgem.

4. - DISCUSSÃO

Os nossos estudos com comportamentos enxameatórios proporcionaram um maior entendimento em relação às induções a enxameação (comportamento de abandono) por aumento da temperatura, assim como no entendimento do papel comportamental da rainha em todo o processo. Em nossos estudos foi observado um papel muito importante da rainha no comportamento de saída em massa dos indivíduos da colônia (Capítulo 1), já que, muitas vezes o “Cluster“ já formado esperava a sua rainha em seu centro para sua saída definitiva, estabilizando assim o agrupamento do enxame. Graças à interação que ocorre entre os indivíduos de uma colônia de abelhas africanizadas, na coleta de alimentos, cuidados com a prole, reprodução, defesa (Carvalho *et al.*, 2001) e até mesmo no comportamento de saída em massa dos indivíduos de uma colônia são encontrados os sistemas mais complexos de comunicação envolvendo feromônios. Os feromônios constituem o principal meio de comunicação química dentro do ninho de espécies de abelhas sociais sendo responsáveis pela manutenção e pelo funcionamento de uma colônia, que, apesar de ser constituída por milhares de indivíduos, opera como uma unidade coesa e eficiente (Free, 1980; Pettis *et al.*, 1995b). Nossos relatos indicam que a rainha tem um papel de dominância e de ajuste do Cluster para sua partida e os feromônios de atração e estabilização parecem estar envolvidos.

Estudos revelam que a maioria dos feromônios é produzida pela rainha através das glândulas mandibulares e a rainha produz feromônios específicos para atrair um aglomerado de operárias. A fonte principal destes feromônios é a glândula mandibular, e o composto principal produzido pela rainha é o 9-keto-(E)-2-decenoic acid, chamado de 9-ODA (Barbier & Lederer 1960; Slessor *et al.*, 1988).

9-ODA (*ácido 9-keto-(E)-2-decenóico*) e o 9-HDA (*ácido 9-hidroxi-(E)-2-decenóico*) são os feromônios mais abundantes produzidos pela glândula mandibular da rainha e estão relacionados com o desencadeamento de várias funções dentro da colônia como: inibição para desenvolvimento do ovário e conseqüentemente produção de rainhas pelas operárias, atração das operárias para o enxame, estabilização do agrupamento do enxame, estímulo da operária para forrageamento, dentre outros. As glândulas alteram a quantidade dos componentes de um determinado feromônio em função das atividades desempenhadas e de acordo com a idade do indivíduo (Carvalho *et al.*, 2001).

Nossos estudos com indução a enxameação por aumento de temperatura demonstraram que o aumento de temperatura promove a enxameação por abandono ou a saída em massa de todos os indivíduos da colônia, abandonando inclusive crias e alimento. Os

registros automáticos em gráficos permitiram claramente analisar colônias caso a caso e identificar o momento exato da enxameação; a metodologia permitiu inclusive coletar rainhas no momento exato da saída em massa das abelhas, assim como analisar a composição feromônica das rainhas que enxamearam.

Para identificação e quantificação dos feromônios 9-ODA e 9-HDA a nossa metodologia foi desenvolvida a partir dos procedimentos utilizados por Koshio & Almeida-Muradian (2003) para detecção de 10-HDA em geléia real, utilizando cromatografia líquida de alta eficiência. A metodologia utilizada em nosso estudo mostrou-se eficaz indicando que a metodologia empregada é correta para determinação e quantificação desses feromônios (9-ODA e 9-HDA). Os tempos de retenção também demonstram a eficácia da metodologia empregada.

Comparando as quantidades de feromônios 9ODA e 9HDA encontrados em nossos estudos em rainhas virgens, rainhas fecundadas e rainhas fecundadas que enxamearam naturalmente e por indução foi possível correlacionar os feromônios com o comportamento enxameatório.

Em abelhas africanizadas, 9ODA (Tabela 2) é encontrado em maior quantidade em rainhas fecundadas do que em rainhas virgens e rainhas reprodutivas que enxamearam. Provavelmente a baixa quantidade deste feromônio na rainha coletada logo após a enxameação seja decorrente do uso deste feromônio no comportamento de aglomeração, coesão e estabilização do enxame durante a saída em massa dos indivíduos da colônia. As rainhas reprodutivas em condições normais apresentaram maior quantidade de 9 ODA (em média 10,63 μg /abelha) em relação a todas as outras, tanto nas rainhas virgens (1 dia de vida, 6,56 μg /abelha) quanto nas reprodutivas que enxamearam por falta de alimento (mais de 6 meses de vida, 2,60 μg /abelha). A quantidade de 9 ODA na rainha reprodutiva que enxameou por aumento de temperatura (GMRR1, 11,123 μg /abelha) é maior que a média das reprodutivas em condições normais. Em outros estudos foram encontrados em rainhas virgens de raças européias uma média de 150 μg (Slessor *et al.*, 1988) e 250 μg (Slessor *et al.*, 1990) de 9ODA. Como vemos, a quantidade baixa do 9ODA nas abelhas africanizadas estudadas em nossos experimentos é muito baixa comparada com os resultados deste feromônio em outras raças e outros estudos. Podemos inferir que a baixa quantidade deste feromônio possa estar tendo uma grande relação com os altos índices enxameatórios ocorridos em Ribeirão Preto e até mesmo em Mossoró. Como o papel da rainha e de seus feromônios é muito importante para coesão e manutenção da colônia, a baixa quantidade de 9 ODA provocaria uma desestabilização e qualquer stress ou distúrbio ocasionado por fatores ambientais

(principalmente temperatura) permitiria a evasão da população ou até mesmo a constante substituição das rainhas na colônia.

