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

Termorregulação colonial e a influência da temperatura no desenvolvimento da cria em abelhas sem ferrão, Melipona scutellaris (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)

Yara Sbrolin Roldão

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

Ribeirão Preto
2011

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

Termorregulação colonial e a influência da temperatura no desenvolvimento da cria em abelhas sem ferrão, Melipona scutellaris (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)

Yara Sbrolin Roldão

Orientador: Prof. Dr. Michael Hrncir

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

Ribeirão Preto
2011

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

FICHA CATALOGRÁFICA

Roldão, Yara Sbrolin.

Termorregulação colonial e a influência da temperatura no desenvolvimento da cria em abelhas sem ferrão, *Melipona scutellaris* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). Ribeirão Preto, 2011.

90 p.: 32 il. 30 cm

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

Orientador: Hrncir, Michael.

1. Temperatura. 2. Termorregulação. 3. Influência de temperatura. 4. Desenvolvimento. 5. PER.

Aos meus pais, pela dedicação.

Minhas irmãs, pela alegria.

Meu grande amor, pelas conquistas.

Dedico.

What A Wonderful World

Louis Armstrong (George David Weiss)

I see trees of green, red roses too
I see them bloom for me and you
And I say to myself
what a wonderful world

I see skies of blue and clouds of white
Bright sunny days, dark sacred nights
and I think to myself
what a wonderful world

The colors of the rainbow are so pretty in the skies
Are also on the faces of people walking by
I see friends shaking hands saying
How do you do?
They´re really saying
I love you

I see babies cry, I watch them grow
They´ll learn much more than I´ll ever know
And I think to myself
What a wonderful world
Yes, I think to myself
What a wonderful world

And I say to myself
what a wonderful world.

"Eu... eu sinto uma vontade
enorme de existir e de viver..."

Agradecimentos

Durante toda essa minha caminhada até o momento, conheci e aprendi com muitas pessoas, cada uma com seu jeito de ser, mas com algo de bom a ensinar. Gostaria de poder colocar todas essas pessoas em primeiro lugar nos meus agradecimentos, porque de alguma forma ou em algum momento todos foram importantes para minha vida e para a realização deste trabalho. Por isso, gostaria de pedir para que todos se sintam assim, não importando a ordem com que colocarei as palavras.

Agradeço a Deus, pela dádiva da vida, por caminhar junto comigo em todos os momentos e por conduzir pessoas tão especiais em minha vida. Agradeço também a todos os Orixás pelas bênçãos e pela proteção.

Quero agradecer a minha família, meus pais "Dalton e Nelza" que me ensinaram a ser uma pessoa boa e honesta, ao meu grande amor "Thiago" pelo companheirismo, pela compreensão nos momentos mais complicados, atenção e por me proporcionar momentos tão felizes. As minhas irmãs "Sabrina e Michelle" pelos momentos de alegria, de dedicação e pela amizade. Ao meu cunhado "Lúcio" pela atenção e amizade. A todos o meu sincero obrigado, pelo amor incondicional, pelo apoio, incentivo, dedicação e por estarem presentes em minha vida. Amo vocês!!!

Sou muito grata também ao Professor Dr. Michael Hrncir pela oportunidade de trabalhar e conhecer o mundo das abelhas, pela ajuda em toda caminhada e principalmente com as estatísticas e gráficos, pelo incentivo, paciência, dedicação e por acreditar na minha capacidade. Além de orientador, sei que tenho um verdadeiro amigo. Muito obrigada!

Ao Professor Dr. Ronaldo Zucchi por abrir as portas do Laboratório de Ecologia e Invertebrados para que eu pudesse iniciar minha vida como pesquisadora, pela atenção e pelo auxílio nas trajetórias deste trabalho.

Ao grande Dr. Sidnei Mateus, técnico do laboratório, por toda a ajuda no desenvolvimento deste trabalho (que foram muitas), pela atenção, carinho, pela amizade, dicas, incentivo, bagunças e por todos os ensinamentos. Muito Obrigada!

Agradeço também a minha querida amiga Joyce Mayra que está presente desde o começo da minha jornada, pela amizade sincera, pela afinidade, pelos momentos alegres, confidências trocadas e por me dar um "acorda" na hora que preciso. Adoro você! Obrigada!

Às minhas queridas amigas: (1) Maju, por me ensinar sobre as abelhas, por ter me acolhido no laboratório, pelo ânimo e pela amizade. (2) Claudinha, por sempre me dar força e coragem, pelo apoio e amizade. (3) Rita, pelas tardes animadas de conversas, pela disposição, dicas, pela enorme ajuda (que foram muitas), pelo ânimo nos momentos difíceis e amizade. (4) Cláudia Inês pela oportunidade de trabalho no Centro de Serviços Ambientais, pelo apoio e amizade. (5) Paty, pela oportunidade de conhecer e trabalhar com as minhas "sobrinhas – berinjelas", pelas conversas na estufa, pela ajuda e amizade. Agradeço a todas

com muito carinho, por toda amizade oferecida. (6) Kátia, pela enorme ajuda com as estatísticas (toda hora né, Kátia!) e pela amizade. Obrigada por tudo!

Agradeço imensamente as queridas secretárias da Pós-Graduação em Entomologia Renata e Verinha, pela paciência, amizade, alegria e por toda ajuda que precisei. Vocês são especiais! Muito obrigada!

Às crianças, Maria Luiza, Letícia e Pedro, Gigi e Yasmim, pela pureza de ser criança, pela alegria de viver, pelos beijos e abraços de carinho e pelos preceitos que só os baixinhos sabem ensinar.

A todos os outros colegas do laboratório e da Universidade, Letícia, Danielle, Aline Patrícia, Michelle, Clycie, Plézio, Ayrton, Cristiano, Ivelize, Maria do Carmo, Carla, Bruno, Giovanna, Salsa, Ana Luiza, Morgana, Léo, Maurício, Camila, Juliana Alonso e Denise.

A todos os outros professores que de alguma forma me auxiliaram neste trabalho, Prof. Dr. Fábio S. Nascimento, Prof. Dr. Carlos A. Garófalo, Profª. Drª. Vera L. I. Fonseca e Profª. Drª. Zilá L. P. Simões.

À Cidinha por cuidar do nosso ambiente de trabalho e pela amizade.

À Universidade de São Paulo e Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras pela estrutura e ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia pelos materiais concedidos.