De acordo com Winston (2003), as quantidades destes dois feromônios (9ODA e 9HDA) produzidas pela rainha e, conseqüentemente, os efeitos dessas secreções dependem da idade da rainha (fecundada ou não), da hora do dia e da estação do ano. Nos estudos dele, rainhas virgens, com menos de 2 dias de idade, produzem em média só 7 μ g de 9 ODA, enquanto rainhas virgens com 5 a 10 dias de idade produzem 108 a 133 μ g, e rainhas fecundadas em postura com menos de 18 meses de idade, produzem 100 a 200 μ g (Winston, 2003). Rainhas velhas, em postura, mostraram produção reduzida de 9-ODA. Segundo Winston, esta baixa produção pode estar associada à substituição de rainha pelas operárias. Em rainhas em postura o 9-HDA é produzido em quantidades consideravelmente menores que o 9-ODA, aproximadamente 5 μ g por rainha. Uma das funções do 9-ODA e 9-HDA é a inibição do desenvolvimento e criação de rainha, o que previne a reprodução pela enxameação ou substituição da rainha (Winston, 2003). Se compararmos as quantidades de 9ODA, encontradas em nossos estudos com as abelhas africanizadas, com as quantidades relatadas por Winston poderemos verificar que são bastante inferiores. Esta quantidade mais baixa (96,4 μ g) de 9ODA também foi verificada em abelhas africanizadas reprodutivas do México em relação às européias (Pankiw *et al.*,1996). Porém em nossos resultados as quantidades de 9 ODA são bem menores (19,63 μ g).

Nas rainhas de abelhas africanizadas, o 9 HDA (Tabela 2) também foi encontrado em grande quantidade em rainhas reprodutivas que enxamearam e pouca quantidade em rainhas virgens. Esta maior quantidade nas rainhas que enxamearam deve estar relacionada com a grande quantidade utilizada para estabilização e manutenção do enxame para a partida até encontrar um novo sítio de nidificação. O feromônio 9 HDA presente nas rainhas analisadas foi maior em relação ao 9ODA das mesmas rainhas, principalmente em rainhas reprodutivas em condições normais (média= 179,40 μ g /abelha) e rainhas reprodutivas em condições de enxameação por falta de alimento (109,95 μ g /abelha). As rainhas virgens apresentaram baixa quantidade de 9 HDA (média= 2,08 μ g /abelha), assim como, rainhas que enxamearam por indução do aumento de temperatura, comparadas com as rainhas que enxamearam por falta de alimento (43,65 μ g /abelha). Poderíamos inferir que a menor quantidade de 9HDA nas rainhas que enxamearam por indução do aumento de temperatura deve-se ao gasto deste feromônio durante o comportamento enxameatório para estabilização enquanto que as que enxamearam por falta de alimento, o enxame já havia se estabelecido em uma arvore e o feromônio estava mantendo o enxame coeso.

Em estudos com componentes da glândula mandibular com africanizadas do México e Européias as quantidades de 9 HDA (Pankiw *et al.*, 1996) encontradas nas africanizadas reprodutivas foram altas (68,2 µg) em relação às rainhas virgens européias (17 µg). Outros estudos relatam 55 µg (Slessor *et al.*, 1988) e 150 µg de 9 HDA (Slessor *et al.*, 1990). Em nossos estudos as quantidades de 9 HDA são altas comparadas com outros estudos e isso deve estar relacionado aos altos índices enxameatórios encontrados nas abelhas africanizadas em Ribeirão Preto e Mossoró porque este feromônio é um agente estabilizante de enxames voadores e causam dispersão do Cluster.

Alguns pesquisadores, em estudos com feromônios 9 HDA e 9ODA (Butler & Fairey, 1964; Butler & Simpson, 1967), relataram que o 9 HDA, também das glândulas mandibulares de uma rainha, causaram a dispersão do Cluster, e que embora as abelhas sem rainhas fossem atraídas para uma fonte de 9 ODA, elas raramente se agruparam sobre ele e que somente foram induzidas a formar um cluster estável quando o 9HDA estava presente. Parecia que o 9ODA e o 9HDA juntos eram tão efetivos quanto uma rainha reprodutiva viva, ou quanto a uma cabeça de rainha que havia sido exprimida para liberar os feromônios; assim o 9ODA parece agir como um atrativo e o 9HDA como agente estabilizante.

Em contraste, Morse & Boch (1971) e Boch *et al.*, (1975) concluíram que os enxames sem rainhas são menos atraídos para o 9ODA, ou 9ODA mais 9HDA juntos que para os extratos das cabeças das rainhas, e que a adição de 9HDA ao 9ODA falharam para aumentar sua atratividade ou a sua habilidade de estabilizar o enxame. Adicionando uma mistura de feromônios Nasonov sintéticos ao 9ODA ou ao 9HDA estes atraíram e estabilizaram os enxames sem rainha.

Segundo Free (1987), talvez, a maior atração inicial do 9ODA reflète sua maior volatilidade; enquanto a maior persistência de 9HDA pode ajudar a prolongar o efeito de aglomeração e explicar porque Bluter & Simpson (1967) supuseram que ele fosse necessário para a estabilização do cluster.

Entretanto componentes produzidos pela rainha, diferentes de 9ODA, que ainda não foram identificados e ainda não foram estudados possam contribuir para inicialização e ou estabilização do cluster. Embora os feromônios da cabeça das rainhas pareçam ser a priori mais importantes do que aqueles de outras partes do corpo da rainha, outros feromônios podem estar envolvidos. Não é inconcebível que a rainha possa secretar componentes em diferentes proporções, ou que as abelhas possam responder a diferentes componentes dos feromônios da rainha quando ela estiver num enxame, sobre uma cria, em um cluster ou em um enxame em transito (Free, 1987).

As comparações entre os nossos resultados e outros resultados com rainhas européias e africanizadas demonstram que existem diferenças nas quantidades e proporções de 9ODA e 9HDA nestas várias raças e conseqüentemente isso se deve às variabilidades genéticas existentes. A baixa quantidade de 9ODA e grande quantidade de 9 HDA nas nossas rainhas africanizadas pode contribuir para explicação dos grandes números de enxameações por abandono e pode refletir numa maior adaptação de nossa raça às atividades enxameatórias existentes principalmente no nordeste do Brasil, já que estes dois feromônios contribuem na coesão e estabilização dos enxames.

Acreditamos que os dois feromônios analisados (9-ODA e 9-HDA) em nosso estudo devam estar relacionados com o comportamento enxameatório, já que verificamos a sua diminuição ou o seu aumento nos dois fatores analisados causadores de saída em massa dos indivíduos (temperatura e falta de alimento), em condições naturais ou artificiais. Em condições normais as rainhas reprodutivas apresentam maior quantidade do que em rainhas virgens ou que enxamearam, identificando a maior necessidade de volatilidade deste feromônio para uma colônia.

A enxameação natural (reprodutiva) e enxameação por abandono, associados à alta capacidade destas abelhas explorarem e sobreviverem em diferentes nichos permitiram a dispersão das abelhas africanizadas, sendo necessárias técnicas de análise de caracterização das populações, bem como o controle desta dispersão no intuito de prevenir e controlar acidentes. Abandono ou “Absconding” é a deserção do ninho parental, enquanto colônia em resposta a qualquer distúrbio (Hepburn & Radloff, 1998). Nossos estudos também indicam que existem poucos estudos na literatura referentes a estes tipos de comportamentos e suas relações com os feromônios. Mais estudos nesta linha poderiam explicar melhor o comportamento enxameatório das abelhas africanizadas e muitos outros comportamentos, inclusive a expansão dessas abelhas pelo mundo.

V. CONCLUSÕES GERAIS

- O sistema de monitoramento com registros automáticos em Câmaras climáticas dotadas de sensores trouxeram uma inovação e novas perspectivas de estudos sobre a biologia, atividade de vôo, termorregulação e comportamento enxameatório em abelhas africanizadas.
- Os resultados dos experimentos de enxameação induzida por aumento de temperatura e registros automáticos ao longo de 24 horas de monitoramento permitiram analisar colônias caso a caso, identificando o momento exato da saída em massa dos indivíduos da colônia, reconhecer o tipo de comportamento enxameatório e em qual limiar de temperatura e umidade internos ocorre o processo enxameatório.
- O monitoramento das abelhas permitiu a detecção dos comportamentos de abandono em condições naturais em Mossoró-RN por competição, assim como por efeito de altas temperaturas em colônias instaladas em núcleos em ambiente natural.
- O mesmo monitoramento também permitiu a identificação e detecção da manutenção da termorregulação interna da colônia, com temperatura de 35°C e umidade relativa a 80% nas colônias em condições normais.
- As abelhas africanizadas reagem às mudanças de temperatura mediante termorregulação porém ao se atingir a temperatura interna de 41 °C não mais conseguem termorregular e iniciam o comportamento enxameatório de abandono.
- Os resultados dos experimentos de indução a enxameação detectaram a capacidade termorreguladora e a reação das abelhas em relação a um ambiente em altas temperaturas (38-43 °C) e a resposta desta reação é a saída em massa dos indivíduos da colônia, deixando cria e alimento.
- O tipo de comportamento enxameatório detectado é o de abandono tendo como distúrbios ou fatores ocasionados, altas temperaturas, falta de água e invasão de formigas.

- As induções por temperatura demonstraram que as operárias têm um cuidado com a rainha e com a prole no momento de fuga sendo que a rainha tem um papel decisivo na decisão de grupo.

- Os estudos com identificação e quantificação dos feromônios 9ODA e 9HDA demonstraram que a quantidade de 9ODA em abelhas africanizadas é muito baixa em relação às outras raças já estudadas e que a quantidade deste feromônio possa estar contribuindo para as altas taxas de comportamentos enxameatórios assim como o 9HDA em grande quantidade durante a saída em massa dos indivíduos por aumento de temperatura. Tendo estes dois feromônios um efeito de agente estabilizante, atrativo e dispersor do Cluster, o que demonstra a importância da rainha na estabilidade da colônia.

- Os resultados das enxameações induzidas por aumento de temperatura nos permitem chamar a atenção dos apicultores nordestinos sobre a importância de serem mantidas as colméias à sombra ou meia sombra, e com disponibilidade de água limpa, uma vez que essas variáveis exercem alta influência no comportamento enxameatório por abandono observado nas abelhas africanizadas.

A atividade de vôo no gênero *Apis* é definida como saída ou entrada dos indivíduos da colônia, com ou sem material e está diretamente relacionada com os fatores bióticos e abióticos, sendo estas abelhas altamente eficientes na regulação dos parâmetros biofísicos de suas colônias. Esta atividade é altamente dependente das condições ambientais, principalmente temperatura. O controle da temperatura interna da colônia é um dos mecanismos que garantem o equilíbrio interno. Este controle é proporcionado pelas contrações da musculatura do vôo, aquecimento corpóreo e absorção do ambiente, gerando calor no interior da colônia. O complexo padrão de organização dentro de uma colônia de *Apis* tem componente genético e está relacionado também com a adaptação ao ambiente externo em prol da sobrevivência e manutenção da colônia. Regulações hormonais (como os feromônios) e comportamentais tanto nas rainhas quanto nas operárias são utilizadas para comunicação entre seus integrantes. A saída em massa dos indivíduos da colônia (enxameação) pode ser monitorada e vários comportamentos podem ser detectados. O sistema de monitoramento com registros automáticos trouxeram uma inovação e novas perspectivas em estudos sobre a biologia, atividade de vôo, termorregulação e comportamento enxameatório em abelhas africanizadas. Experimentos induzidos e registros automáticos ao longo de 24 horas de monitoramento permitiram analisar colônias caso a caso, identificar o momento exato da saída em massa dos indivíduos da colônia, reconhecer o tipo de comportamento enxameatório (abandono), e em qual limiar de temperatura (38-43 °C) e umidade (90%) internos ocorre este tipo de processo enxameatório. O mesmo monitoramento também permitiu a identificação e detecção da manutenção da termorregulação interna da colônia, com temperatura de 35°C e umidade relativa a 80% nas colônias em condições normais. O tipo de comportamento enxameatório detectado é o de abandono tendo como distúrbios ou fatores ocasionados, altas temperaturas, falta de água e invasão de formigas. Os estudos com identificação e quantificação dos feromônios 9ODA e 9HDA demonstraram que a quantidade de 9ODA em abelhas africanizadas é muito baixa em relação às outras raças já estudadas e que a quantidade deste feromônio possa estar contribuindo para as altas taxas de comportamentos enxameatórios assim como o 9HDA em grande quantidade durante a saída em massa dos indivíduos por aumento de temperatura. Tendo estes dois feromônios um efeito de agente estabilizante, atrativo, dispensor do Cluster o que demonstra a importância das rainhas na estabilidade da colônia. As enxameações por abandono das abelhas africanizadas, obtidas na presente tese, mediante indução artificial por aumento de temperatura, simulando ambiente natural do Nordeste brasileiro, nos permitem chamar atenção do apicultor daquela região sobre a necessidade de serem mantidas as colméias à sombra ou meia sombra e com disponibilidade de água limpa, uma vez que essas variáveis exercem alta influência no comportamento enxameatório.