À CAPES pela bolsa concedida durante o desenvolvimento deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....ii
LISTA DE TABELAS.....v
RESUMO.....vi
ABSTRACT.....viii

CAPÍTULO 1. INTRODUÇÃO GERAL.....1
1. Introdução Geral.....2
1.1. Aspectos gerais dos meliponíneos.....3
1.2. Desenvolvimento nas abelhas.....5
1.3. Temperatura dentro do ninho e termorregulação.....6
1.4. Objetivos e organização da dissertação.....8
Referências Bibliográficas.....10

CAPÍTULO 2. TEMPERATURA DO NINHO E TERMORREGULAÇÃO.....14
2. Introdução.....15
2.1. Objetivos.....20
2.2. Material e Métodos.....21
2.2.1 Registro das temperaturas.....21
2.2.2 Termorregulação.....23
2.3. Resultados.....25
2.3.1 Registro das temperaturas.....25
2.3.2. Correlações entre as temperaturas registradas.....36
2.3.3. Termorregulação.....38
2.4. Discussão.....46
Referências Bibliográficas.....50

CAPÍTULO 3. INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NO DESENVOLVIMENTO DA CRIA E NO COMPORTAMENTO ADULTO.....53
3. Introdução.....54
3.1. Objetivos.....58

3.2. Material e Métodos.....58
3.2.1. Situação controle.....59
3.2.2. Situações experimentais.....60
3.2.3. Medidas.....61
3.2.4. Comportamento adulto.....64
3.3. Resultados.....66
3.3.1. Tratamento controle.....68
3.3.2. Tratamentos experimentais.....69
3.3.4. Comportamento adulto.....79
3.4. Discussão.....81
Referências Bibliográficas.....85

CAPÍTULO 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....88

Lista de Figuras

Figura 1. Colônia de *Melipona scutellaris*. (A) Colônia isolada externamente com isopor e com os sensores conectados à data logger. (B) Termômetros: na área de cria (dentro do invólucro) e na periferia do ninho (fora do invólucro)..... **23**

Figura 2. Estufa incubadora B.O.D. utilizada para o desenvolvimento dos favos... **25**

Figura 3. Variação da temperatura diária no ambiente, na sala do laboratório e na caixa controle (sem abelhas)..... **26**

Figura 4. Variação da temperatura no período experimental (13/03/2009-29/03/2009)..... **27**

Figura 5. Comparação das temperaturas médias (A) e das variações diárias de temperatura (B) do experimento controle..... **28**

Figura 6. Correlações entre as temperaturas registradas..... **29**

Figura 7. Variação da temperatura diária durante o período experimental do verão entre as médias das temperaturas observadas no período de 13/03/2009 a 29/03/2009..... **31**

Figura 8. Variação da temperatura no verão, apresentando temperaturas médias (A), mínimas (B) e máximas (C) registradas no ambiente, na sala do laboratório e nas duas colônias experimentais (C1 e C2)..... **32**

Figura 9. Comparação entre as temperaturas médias (A) e das variações diárias de temperatura (B) no período de verão..... **32**

Figura 10. Variação da temperatura diária durante o período experimental de inverno (29/05/2009-15/06/2009 e 07/07/2009-26/07/2009). Temperaturas registradas no ambiente, na sala de laboratório e nas colônias (C1 e C2)..... **33**

Figura 11. Variação da temperatura no inverno. São demonstradas as temperaturas médias (A), mínimas (B) e máximas (C) registradas no ambiente, na sala do laboratório e nas colônias (C1 e C2)..... **34**

Figura 12. Comparação entre as temperaturas médias (A) e das variações diárias de temperatura (B) no período experimental de inverno..... **35**

Figura 13. Influência da temperatura ambiente às temperaturas registradas na sala (A) e nas colônias (B-E)..... **36**

Figura 14. Influência da temperatura da sala de laboratório às temperaturas registradas nas colônias..... **37**

Figura 15. Influência das temperaturas registradas na periferia da colônia às temperaturas da área de cria..... **38**

Figura 16. Parte dos registros de temperatura dentro da estufa, dentro do isopor vazio e dentro do isopor com quatro favos de cria..... **39**

Figura 17. Correlação entre a temperatura dentro das caixas de isopor (temperatura interna) e a temperatura registrada na estufa (temperatura externa)..... **40**

Figura 18. Oscilações sinus (Oscilação 1- linha inteira; Oscilação 2- linha quebrada), com amplitudes diferentes, mas com o mesmo tempo de oscilação..... **40**

Figura 19. Temperaturas médias por hora no decorrer dos experimentos. Foram registradas as temperaturas dentro da estufa a 25, 27 e 29°C (dois sensores externos), e simultaneamente dentro do isopor vazio e dentro do isopor com quatro favos de cria..... **41**

Figura 20. Correlação entre a temperatura dentro das caixas de isopor (Temperatura interna) e a temperatura registrada na estufa (Temperatura externa)..... **42**

Figura 21. Parte dos registros de temperatura dentro da estufa, dentro do isopor vazio e dentro do isopor com cera..... **42**

Figura 22. Temperaturas médias por hora no decorrer dos experimentos. Foram registradas as temperaturas dentro da estufa a 25, 27 e 29°C, e simultaneamente dentro do isopor vazio e dentro do isopor com cera..... **43**

Figura 23. Registros de temperatura na estufa, na caixa de isopor vazia, no isopor com quatro favos e no isopor com cera..... **45**

Figura 24. Correlação entre as temperaturas médias registradas dentro das caixas de isopor (interna) e as registradas na estufa (externa)..... **45**

Figura 25. Exemplificação das medidas que foram realizadas nos indivíduos para posterior comparação entre os tamanhos (corpo e asas) atingidos de acordo com a temperatura..... **63**

Figura 26. Local onde foram fixadas as abelhas. (A) Gota da solução de sacarose sendo oferecida, tocando as antenas. (B) Reflexo de extensão da probóscide para a solução de sacarose oferecida sem recompensa..... **66**

Figura 27. Temperaturas e variação diária da temperatura na área do desenvolvimento da cria (fase de pupa) registrada durante o experimento..... **70**

Figura 28. Tempo de desenvolvimento (A) e mortalidade (B) da cria observada nos experimentos..... **75**

Figura 29. Análise de discriminante canônica realizada com as medidas para os grupos de operárias..... **76**

Figura 30. Medidas do tórax e da cabeça das abelhas desenvolvidas durante o experimento..... **77**

Figura 31. Comprimento das asas das abelhas desenvolvidas durante o experimento..... **78**

Figura 32. Placar gustativo das forrageadoras desenvolvidas durante o experimento..... **80**

Lista de Tabelas

Tabela 1. Temperaturas registradas e horários dos picos de temperatura durante o experimento controle..... **27**

Tabela 2. Temperaturas registradas e horários dos picos de temperatura durante o período experimental do verão..... **30**