Palavras chaves: Monitoramento, Atividade de vôo, Temperatura, Termorregulação, Comportamentos enxameatórios, Abandono, Feromônios 9ODA e 9HDA.

Flight activity by honey bees is defined as colony individuals leaving or entering the hive, with or without material; it is directly affected by biotic and abiotic factors. The bees are highly efficient at regulating the biophysical parameters in their colonies. Nevertheless, their activities are highly dependent on environmental conditions, especially temperature. Control of internal colony temperature is one of the mechanisms that helps guarantee internal colony equilibrium. When conditions are not sufficiently controlled the colony members may all suddenly leave and abandon the hive (absconding). We used electronic monitoring of flight activity at the entrance to monitor and help understand the components of this behavior. We also monitored internal and external hive temperature and humidity. Some colonies were maintained inside a temperature controlled chamber to determine how external heat can affect absconding behavior. The bees generally maintained the internal temperature at 35 °C and relative humidity at 80% and they abandoned the hives when they could no longer maintain these parameters. We examined this behavior in Ribeirão Preto, in the state of São Paulo, considered to have a subtropical climate, and in Mossoró, Rio Grande do Norte state, a Caatinga region that is often extremely hot and dry. We also quantified the pheromones 9ODA and 9HDA and found that the 9 ODA levels were lower in the Africanized bees than the levels found for other types of honey bees. Possibly these lower levels of this queen pheromone explain the greater tendency of Africanized bees to abscond. The absconding behavior that we induced with high temperatures simulates the conditions found in much of northeast Brazil, where beekeepers annually lose 50 % or more of their colonies due to absconding. We suggest that shading and a nearby water supply will help avoid such extreme conditions and reduce the loss of the colonies.

Keywords: Electronic monitoring, Flight activity, Temperature, Humidity, Absconding behavior, 9ODA and 9HDA pheromones.

VIII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Almeida, G.F. 2004. Estudo de componentes rítmicos detectados na colônia de *Frieseomelitta varia* Hymenoptera: Apidae; Meliponini. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, USP, 96p.

Barbier, M.; Lederer, E. 1960. Structure chimie de la substance royale de la reine d'Abeille (*Apis mellifera* L.). Comptes Rendus de L'Académie Des. Sciences Paris 250: 4467-4469.

Bellusci S. 1998. Caracterização do ritmo de atividade/repouso em livre curso de *Scaptotrigona* aff. *depilis* Moure, 1942 Hymenoptera, Apidae, Meliponinae. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, USP. 65p.

Bellusci S. 2003. Componentes rítmicos na organização da colônia de abelhas sem ferrão, *Frieseomelitta doederleini* e *Frieseomelitta varia* Hymenoptera, Apidae. Tese de Doutorado – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, USP. 105p.

Bellusci S.; Marques M.D. 2001. Circadian activity rhythm of the foragers of a eusocial bee *Scaptotrigona* aff *depilis*, Hymenoptera, Apidae, Meliponinae outside the nest. Biological Rhythm Research., 32: 117-124.

Biesmeijer J. C. & Tóth E. 1998. Individual foraging, activity level and longevity in the stingless bee *Melipona beecheii* in Costa Rica Hymenoptera, Apidae, Meliponinae. Insecta Sociata,45: 427-443.

Biesmeijer J.C.; Born M; Lukács & Sommeijer M. J. 1999. The response of the stingless bee *Melipona beechei* to experimental pollen stress, worker loss and different levels of information input. Journal of Apicultural Research., 38(2):33-41.

Boch, R.; Shearer, D. A. 1966. Isopentil acetate in stings of honeybees of different ages. Journal of Apicultural Research. 5:65-70.

Boch, R.; Shearer, D. A.; Young, J. C. 1975. Honeybee pheromones: field tests of natural and artificial queen substance. Journal of Chemical Ecology, 1, 133-148.

Bourke, R.M. 1988. Taim Hangre: Variation in subsistence food supply in the Papua New Guinea Highlands. PHD Thesis, Canberra, Australian National University.

Boyle-Makonski R.M.D. 1987. The importance of native pollinators in cultivated orchards: Their abundance and activities in relation to weather conditions. Proceedings of the Entomological Society of Ontario, 1180: 125-141.

Brittain, W. H. 1933. Apple pollination studies in the Annapolis Valley, N. S., Canada 1928-1932. Canada Department Agriculture Bulletin. 162:119-125.

Britton, N. F.; Franks, N. R.; Pratt, S. C.; Seeley, T. D. 2002. Deciding on a new home: how do honeybees agree?. The Royal Society. Proceeding of the Royal Society of London B. 269, 1383-1388.

Budel A. 1968. Traité de biologie de l'abeille. 4:1-52.

Buriolla, A. H. 1988. Uso de metodo eletrônico (Apidômetro) na padronização do registro de atividades campeiras das abelhas, sob diferentes condições climáticas, como subsidio a genética do comportamento das abelhas africanizadas. Dissertação de mestrado. Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, USP, 76p.

Butler, C. G.; Fairey, E. M. 1964. Pheromones of the honeybees: biological studies of the mandibular gland secretion of the queen. Journal of Apicultural Research, 3, 65-76.

Butler, C. G.; Simpson, J. 1967. Pheromones of the queen honeybee (*Apis mellifera* L.) which enable her workers to follow her when swarming. Proceedings of the Royal Entomological Society, London, 42: 149-154.

Callow, R. K.; Johnston, N. C. 1960. The chemical constitution and synthesis of queen substances of honeybees (*Apis mellifera*). Bee World, 41: 152-153.

Callow, R. K.; Johnston, N. C.; Simpson, J. 1959. 10-hydroxy- Δ^2 - decenoic acid in the honeybee (*Apis mellifera*). Experientia, 15:421.

Camargo, C.A. 1972. Determinação de castas em *Scaptotrigona postica* Latreille. Revista Brasileira de Biologia, 321: 133-138.

Carvalho, C. A. L.; Bento, J. M. S.; Marchini, L. C. 2001. Feromônios de abelhas. Capt.10. In: Feromônios de insetos: biologia, química e aplicação. Ed.Vilela, E. F., Della Lucia, T. M. C. 2a. Edição. Ribeirão Preto: Holos, 83-92pp.

Chandler, M. T. 1976. The African honeybee *Apis mellifera adansonii* the biological basis f its management. In: Apiculture in Tropical Climates, ed. E. Crane. London, International Bee Research Association. 61-68pp.

Chen Yaochun. 1993. Apiculture in China, Beijing, 304p.

Choe, J. C. 1988. Worker reproduction and social evolution in ants (Hymenoptera, Formicidae). In: Advances in Myrmecology (I. C. Tragh, ed.). Briel, Leiden, 163-187pp.

Coelho, J.R. 1991. Heat transfer and body temperature in honey bee Hymenoptera: Apidae drones and workers. Environmental Entomology, 20: 1627-1635.

Crespi , B. C., Yanega, D. 1995. The definition of Eusociality. Behavior Ecology, 6:109-115.

Crewe, R. M.; Velthius, H. H.W. 1980. False queens: a consequence of mandibular gland signals in worker honeybees. Naturwissenschaften, 67: 467.

Degrani-Hoffman, G., Spivak, M., Martin, I. H. 1993. Role of termorregulation by nestmates on the development time of honeybee (Hymenoptera: Apidae) queens. Annals of the Entomological Society of America. 86:165-172.

Diniz, N. M. 1990. Estudo dos processos de enxameagem e de abandono de colônias de abelhas africanizadas em zonas rurais e urbanas. Dissertação de mestrado, Departamento de Genética, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto- USP,130p.

Dunham, W. E. 1929. The influence of external temperature on the hive temperatures during the Summer. Journal of Economic Entomology 22:798-801.

Ellis, J. D.; Hepburn, R.; Delaplane, K. S.; Neumann, P.; Elzen, P. J. 2003. The effects of adult small hive beetles, *Aethina tumida* (Coleoptera: Nitidulidae), on nests and flight activity of Cape and European honey bees (*Apis mellifera*). Apidologie, 34(4), 399-408.

Engels, W.; Rosenkranz, P.; Adler, A.; Taghizadeh, T.; Lübke, G.; Francke, W. 1997. Mandibular gland volatiles and their ontogenetic patterns in queen honey bees, *Apis mellifera carnica*. Journal of Insect Physiology. 43: 307-313.

Esch, H. 1960. Über die Körpertemperaturen und den Wärmehaushalt von *Apis mellifera*. Z. Vergl. Physiol. 43: 305 –335.

Esch, H. 1976. Body temperature and flight performance of honey bees in a servomechanically controlled wind tunnel. Journal of Comparative Physiology 109:265-277.

Fletcher, D. J. C. 1975. Significance of dorsoventral abdominal vibration among honey bees (*Apis mellifera* L.). Nature, 256:721-723.

Fletcher, D. J. C. 1975/1976. New perspectives in the causes of absconding in the African bee. Part I: S. African Bee 1:47 (1975):11,13-14. Part II: 48 (1976):6-9.

Fletcher, D. J. C. 1978a. The African Bee. *Apis mellifera adansonii*, in Africa. Annals Review Entomology 23: 151-171.

Free J.; Simpson J. 1963. The respiratory metabolism of honeybee colonies at low temperatures. Entomologia Experimentalis et Applicata, 8: 234-238.

Free, J. B. 1980. A organização social das abelhas *Apis*. Edusp: São Paulo, 13, 79p.

Free, J. B. 1987. Pheromones of Social Bees. Bee Research Unit. Cornell University Press. 218p. Chapter two: communication of a queen's presence, 12-31pp.

Freitas, B. M., Sousa, R. M., Bonfim, I. G. A. 2007. Absconding and migratory behaviors of feral Africanized honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies in NE Brazil. Acta Sci. Biological Sci. 29 (4): 381-385.

Gonçalves, L. S. 1974. The Introduction of the African bees *Apis mellifera adansonii* in to Brasil and some comments on their spread in South America. American Bee Journal 11411: 414-419.

Gonçalves, L. S.; Oliveira, L. M. 1978. Controle Eletrônico de Abelhas. Apicultura no Brasil, 3(13):34-37.

Gonçalves, L. S.; Stort, A .C. 1978. Honey bee improvement through behavioral genetics. Annals Review of Entomology. 31:197-213.

Gordon D.M. 1996. The organization of work in social insect colonies. Nature, 380: 121-124.

Gould, J. I.; Gould, C. G. 1988. The Honey Bee. Scientific American. *In*: Chapter 3: Comunication. 47-67pp.

Heinrich, B. 1979. Thermoregulation of African and European honeybees during foraging, attack, and hive exits and returns. Journal of Experimental Biology 80:217-229.

Heinrich, B. 1996. The thermal warriors: strategies of insect survival. Harvard University Press. Cambridge, 211p.

Hellmich II, R. L.; Danka, R. G.; Rinderer, T. E.; Collins, A. M. 1986. Comparison of Africanized and European queen-mating colonies in Venezuela. Apidologie 17(3):217-226.

Hemmling, C.; Koeniger, N.; Ruttner, F. 1979. Quantitative Bestimmung der 9-oxodecenaure im Lebenszyklus der Kapbiene (*Apis mellifera capensis* Escholtz). Apidologie, 10:227-240.