Tabela 3. Temperaturas registradas e horários dos picos de temperatura durante o período experimental de inverno..... **34**

Tabela 4. Comparação dos registros de temperatura na estufa, na caixa de isopor vazio (controle), no isopor com quatro favos e no isopor com cera..... **44**

Tabela 5. Exemplificação da pontuação realizada para o reflexo de extensão da probóscide..... **65**

Tabela 6. Resumo e comparação dos valores obtidos nos experimentos do desenvolvimento na estufa. Como controle foi usado um favo desenvolvido na colônia (caixa de observação)..... **67**

Resumo

Uma característica dos insetos sociais, entre elas as abelhas, é o controle da temperatura de seus ninhos. Abelhas sociais são denominadas como animais heterotérmicos, ou seja, são endotérmicas quando realizam atividades motoras (adultas) e ectotérmicas quando apresentam inatividade (cria e abelhas jovens). Essa característica está entrelaçada com o comportamento social. As abelhas melíferas (Apidae; Apini: *Apis mellifera*) são conhecidas por apresentarem uma temperatura "ótima" dentro de seus ninhos, regulando a temperatura independente da variação de temperatura ambiente (externa). Entretanto, as abelhas sem ferrão (Apidae; Meliponini) não mantém a temperatura dentro de seus ninhos rigorosamente como as abelhas melíferas. Apesar disso, essas abelhas conseguem manter uma temperatura mais ou menos estável para a emergência perfeita da prole. Porém, se ocorrer algum tipo de alteração de temperatura durante a fase do desenvolvimento ontogênico, esses indivíduos podem não desempenhar suas funções com eficiência, podendo trazer malefícios para a colônia. O objetivo do presente trabalho foi registrar essas temperaturas internas e compará-las com as temperaturas externas (ambiente), como também analisar a termorregulação passiva nas abelhas sem ferrão. Além disso, foi verificado também se estas abelhas podem apresentar uma alteração no comportamento adulto quando desenvolvidas em temperaturas consideradas "inadequadas". Foram utilizadas colônias de *Melipona scutellaris* mantidas em caixas de madeira em uma sala. Para os registros das temperaturas foram utilizados 2 sensores para cada colônia, um na área de cria (dentro do invólucro) e outro na periferia do ninho (fora do invólucro). No momento dos registros internos das colônias, foram anotadas também as temperaturas externas, ou seja, as temperaturas da sala (onde estavam mantidas as colônias) e do ambiente externo. Para controle, foram feitos os registros de temperatura em uma caixa vazia (sem abelhas) com as mesmas dimensões das colônias. Para analisar a termorregulação das abelhas sem ferrão *Melipona scutellaris* foi utilizada uma estufa, onde foram incubados favos e cera (colônia) em diferentes temperaturas, a fim de verificar se a cera da colônia ou se a cria presente nos favos auxiliava na

manutenção da temperatura do ninho. Os resultados obtidos demonstraram que a temperatura na área de cria é sempre maior que na periferia do ninho. Também foi verificado que a temperatura do ambiente influencia na variação da temperatura dentro do ninho. Para verificar a influência da temperatura no desenvolvimento das abelhas, foram realizados em estufa desenvolvimentos de crias em fase de pupa até a emergência dos indivíduos. Foi observado o tempo dos desenvolvimentos, taxas de mortalidade, medidas do corpo e asas como também a análise do comportamento adulto, a fim de avaliar o limiar gustativo. Os indivíduos emergidos das condições experimentais de temperatura (influência de temperatura por meio da estufa) demonstraram de acordo com as medidas do corpo e das asas, tamanhos menores que os indivíduos da colônia, porém não emergiram indivíduos deformados. Com relação ao comportamento adulto, avaliado pelo limiar de resposta gustativa, utilizando o Reflexo de Extensão da Probóscide, os placares gustativos foram semelhantes para os grupos de indivíduos emergidos na situação controle (colônia) e na situação experimental de 32ºC, sugerindo que a temperatura de 32ºC não causa nenhuma deficiência (neural e morfológica) à cria. Porém, os tratamentos de 28 e 30ºC não apresentaram "bons" desenvolvimentos, e assim, a taxa de mortalidade foi alta e o tempo de desenvolvimento foi longo. Este trabalho foi relevante para os estudos de influência de temperatura no desenvolvimento de imaturos e para a termorregulação colonial.

Abstract

One of the characteristics of social insects, the bees among them, is the temperature control of their nests. Social bees are called heterothermic animals, e.g. they are endothermic when they carry out motor activities (adults) and ectothermic when they present inertness (hatch and young bees). This characteristic is correlated with their social behavior. Honeybees (Apidae; Apini: *Apis mellifera)* are known by presenting an 'optimum' temperature inside their nests, correcting temperature independently of environmental temperature variation (external). Meanwhile, stingless bees (Apidae; Meliponini) do not keep temperature inside their nests as rigorously as honeybees. Nevertheless, these bees are able to maintain temperature balanced for a perfect emergency of their offspring. However, in case there is any temperature change during the ontogenic development phase, they may not perform their duties efficiently, bringing harm to their colony. The present study aims to record the internal temperatures and compare them to the environmental ones (external), along with the analysis of passive thermoregulation of the stingless bees. Besides, it was checked out if those bees can reveal an adult behavior alteration when raised under inadequate temperatures. It was placed *Melipona scutellaris* colonies in wooden boxes in a room. For measurement temperature recording, it was used 2 (two) sensors for each colony, one of them in the foal area that is inside the casing and another in the nest periphery that is outside the casing. Both internal temperatures of the colonies and external ones were recorded, i.e. room temperatures, where boxes were kept in external environment. For comparison control, an empty box without bees was recorded under similar colony dimensions. On analyzing the stingless thermoregulation *Melipona scutellaris*, it was used a greenhouse for honeycomb and wax incubation (colony) in different temperatures for the purpose of verifying whether the colony wax or the hatch, present in the honeycomb, helps in the nest temperature maintenance. The results show the brood area temperature is always higher than the nest periphery which presents lower temperatures. Likewise, it was seen that the environmental temperature influences the temperature variation inside the nest. Verifying temperature influence in the

bees, it was carried out greenhouse developments (pupa) until the emergency of subjects. Development time, mortality rate, body and wing measurements as well as adult behavior were observed with the view to assessing taste threshold. Subjects emerged from experimental condition of temperature influenced by greenhouse showed, according to body and wing measurements, smaller size than the colony subjects, although there were no malformed subjects. Concerning adult behavior evaluated by taste threshold answer using Proboscis Extension Reflex, gustatory scores were similar to all groups emerged from the control situation (colony) and under the experimental condition of 32°C, suggesting that 32°C does not produce any neural and morphological damage in the hatch. But, 28º and 30°C treatments did not come up with good developments, therefore mortality rate was high and development period of time was long. This work was relevant to the temperature influence on immature development and colonial thermoregulation.

"Nada se assemelha à alma como a abelha.
Esta voa de flor para flor,
aquela de estrela para estrela.
A abelha traz o mel,
como a alma traz a luz." (Vitor Hugo)

Capítulo 1

Introdução Geral

Resumo

Nos animais as duas estratégias térmicas principais são a ectotermia (temperatura corporal determinada por fatores externos) e a endotermia (regulação fisiológica da temperatura corporal). Em alguns insetos, encontra-se uma terceira estratégia chamada de heterotermia, ou endotermia temporal, onde os indivíduos regulam temporariamente sua temperatura corporal. Além dessa heterotermia, as abelhas sociais possuem o que pode ser chamado de endotermia colonial, ou seja, elas possuem a capacidade de regular a temperatura dentro de seus ninhos. Uma temperatura adequada para o desenvolvimento bem-sucedido da cria é fundamental para a sobrevivência da colônia. A temperatura é mantida por meio de mecanismos de aquecimento e resfriamento. Enquanto em abelhas melíferas (*Apis mellifera*) esta termorregulação é principalmente ativa (os próprios indivíduos aquecem ou resfriam a colônia), nas abelhas conhecidas como "abelhas sem ferrão" (Apidae; Meliponini), a temperatura na área de cria é mantida basicamente por meios passivos (escolha de lugares de nidificação adequados, adaptações arquiteturais, etc.). A abelha sem ferrão *Melipona scutellaris* (Uruçu do Nordeste) é nativa da região do Nordeste Brasileiro onde as temperaturas ambientais variam pouco ao longo do ano. Porém estas abelhas também estão presentes no estado de São Paulo por terem sido introduzidas e mantidas para produção comercial de mel, onde elas enfrentam variações anuais grandes de temperaturas. O objetivo deste trabalho foi observar a variação da temperatura dentro de ninhos de *M. scutellaris* mantidas dentro de um laboratório da Universidade de São Paulo em Ribeirão Preto e verificar se estas abelhas são capazes de manter uma temperatura adequada para o desenvolvimento bem-sucedido da cria nestas circunstâncias.

1. Introdução geral

Nos animais, as duas estratégias térmicas principais são denominadas **endotermia** e **ectotermia**. Estes são diferenciados por meio da fonte de calor utilizada para manter as temperaturas corpóreas, isto é, os animais ectotérmicos são aqueles conhecidos popularmente como “sangue frio”, pois necessitam da troca de calor com o ambiente para se aquecerem, entretanto os animais endotérmicos possuem a capacidade de controlar e regular a temperatura de seus organismos, equilibrando o ganho e a perda de calor. A produção de calor pelo metabolismo é um aspecto fundamental dessa regulação, ou seja, variando a taxa metabólica o animal endotérmico pode alterar a intensidade da produção de calor, desse modo é possível

manter uma temperatura corpórea constante, combinando a produção de calor e a perda deste pelo seu corpo em diferentes condições ambientais (Pough *et al.*, 1993).

A classe Insecta são animais geralmente pertencentes ao grupo dos ectotérmicos, porém os insetos sociais da ordem Hymenoptera (que abrange as abelhas, formigas e vespas), onde se destacam as abelhas sociais, são extremamente diversificadas quanto à sua biologia, pois possui uma característica interessante, são endotérmicas quando realizam atividades motoras e ectotérmicas durante inatividade (Carvalho, 2009). Esta estratégia de endotermia temporal é conhecida como **heterotermia** (Heinrich, 1993; Moyes e Schulte, 2010). Além disso, as abelhas sociais demonstram certa capacidade de regulação do clima dentro dos ninhos conhecida também como endotermia colonial. A manutenção da homeostase no ninho (com o controle de variáveis como umidade relativa e termorregulação colonial) é um aspecto importante em abelhas sociais, principalmente para a sobrevivência da cria. A capacidade de termorregulação colonial é decorrente, em parte, às características estruturais do ninho (isolamento térmico), como também ao fato da endotermia dos indivíduos (Heinrich, 1993; Carvalho, 2009).

1.1. Aspectos gerais dos meliponíneos

De acordo com a classificação de Michener (2000), as abelhas são agrupadas na superfamília Apoidea, que por sua vez, é constituída por diversas famílias, entre elas, a família Apidae. Essa família possui a subfamília Apinae, que é dividida em diversas tribos, onde (na maioria das vezes) as mais conhecidas são (1) Tribo Euglossini (conhecidas como abelhas das orquídeas), (2) Tribo Bombini (mamangavas grandes e peludas), (3) Tribo Apini (abelhas melíferas, *Apis mellifera*) e (4) Tribo Meliponini (abelhas popularmente conhecidas como abelhas sem ferrão) a qual agrupa vários gêneros incluindo o gênero *Melipona* (a de interesse neste trabalho).

Entre as abelhas sociais indígenas brasileiras, os meliponíneos são as abelhas mais conhecidas. O grupo Meliponini corresponde às abelhas denominadas

"sem ferrão", por apresentarem ferrão atrofiado ou vestigial (Michener, 2000). Além disso, a organização social é constituída caracteristicamente por duas castas, onde a rainha é especializada em realizar a postura dos ovos e as operárias são responsáveis pela manutenção do ninho (Michener, 1974; Nogueira Neto, 1997). Existem mais de 400 espécies diferentes de Meliponini distribuídas pela região neotropical, algumas das quais freqüentemente criadas para a produção de mel. As abelhas sem ferrão são responsáveis por cerca de 90% do sucesso reprodutivo de árvores nativas de fecundação cruzada.

A alimentação da maioria das espécies de abelhas é constituída por néctar (mel) a fonte primária de carboidratos e pólen, que contém não apenas proteínas, mas também lipídeos e carboidratos presentes nas flores. Porém, existem espécies de meliponíneos que são exceção a regra, como a *Trigona spinipes* e a *Trigona recursa* que eventualmente utilizam carcaça fresca de animais para a sucção de sais (líquidos) ou para a maceração (Mateus, informação pessoal), no entanto ainda existem três espécies (*Trigona hypogea*, *Trigona crassipes*, *Trigona necrophaga*) que por sua vez se alimentam exclusivamente de carcaça fresca, assim sendo obrigatoriamente necrófagas (Mateus e Noll, 2004).