Henrich, B. 1974. Thermoregulation in endothermic insects. Science, 185: 747-756.

Hepburn, H. R.; Radlof, S. E. 1998. Honeybees of Africa. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 366p.

Heran, H. 1968. Traité de biologie de l'abeille. 2:173-179.

Hess, W. R. 1926. Die Temperaturregulierung im Bienenvolk. Z. vergl. Physiol. 4:465-487.

Hilário S.D. 2005. Atividade de vôo e termorregulação de *Plebeia remota* (Holmberg, 1903) (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). Tese de doutorado. USP, São Paulo, 124p.

Himmer, A. 1927. Der soziale Warmehaushalt der Honigbiene, II, Die Wärme der Bienenbrut. Erianger JB. Bienenk. 5:1-32.

Hoover, S. E. R.; Keeling, C. I. Winston, M. L.; Slessor, K. N. 2003. The effect of queen pheromones on worker honeybee ovary development. Naturwissenschaften. 90: 477-480.

Huang, M. H.; Seeley, T. D. 2003. Multiple unloadings by nectar foragers in honey bees: a matter of information improvement or crop fullness?. Insectes Sociaux, 50 (40):330-339.

Human, H., Nicolson, S. W., Dietemann, V. 2006. Do honeybees, *Apis mellifera scutellata*, regulate humidity in their nest? Naturwissenschaften, 93: 397-401.

Jhajj, H. S., Goyal, N. P. 1979. Comparative behavior of pollen foragers of *Apis cerana* and *Apis mellifera*. Journal of Apicultural Research, 18(4): 279-284.

Johansson, T. S. K., Johansson, M. P. 1979. The honey bee colony in winter. Bee World, 60:155-169.

Josephson, R. K. 1981. Temperature and the mechanical performance of insect muscle. *In*: Insect Thermoregulation. B. Heinrich, ed., Wiley, New York. 20-44pp.

Kefuss J. A. & Nye W. P. 1970. The influence of photoperiod on the flight activity of honeybees. Journal of Apicultural Research, 93:133-139.

Kerfoot, W. B. 1966. A photoelectric activity recorder for studies of insect behavior. Journal Kansas Entomological Society 39: 629-633.

Kerr, W. E. 1967. The history of the introduction of Africanized bees to Brazil. South African Bee Journal, 39: 3-5.

Kerr, W. E.; Goncalves, L. S.; Blota, L. F.; Maciel, H. B. 1984. Comparative biology of Italian bees (*Apis mellifera ligustica*), Africanized bees (*Apis mellifera adansonii*), and their hybrids. Mimeograf paper produced at the Cornell University Entomology Department, 32p.

Kerr, W. E.; Zucchi, R.; Nakadaira, J. T.; Butolo, J. E. 1962. Reproduction in the social bees (Himenoptera: Apidae). Journal of the New York Entomological Society, LXX: 265-27.

Kevan, P. G. (Ed.). 1995. The Asiatic Hive Bee Enviroquest, LTD. Cambridge, Canada.

Kigatiira, K. I. 1988. Capt. 6: Amalgamation in Tropical honey bees. 62-72pp. *In: Africanized Honey Bees and Bee Mites*. Edts. Needham, G. R.; Page, R. E.; Delfinado-Baker, M.; Bowman, C. B. Ellis Horwood Limited and Halsted Press a division of John Wiley & Sons. New York-Chichester-Brisbane-Toronto.572p.

Koshio, S.; Almeida-Muradian, L. B. 2003. Aplicação da CLAE para determinação do ácido 10-Hidroxi-2-Decenoico (10-HDA) em geléia real pura e adicionada a mel brasileiro. Química Nova, 26: (5) 670-673.

Kuhnholz, S., Seeley, T. D. 1997. The control of water collection in honey bee colonies. Behaviour Ecology Sociobiology. 41:407-422.

Lensky, Y., Slabezki, Y. 1981. The inhibiting effect of the queen bee, (*Apis mellifera L.*) foot-print pheromone on the construction of swarming queens cups. Journal Insect of Physiology. 27: 313-323.

Lindauer, M. 1951. Die Temperaturregulierung der Bienen di Stockuberhitzung. Naturwissenschaften. 38:308-309.

Lindauer M. 1955. The water economy and temperature regulation of the honeybee colony. Bee World, 364(5): 62-72.

Lipinsk, Z. 2001. Essence and mechanism of nest abandonment by honeybee swarms: swarming, absconding, migration and related phenomena ISBN-83-913517-0-X. 293p.

Lipinski, L. 2006a. The emotical nature of the honey bee. Journal of Apicultural. Science. 50 (1):49-62.

Liu, C.; Leonera, J. J.; Feddes, J. J. 1990. Automated monitoring of flight activity at a beehive using infrared light sensors. Journal of Apicultural Research, 29(1):20-27.

Lobo, J. A., Kriger, H. 1992. Maximum-likelihood estimates of gene frequencies and racial admixture in *Apis mellifera* L. (Africanized honey bees). Heridity, 68: 441-448.

Lundie, A. E. 1925. The flight activities of the honeybees. U. S. Department of Agriculture, Department Bulletin, 1328, 1-37.

Maurizio, A. 1949. Pollenanalytische Untersuchungen na Honig und Pollenhoschen. Beih. Schweiz. Bientz 2:320-455.

May, M.L. 1979. Insect termoregulation. Annu. Review. Entomology, 24: 313-349.

Mellanby, K. 1931. Low temperature and insect activity. Proc. Roy Soc., B, 127: 473-487.

Michener C.D. 1974. The social behavior of the bees. Cambridge, Massachusetts: The Belknap Press of Harvard University Press. 403p.

Morse, R. A.; Gary, N. E. 1963. Further studies of the responses of honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies to queens with extirpated mandibular glands. Annals of the Entomological Society of America, 56: 372-374.

Morse, R. A.; Boch, R. 1971. Pheromone concert in swarming honey bees (Hymenoptera: Apidae). Annals of the Entomological Society of America 64:1414-1417.