Os meliponíneos possuem um modo característico de construção do ninho. Este possui várias estruturas (que variam de acordo com a espécie) como o tubo de entrada, batume, potes de alimento, células de cria, invólucro, pilares para conectar esses elementos e em determinadas espécies escutelo (Sakagami, 1982). A área de cria nos Meliponini é uma parte do ninho que chama bastante atenção, pois de acordo com a espécie, os favos podem ser em forma de cacho ou em forma de discos horizontais. Além disso, existem células de tamanho maior onde é depositada maior quantidade de alimento, denominadas células reais, onde são geradas as rainhas (geralmente em pequena escala). Porém, no gênero *Melipona* não ocorre a construção dessas células reais, assim rainhas, operárias e machos nascem e se desenvolvem dentro de células de cria de tamanho igual (Sakagami, 1982; Kerr *et al.*, 1996; Nogueira Neto, 1997; Michener, 2000; Jarau *et al.*, 2010). Desse modo, acredita-se que a determinação de castas é realizada por meio de fatores genéticos e alimentares (Kerr, 1950; Nogueira-Neto, 1997; Ferreira-Caliman, 2008).

As abelhas sem ferrão estão distribuídas por todo o território brasileiro, desse modo demonstrando grande habilidade de adaptação a vários tipos de temperaturas e ambientes. Elas possuem um papel significativo na sociedade por produzirem substâncias de importância econômica e também por serem polinizadores, destacando-se por serem responsáveis por grande parte das plantas floríferas. Infelizmente, as ações predatórias do Homem (como desmatamentos e queimadas) diminuem o número de colônias de abelhas nativas nas matas brasileiras (Roubik, 1989; Aidar e Campos, 1998; Brandão, 1999).

1.2. Desenvolvimento nas abelhas

As abelhas sem ferrão (Hymenoptera; Apidae; Meliponini) são insetos holometábolos, ou seja, que apresentam metamorfose completa, onde os tecidos larvais são destruídos por apoptose e substituídos pelos tecidos dos adultos (Garcia, 2001). As abelhas, portanto, possuem um ciclo vital processado em quatro fases: embrião, larva, pupa e adulto. A fase de pupa é onde ocorre a transformação morfológica e fisiológica da larva para o indivíduo adulto e é neste estágio que se dá a primeira exteriorização das asas (Cruz-Landim, 2004; Costa e Ide, 2006). Nesse estágio o inseto não se alimenta e sobrevive das reservas que foram armazenadas pela larva (Garcia, 2001). No final do estágio larval (pré-pupa), o inseto permanece imóvel no interior da cutícula, esse estágio apresenta durações que variam entre as espécies (Cruz-Landim, 2004). De acordo com Simões (1974), em *Melipona quadrifasciata* a duração do estágio pupal pode ser de 22 dias. O avanço do estágio de pupa pode ser notado através de transformações no exterior do corpo, como a pigmentação dos olhos compostos e a esclerotização da cutícula. A pupação é, sobretudo, importante para o desenvolvimento das asas e dos músculos do vôo, inexistentes na larva (Kerr *et al.*, 1996; Cruz-Landim, 2004).

Dentre os fatores que podem influenciar a duração do desenvolvimento dentro de uma espécie, estão as condições ambientais, especialmente a quantidade de alimento e a temperatura. Desse modo, a taxa de crescimento ou o tamanho

atingido pelos insetos em cada estágio também não são fixas (Cruz-Landim, 2004). Tautz *et al.* (2003) relataram que em *Apis mellifera* as maiores quantidades de alimento depositadas nas células de cria puderam originar indivíduos mais resistentes ao ambiente em condições desfavoráveis. Entretanto, se os indivíduos sofreram durante seu desenvolvimento algum tipo de alteração na temperatura, estas podem causar malefícios para a colônia, originando indivíduos com deformações no corpo, alta mortalidade dos mesmos e indivíduos que até mesmo não desempenham com eficácia as funções realizadas no ninho (Mardan e Kevan, 2002; Tautz *et al.*, 2003). Já Undurraga e Stephen (1980) submeteram células (em fase de pupa) de *Megachile rotundata* (Hymenoptera; Megachilidae; Megachilini) a temperatura de 45°C e não houve mortalidade significante nas pupas, apesar de que em 50°C a mortalidade foi total. Esses dados foram apresentados dessa forma talvez pelo fato da espécie pertencer ao grupo das abelhas solitárias e, portanto apresentar hábitos de vida diferentes.

1.3. Temperatura dentro do ninho e termorregulação

As abelhas melíferas, *Apis mellifera*, são conhecidas por controlar rigorosamente a temperatura interna de seus ninhos dentro de uma faixa térmica estreita entre 33 a 36°C (Tautz *et al.*, 2003; Jones e Oldroyd, 2007). Esse controle ou regulação da temperatura é realizado predominantemente por meio das próprias abelhas. No frio, as operárias aquecem o ninho por meio da produção de calor metabólico (contrações rápidas dos músculos das asas de vôo; Heinrich, 1993; Heinrich e Esch, 1994; Jones & Oldroyd, 2007), no verão, em temperaturas acima de 36ºC, elas vibram as asas para gerar uma corrente de ar, e assim esfriar o ninho. Em temperaturas muito excessivas elas utilizam também na ventilação a evaporação de água, e em condições extremas evacuam o ninho (Winston, 1987). Segundo Jones e Oldroyd (2007) esse tipo de regulação da temperatura praticado por abelhas *Apis mellifera* é denominado **termorregulação ativa**, pois nesse mecanismo as abelhas utilizam atividades fisiológicas, ou seja, elas utilizam partes do corpo como os

músculos das asas e do vôo e também o acionamento dos músculos do tórax (Heinrich e Esch, 1994).

As abelhas sem ferrão não possuem essa capacidade de regular ativamente o micro-clima das suas colônias. Acredita-se que estas, no entanto consiga conservar uma temperatura mais ou menos estável na área de cria, para que se torne possível o nascimento da prole que depende de certas temperaturas para o desenvolvimento completo. Roubik e Peralta (1983), Monteiro (2000) e Jones e Oldroyd (2007) atribuíram essa função a uma estrutura do ninho presente em muitas espécies de abelhas sem ferrão, o invólucro (mistura de cera e resina) que envolve a área de cria e que pode ser visto como uma adaptação arquitetural que ajuda a reter calor para os insetos imaturos presente nos favos. Esse mecanismo de regulação da temperatura em abelhas sem ferrão é denominado por Jones e Oldroyd (2007) de **termorregulação passiva**. Esse tipo de termorregulação envolve também o local de nidificação selecionado por essas abelhas, que na maioria das vezes servem de mecanismos primários para o controle da temperatura, ou seja, são cavidades (geralmente em ocos de árvores) que ajudam a reter calor metabólico protegendo o ninho contra as variações da temperatura ambiente, e assim, proporcionando temperaturas "adequadas" dentro do ninho (Engels *et al.*, 1995; Jones e Oldroyd, 2007).

O controle da temperatura dentro da colônia (termorregulação) é importante principalmente para o sucesso do desenvolvimento da cria, e conseqüentemente para a sobrevivência da colônia. Desse modo, abelhas que emergirem em condições diferentes das consideradas "adequadas", podem apresentar deformações no corpo, como as observadas por Mardan e Kevan (2002) em *Apis dorsata*, em colônias que foram submetidas a temperaturas entre 26 a 45°C (temperatura ótima para o desenvolvimento da cria: 34°C; Mardan e Kevan, 2002). Além de afetar características morfológicas e a sobrevivência da cria, um desenvolvimento em temperaturas "inadequadas" pode afetar outros fatores fisiológicos dos indivíduos e assim gerar conseqüências posteriores na sua vida adulta, como na aprendizagem, na memória, na comunicação ou no forrageio (Tautz *et al.*, 2003; Jones *et al.*, 2005).

1.4. Objetivos e organização da dissertação

Embora, nos últimos anos, o conhecimento referente ao funcionamento da regulação de temperatura interna do ninho tenha se desenvolvido muito e suas conseqüências com relação ao comprometimento das habilidades por elas desenvolvidas (neste caso, o forrageio) principalmente em condições desfavoráveis, ainda assim é necessário conhecer mais sobre esse tema em abelhas sem ferrão. Pois, além destas não possuírem uma regulação de temperatura eficaz quando comparadas às *Apis mellifera*, ainda apresentam uma estrutura do ninho no qual é retido o calor (invólucro).

A abelha sem ferrão *Melipona scutellaris*, conhecida popularmente como Uruçu do Nordeste, é de fácil criação e geralmente as colônias são compostas de 300 a 600 indivíduos aproximadamente (Lindauer e Kerr, 1960; Nogueira-Neto, 1970). Essas abelhas são nativas da região Nordeste Brasileiro, onde as temperaturas ambientais variam pouco ao longo do ano. Porém elas também estão presentes no estado de São Paulo por terem sido introduzidas e mantidas para produção comercial de mel (Nogueira-Neto, 1970). Nesta região elas enfrentam variações anuais grandes de temperaturas (http://www.webbee.org.br/urucu/distribuicao_geografica.htm).

Portanto, considerando-se a importância das abelhas *Melipona scutellaris* (uruçu do nordeste) serem usadas para a produção de mel na região nordeste e serem trazidas para regiões mais frias como o estado de São Paulo (Nogueira-Neto, 1970), este estudo pretendeu contribuir com as pesquisas científicas envolvendo as consequências das variações de temperatura nas abelhas sem ferrão. Por esse motivo, de forma resumida, este trabalho teve os seguintes objetivos gerais:

❖ Analisar a influência da temperatura ambiental à temperatura interna nas colônias (área de cria, periferia) e examinar a capacidade termorreguladora dessa espécie de abelhas sem ferrão.

❖ Verificar quanto tempo essas abelhas precisam para se desenvolver em condições térmicas favoráveis e desfavoráveis e se o desenvolvimento em temperaturas diferentes resulta em diferenças morfológicas (tamanho; deformação).

❖ Apurar se a influência da temperatura nas células de cria pode futuramente alterar a fisiologia e o comportamento dessas abelhas (investigado através do limiar gustativo das operárias).

Referências Bibliográficas

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

BRANDÃO, C. R. F. 1999. **Hymenoptera.** In: BRANDÃO, C. R. F. & CANCELLO, E. M. **Invertebrados Terrestres.** Biodiversidade do Estado de São Paulo. Síntese do conhecimento ao final do século XX (Joly, C. A. & Bicudo, C. E. M. orgs). São Paulo, FAPESP. v. 5. 141-146 p. Disponível em: < http://www.biota.org.br/pdf/v5cap15.pdf >

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

COSTA, C. & IDE, S. 2006. **Fases do desenvolvimento.** In: COSTA, C.; IDE, S. & SIMONKA, C. E. **Insetos imaturos.** Ribeirão Preto, SP: Holos. 1 ed. **1:** 19-29.

CRUZ-LANDIM, C. 2004. **Biologia do desenvolvimento em abelhas.** Departamento de Biologia, Instituto de Biociências de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista. **5:** 1-20.

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

FERREIRA-CALIMAN, M. J. 2008. **Caracterização do perfil de hidrocarbonetos cuticulares de operárias, rainhas virgens e rainhas fisogástricas de *Melipona marginata* Lepeletier, 1836 (Hymenoptera, Apidae, Meliponini).** Dissertação de Mestrado. Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto – SP. 56p.

GARCIA, R. N. **Metamorfose em insetos.** In: GARCIA, S.M.L. & GARCÍA, C.F. 2001. **Embriologia.** Porto Alegre, RS: Artmed. 2 ed. **14:** 184-195.

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

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

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

JONES, J. C. & OLDROYD, B. P. 2007. **Nest thermoregulation in social insects.** Advances in Insect Physiology. **33:** 153-191.

JONES, J. C.; HELLIWELL, P.; BEEKMAN, M.; MALESZKA, R. & OLDROYD, B. P. 2005. **The effects of rearing temperature on developmental stability and learning and memory in the honey bee, *Apis mellifera*.** J. Comp. Physiol. A 191: 1121–1129.

KERR, W. E. 1950. **Genetic determination of castes in the genus *Melipona*.** Genetics. **35:** 143-152.

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

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

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

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

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

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

MONTEIRO, W. R. 2000. **Abelhas nativas – A mandaçaia.** Mensagem Doce. **57.** Disponível em: <http: // www.apacame.org.br/mensagemdoce/57/msg57.htm>

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

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

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

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

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

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

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

SIMÕES, D. 1974. **Estudos sobre a regulação social em *Nannotrigona (Scaptotrigona) postica* Latr. com especial referência a aspectos comportamentais (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae).** Dissertação de Mestrado. Faculdade de Medicina. Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto – SP. 91p.

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

UNDURRAGA, J. M. & STEPHEN, W. P. 1980. **Effect of temperature on development and survival in post-diapausing alfafa leafcutting bee prepupae and pupae (*Megachile rotundata* (F)): (Hymenoptera: Megachilidae). I. High temperatures.** Journal of Kansas Entomological Society. **53:** 669-676.