Morse, R.A.; T. Hooper eds., 1985. The illustrated encyclopedia of beekeeping. E. P. Dutton, Inc., New York. 432p.

Nascimento Júnior, A. F. 1981. Estudo da influência de fatores ambientais no comportamento enxameatório, migratório e no desenvolvimento de colméias de abelhas africanizadas. Dissertação de mestrado, Departamento de Genética, FMRP, USP, 180p.

Nogueira-Couto, R.H.; Couto, L. A. 2002. Apicultura: Manejo e Produtos. Jaboticabal: FUNEP, 191p.

Nunes M V.; Saunders D. 1999. Photoperiodic time measurement in insects: a review of clock models. Journal Biological Rhythms, 142:84-104.

Nuñez, J. A. 1977. Circadian variation of flight activity in colonies of *Apis mellifera ligustica*. Journal of Insect Physiology, (23)3: 387-392.

Nuñez, J. A. 1982. Foraging pressure and its annual variation: a method of evaluation using artificial food sources. Journal of Apicultural Research. 182:116-121.

Oertel, E. 1949. Relative humidity and temperature within the beehive. Journal Economic Entomology. 42:528-531.

Otis, G. W. 1982. Weights of worker honeybees in swarms. Journal of Apicultural Research 21:88-92.

Pankiw, T. Winston, M.L. Plettner E. Slessor, K. 1996. Mandibular gland components of European and Africanized honey bee queens. Journal of Chemical Ecology 22: 605-615.

Park, O. W. 1949. In The hive and the honeybee. Dadant and sons, Hamilton, Illinois.

Percival, M. S. 1950. Pollen presentation and pollen collection. New Phytol. 49:40-63.

Percival, M. S. 1955. The presentation of pollen in certain angiosperms and its collection by *Apis mellifera*. New Phytol. 54: 353-368.

Pernal, S. F.; Currie R. W. 2001. The influence of pollen quality on foraging behavior in honeybees *Apis mellifera* L.. Behav. Ecol. Sociobiol., 51: 53-68.

Pettis, J. S.; Winston, M. L., Slessor, K. N. 1995. Behavior of queen and worker honey bees (Hymenoptera: Apidae) in response to exogenous queen mandibular gland pheromone. Annals of the Entomological Society of America. 88:580-588.

Pettis, J. S.; Winston, M. L.; Collins, A. M. 1995. Suppression of queen rearing in European and Africanized honey bees *Apis mellifera* L. by synthetic queen mandibular gland pheromone. Insect Sociaux 42: 113-121.

Pettis, J. S.; Westcott, L. C.; Winston, M. L. 1998. Balling behaviour in the honey bee in response to exogenous queen mandibular gland pheromone. Journal Apicultural Research 37: 125-131.

Punchihewa, R. W. K. 1994. Beekeeping for Honey Production in Sri Lanka. Department of Agriculture, Peradeniya, Sri Lanka.

Ribbands, C. R. 1953. The behavioral and social life of honeybees. Bee Research Association, London, 352p.

Roces, F. 1995. Variable thermal sensitivity as output of a circadian clock controlling the bimodal rhythm of temperature choice in the ant *Camponotus mus*. J. Comp. Physiol. A, 177: 637-643.

Roces, F.; Nuñez J.A. 1996. A circadian rhythm of thermal preference in the ant *Camponotus mus* : masking and entrainment by temperature cycles. Physiol. Ent., 21: 138-142.

Root, E. R.; Root, H. H.; Root, J. A. Edt.. 1990. ABC and XYZ of bee culture. Root Publishing, 40th Edition, 516p.

Roubik D.W. 1989. Ecology and History of Tropical Bees. Cambridge Tropical Biology Series. Cambridge University Press. 514 p.

Ruttner, F. 1988. Biogeography and Taxonomy of Honeybees. Wid. Springer – Verlag London, Paris, Tokyo. 284p.

Ruttner, F. 1992. Naturgeschichte der Honigbienen. Munchen:Ehrenwirth Verlag. 357p.

Sakagami, S. F. 1958. The false queen: Fourth adjustive response in dequeened honeybee colonies. Behaviour, 13, 280-296.

Santiago, E. O. 2006. A cultura da bananeira (*Musa paradisiaca*) como fonte alternative de nectar para a apicultura em período de escassez de alimentos. Dissertação de mestrado em Zootecnia. UFC, Departamento de Zootecnia, Fortaleza/CE, 72p.

Secretaria de Agricultura Y Recursos Hidráulico (SARSH). 1986. Las abejas Africanas Y su control 2: Orientaciones Tecnicas. Programa Nacional para el Control de la Abeja Africana. 84p.

Seeley, T. D. 1982. How honeybees find home. Scientific American 247 (Oct): 158-168.

Seeley, T. D., Kleinhenz, M., Bujok, B. 2003. Thorough warm-up before take-off in honey bee swarms. Naturwissenschaften. 90:256-260.

Seeley, T. D. 2006. Ecologia da Abelha: Um Estudo de Adaptação na Vida Social (tradução de C. A. Osowski)-Porto Alegre: Paixão Editores LTDA, 256p.

Seeley, T. D., Fell, R. D. 1981. Queen substance production in honeybee (*Apis mellifera*) colonies preparing to swarm. J. Kans. Entomol. Soc. 54:192-196.

Seeley, T. D.; Tautz. 2001. Worker piping in honey bee swarm and its role in preparing for liftoff. J. Comp. Physiol. A. 187: 667-676.

Shepard, W. S., Arias, M. C., Grech, A., Meixner, M. D. 1997. *Apis mellifera ruttneri*, a new honey bee subspecies from Malta. Apidologie. 28: 287-293.

Shepard, W. S., Meixner, M. D. 2003. *Apis mellifera pomonella*, a new honey bee subspecies from Central Asia. Apidologie. 34: 367-375.

Sihag R.C.; & Abrol D. P. 1986. Correlation and path-coefficient analysis of environmental factors influencing flight activity of *Apis florea*. Journal of Apicultural Research. 254:202-208.