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

"Se as abelhas desaparecessem da face da terra,
a espécie humana teria somente mais 4 anos de vida.
Sem abelhas não há polinização, ou seja,
sem plantas, sem animais,
sem homens." (Albert Einstein)

Capítulo 2

Temperatura do ninho e Termorregulação

Resumo

As abelhas sociais conseguem controlar o clima de seus ninhos. As abelhas melíferas, *Apis mellifera*, são conhecidas como "ótimas" termorreguladoras, pois elas conseguem manter uma temperatura considerada "adequada" estável e independente da temperatura ambiental, para o desenvolvimento saudável da cria. As abelhas sem ferrão não conseguem manter a temperatura de seus ninhos de forma tão estável, ou seja, existe uma oscilação na temperatura dentro do ninho que pode chegar até 3ºC. Acredita-se que a temperatura dentro da área de cria é mantida relativamente estável por meio de uma estrutura do ninho denominada invólucro, entretanto, é possível que haja outros fatores que auxiliem na produção ou na manutenção dessa temperatura. O objetivo deste capítulo foi analisar a influência da temperatura ambiental à temperatura interna nas colônias e examinar a capacidade termorreguladora de *Melipona scutellaris*. Foram registradas as temperaturas dentro de dois ninhos (área de cria, periferia) em diferentes épocas do ano (verão, inverno). Para o registro das temperaturas foram utilizados sensores conectados à data-loggers que forneciam as temperaturas das colônias a cada 15 minutos. Simultaneamente foram registradas as temperaturas do ambiente (exterior e dentro da sala de laboratório onde as colméias eram situadas) Foi observado que apesar da área de cria manter sempre uma temperatura maior em relação à periferia do ninho, as temperaturas dos ninhos variavam gradualmente com a temperatura do ambiente. A temperatura na periferia do ninho não era diferente da temperatura na sala de laboratório. Essas observações indicam que *Melipona scutellaris* aumenta de alguma maneira ativamente na área de cria, porém, visto que havia uma correlação forte entre a temperatura na área de cria e a temperatura ambiental, essa termorregulação ativa não é tão eficiente quanto à de *Apis mellifera* que consegue manter a mesma temperatura na área de cria durante o ano inteiro. Em uma segunda etapa foi investigado o quanto a própria cria seja responsável para o observado aumento de temperatura dentro da área de cria. Discos de cria foram mantidos dentro de caixas de isopor em uma estufa a temperaturas diferentes (25°C, 27°C e 29°C). Havia um aumento pequeno de temperatura nas caixas de isopor com os discos de cria (aumento de 0,4° - 0,7°), o que indica que a cria participa sim no aumento da temperatura, porém o efeito é pequeno. Curiosamente, os discos de cria dentro da estufa funcionavam como armazenamento de calor resultando em uma temperatura estável nas caixas de isopor quando comparado a caixas controle onde a temperatura oscilava junto com as oscilações de temperatura na estufa. Estes resultados indicam que a própria cria tem um papel importante na estabilização da temperatura na área de cria.

2. Introdução

O controle do micro-clima do ninho e a socialidade das abelhas estão entrelaçadas, pois viver em grupo melhora a termorregulação do ninho, uma vez que as colônias de abelhas evoluíram para um porte com milhares de indivíduos, o controle da temperatura do ninho se tornou essencial para a vida social e para a sobrevivência da colônia (Seeley, 2006). Nas abelhas, os graus de controle da temperatura são variados, sendo que as abelhas melíferas, *Apis mellifera*, são excelentes termorreguladoras enquanto acredita-se que os meliponíneos são deficientes e muito dependentes do ambiente e/ou das estruturas do ninho (Michener, 1974; Pacheco e Kerr, 1989; Jones e Oldroyd, 2007). Para mamangavas européias, *Bombus terrestris*, Weidenmüller *et al.* (2002) relataram que o micro-clima do ninho é independente do ambiente, e assim, promove crescimento e sobrevivência das colônias. Os autores acrescem ainda que esse controle do micro-clima seja pertinente a uma combinação de design do ninho e atividades das operárias. Portanto, os padrões térmicos de uma espécie de abelhas para outra não podem ser generalizados, uma vez que há uma grande variedade de comportamentos e arquiteturas de ninhos (Loli, 2008).

A manutenção e o controle da temperatura dentro da colônia são de extrema importância para o sucesso do desenvolvimento da cria assim como para a sobrevivência de abelhas jovens e larvas, que são ectotérmicas (veja capítulo 1), dependendo diretamente da temperatura, umidade e quantidade de oxigênio do ambiente. Desse modo, a termorregulação colonial realizado pelas abelhas adultas beneficiaria as abelhas jovens (Loli, 2008; Carvalho, 2009).

As abelhas sem ferrão apresentam uma variação de temperatura considerada "adequada" para a colônia, principalmente na área de cria permitindo assim um bom desenvolvimento e uma emergência completa e perfeita dos indivíduos. Zucchi e Sakagami (1972) demonstraram a existência de regulação térmica em ninhos, principalmente na área de cria, de algumas espécies de Meliponini. Segundo Zucchi e Sakagami (1972), Michener (1974) e Roubik e Peralta (1983), as temperaturas na área dos discos de cria das abelhas sem ferrão são

geralmente maiores e mais estáveis em relação à temperatura ambiente e a temperatura da periferia do ninho (externamente à área de cria). De acordo com Engels *et al.* (1995), esta temperatura elevada seria um resultado da ativação dos músculos de vôo das operárias, como no gênero *Apis*, e a sua manutenção seria proporcionada por estruturas arquitetônicas do ninho peculiares das abelhas sem ferrão (Roubik e Peralta, 1983).

Os extremos de temperatura causam danos à termorregulação colonial e interferem na distribuição geográfica das espécies de abelhas (Heinrich e Esch, 1994). Dependendo da duração de exposição, temperaturas muito elevadas ou muito baixas podem causar a morte da cria, como também o colapso fisiológico de operárias ou de forrageiras em vôo (Heinrich, 1987; Mardan e Kevan, 2002).

Com relação às faixas de temperatura ideais e letais para abelhas sociais, dois níveis precisam ser considerados: primeiro a nível individual dos adultos, e segundo a nível colonial, visto que os adultos têm certa capacidade de regular sua temperatura corporal (heterotermia – veja capítulo 1), mas as abelhas nos estágios de larva e pupa são estritamente ectotérmicas e, conseqüentemente, sua sobrevivência depende da temperatura na área de cria.