Simpson, J. (1963). Queen perception by honey bee swarms. Nature, 99: 94-95.

Simpson, J. 1961. Nest climate regulation in honeybee colonies. Science 133: 1327-1333.

Slessor, K. N., Kaminski, L. A., King, G. G. S., Winston, M. L. 1990. Semiochemicals of the honey bee queen mandibular glands. Journal of Chemical Ecology. 16:851-860.

Slessor, K. N., Winston, M. L. Le Conte, Y. 2005. Pheromone communication in the honeybee (*Apis mellifera* L.). Journal of Chemical Ecology 31(1): 2731-2745.

Slessor, K. N.; Kaminski, L. A.; King, G. G. S.; Borden, J. H.; Winston, M. L. 1988. Semiochemical basis of the retinue response to queen honey bees. Nature 332: 354-356.

Smith, F. G. 1961. The races of honeybees in Africa. Bee World. 42:255-260.

Southwick E.E. & Moritz R.F.A. 1987. Social synchronization of circadian rhythms of metabolism in honeybees *Apis mellifera*. Physiol. Ent., 12: 209-212.

Souza, D. C. 2001. Estudo do efeito da substituição das rainhas no desenvolvimento produtivo de enxames africanizados capturados em caixas iscas e o desenvolvimento de colônias de abelhas africanizadas *Apis mellifera* L. em uma região de transição caatinga-cerrado do Piauí. Tese de Doutorado, Departamento de Genética, FMRP/ USP, 445p.

Souza, J. L. F. & Gonçalves, L. S. 1994. Influência do aumento da temperatura e da luminosidade interna nas atividades de vôo de abelhas *Apis mellifera scutellata* (africanizada) e sua relação com o comportamento enxameatório através do uso do registrador automático de atividades de vôo das abelhas: apidômetro. Anais do Encontro Sobre Abelhas, 1:201p.

Souza, J. L. F. de. 1993. Influência do aumento da temperatura e da luminosidade interna nas atividades de vôo das abelhas *Apis mellifera scutellata* africanizada e sua relação com o comportamento enxameatório através do uso do registrador automático de atividades de vôo das abelhas: apidômetro. Dissertação de mestrado, Departamento de Genética, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/ USP, 201p.

Spangler, H. G. 1969. Suppression of honey bee flight activity with substrate vibration. Journal of Economic Entomology, 62(5) 1185-1186.

Starks P.T. & Gilley D.C. 1999. Heat shielding: A novel method of colonial thermoregulation in honey bees. Naturwissenschaften., 86: 438-440.

Strye, M.; Borremans, G.; Jacobs, F. J. 1991. Monitoring honey-bees: the design of a computer-operated bee counter. Proceedings of the Section Experimental and Applied Entomology of the Netherlands Entomological Society (N.E.V.). 2:150-153.

Synge, A. S. 1947. Pollen collection by honeybees (*Apis mellifera*). J. Anim. Ecol. 16:122-138.

Szabo, T. I. 1980. Effect of weather factors on honey bee flight activity and colony weight gain. Journal of Apicultural Research. 193: 164-171.

Teixeira L.V. 2003. Aspectos temporais em colônias de *Frieseomelitta varia*: influência das estações do ano, hora do dia e clima nas atividades de construção de células e de vôo Hymenoptera, Apinae, Meliponini. Monografia – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, USP. Ribeirão Preto. 41p.

Unwin D.M. & Corbert S.A. 1984. Wingbeat frequency, temperature and body size in bees and flies. Physiol :Ent., 91: 115-121.

Velthius, H. H. W.; van Es, J. 1964. Some functional aspects of the mandibular glands of the queen honeybee. Journal of Apicultural Research, 3: 11-16.

Velthius, H.H. W.; Ruttner, F.; Crewe R. M. 1990. Differentiation in reproductive physiology and behaviour during the development of laying worker honeybees. In: Engels, W. (ed) Social insects. Springer, Berlin Heidelberg New York, 231-243pp.

Verma, L., Dulta, P. C. 1986. Foraging behaviour of *Apis cerana indica* and *Apis mellifera* in pollinating apple flower. Journal of Apicultural Research. 25(4):197-201.

Vilela, S. L. O. 2002. Desenvolvimento de tecnologia para o agronegócio apícola do Nordeste. In: Congresso Brasileiro de Apicultura. 14, Campo Grande/MS. Anais: Confederação Brasileira de Apicultura, 276-282.

Vissher, P. K. 2000. Collective Decision-Making by honey bee swarms. Anais do IV Encontro sobre abelhas. Ribeirão Preto/SP, 72-77pp.

Willmer, P. G. 1986. Microclimate and the environmental physiology of insects Adv. Insect Physiol 16:1-57.

Winston, M. L. Otis, G. W., Taylor, O. R. 1979. Absconding behaviour of the Africanized honeybee in South America. Journal of Apicultural Research. 18:85-94

Winston, M. L., Taylor, O. R. 1980. Factors preceding queen rearing in the Africanized honeybee (*Apis mellifera*) in South America. Insects Sociaux. 27:289-304.

Winston, M. L.; Dropkin, J. A.; Taylor, O. R. 1981. Demography and life history characteristics of two honey bee races *Apis mellifera*. Oecologia 48: 407-413.

Winston, M. L. 1987 The Biology of the Honey Bee. Harvard University Press, Cambridge, Massachussets. 224p.

Winston, M. L.; Slessor, K. N. 1992. The essence of royalty: Honey bee queen pheromone. Am. Sci. 80:374-385.

Winston, M. L., 2003. A Biologia da Abelha Tradução de Carlos A. Osowski - Porto Alegre: Magister, 276p.

Woyke, J. 1976b. Brood-rearing efficiently and absconding in Indian honeybees. Journal of Apicultural. Research.15:133-143.

Woyke J. 1992. Diurnal flight activity of African bees *Apis mellifera adansonii* in different seasons and zones of Ghana. Apidologie. 23:107-117.

Woyke, J.; Wilde, J., Wilde, M. 2003. Periodic mass flights of *Apis laboriosa* in Nepal. Apidologie, v. 34, n.2. 121-127.