Macieira e Proni (2004) observaram a capacidade de resistência a altas e baixas temperaturas em *Scaptotrigona postica*, onde indicaram que a faixa de tolerância térmica para essas abelhas foram entre -3,5 e 40ºC no verão e -4 a 39,5ºC no inverno. Na espécie australiana *Trigona carbonaria*, Amano *et al*. (2000) relataram uma faixa de tolerância térmica das operárias entre 9 a 46°C, parecida com a de *A. mellifera* (10-41°C) e *A. cerana japonica* (9-41°C) (Amano *et al*., 2000). Estes resultados demonstram que abelhas sem ferrão adultas conseguem sobreviver em uma faixa ampla de temperatura ambiental.

A temperatura de ninhos de *Tetragonisca angustula* foi observada na Colômbia por Torres *et al.* (2007) que utilizaram resistores (similares aos utilizados neste trabalho) em nove áreas internas da colônia, entre elas o invólucro, área de cria, área dos potes de alimento e o ducto de entrada da colônia, assim, abrangendo todo o ninho. A área de cria apresentou temperaturas mais altas na parte central do ninho (aproximadamente 30,3˚C) e a área dos potes de alimento uma temperatura média de aproximadamente 19,6˚C. As temperaturas internas de ninhos de *Melipona*

beechii também foram registradas e analisadas por Moo-Valle *et al*. (2000), onde foi observado que as temperaturas dos ninhos foram diferentes com relação a temperatura ambiente. As temperaturas dentro do ninho (área de cria e região dos potes de alimento) também apresentaram diferenças. A temperatura mínima da área de cria registrada foi de 25,4ºC, no momento em que a temperatura ambiente se encontrava a 22,9ºC. A menor temperatura ambiente registrada foi de 18,2ºC enquanto nas duas colônias utilizadas para as análises, foram observadas temperaturas de 27,1ºC e 25,6ºC. No entanto, as temperaturas das colônias não excederam 34ºC.

Verma e Ewards (1971; *apud* Macieira e Proni, 2004) observaram uma alteração na tolerância a altas e baixas temperaturas em *Apis mellifera* e *A. cerana indica*, onde as duas espécies sobreviveram por mais tempo a 50ºC no outono do que no inverno. Porém, de acordo com Tautz *et al.* (2003), em *Apis mellifera* a influência da temperatura no desenvolvimento da pupa pode alterar o comportamento do indivíduo adulto, como em sua performance da dança do requebrado (nas abelhas de mel). Mardan e Kevan (2002) verificaram que em *Apis dorsata* a temperatura considerada ótima para a emergência completa e saudável dos indivíduos é de 34ºC, sendo que a sobrevivência da cria em temperaturas críticas, ou seja, acima de 36ºC, elevou a taxa de mortalidade, mas, os indivíduos adultos da colônia sobreviveram entre as temperaturas de 26 a 36ºC. Em abelhas sem ferrão esse tema que abrange temperaturas críticas ou com algum tipo de influência experimental, ainda é desprovido de literatura, pois a maioria dos estudos foi realizada com abelhas do gênero *Apis*. Atualmente, Vollet-Neto (2010) em dados ainda não publicados (informação pessoal), tem desenvolvido indivíduos da espécie de *Scaptotrigona aff. depilis* em diferentes temperaturas, onde foi observado que em temperaturas elevadas (como 34ºC, acima da média considerada "adequada" para o desenvolvimento na colônia), os indivíduos apresentaram um desenvolvimento mais acelerado, saudável e com uma taxa de mortalidade relativamente baixa (n=250, mortalidade de aproximadamente 5%). A temperatura de ninhos, assim como a taxa de dióxido de carbono (CO_2) na redução artificial de ventilação em *Bombus*, foi observada por Weidenmüller *et al.* (2002) onde foram verificadas temperaturas na

área de cria de 32ºC, sendo que acima de 35ºC a condição de temperatura é considerada letal para a cria (Himmer, 1927).

Além dos tipos de mecanismos utilizados para a regulação da temperatura (passiva e ativa) das abelhas determinados por Jones e Oldroyd (2007) e já citados no capítulo anterior, Carvalho (2009) atribui que os mecanismos de termorregulação incluem mecanismos comportamentais (como controle do fluxo de calor dentro da colônia e ajustes na postura de vôo), anatômicos (como distribuição de pêlos) e fisiológicos (como controle de perda e ganho de calor). Carvalho (2009) acrescenta ainda que além desses fatores, outros como tamanho corpóreo e tipo de nidificação podem influenciar na termorregulação. Jones e Oldroyd (2007) descrevem que é de extrema importância a escolha do local de nidificação para o mecanismo de controle da temperatura. Uma peculiaridade das abelhas de clima tropical é a escolha de um local de nidificação com cavidades de volume menor (com exceção de colônias muito populosas como as pertencentes ao gênero *Trigona* ou de ninhos externos), pois estas não necessitam de armazenar grande quantidade de mel para a sobrevivência no inverno, quando comparadas com as abelhas *Apis mellifera*. A escolha do local de nidificação também é determinada por meio de outras características como a distância da colônia mãe (a fim de reduzir a disputa entre os recursos disponíveis naquela área) e altura do solo, entre outras (Winston, 2003; Seeley, 2006). Além disso, segundo Roubik e Peralta (1983), Monteiro (2000) e Jones e Oldroyd (2007) o responsável por conservar a temperatura do ninho é uma estrutura característica das abelhas sem ferrão, denominada invólucro (que envolve a área de cria) ajudando a reter calor para os favos. Zucchi e Sakagami (1972) observaram que a homeostase termal pode ser atribuída, em parte, por meio das estruturas do próprio ninho como invólucro, batume, escutelo entre outros, que garantem bom isolamento térmico, por insulação ou até mesmo pela localização no interior de troncos, termiteiros e subterrâneos.

Mecanismos de isolamento não é uma peculiaridade de abelhas sem ferrão. Em ninhos de vespa *Polybia occidentalis*, as células vazias (sem uso) protegem a cria das alterações de temperatura, principalmente no inverno. Além disso, essas células auxiliam na manutenção de temperaturas altas, atuando como um isolante térmico (Hozumi *et al.*, 2008). Uma característica muito utilizada pelas

formigas para manter a cria em condições "adequadas" de temperatura, umidade entre outros, é a mudança dentro do ninho, ou seja, mudança de local das pupas (já que não existem favos) a fim de condicionar locais melhores para o desenvolvimento (Höllodobler e Wilson, 1990).

O controle da temperatura e da umidade relativa na região dos discos de cria nas abelhas é motivo de relevância para o sucesso do desenvolvimento da cria e assim, para a sobrevivência da colônia (Loli, 2008). A organização social dos insetos distingue-se pela vantagem e desafio da homeostase da colônia, incluindo a termorregulação. No entanto, entre todos os insetos sociais, as abelhas são os organismos que conseguem atingir o máximo da homeostase do ninho (Winston, 2003).

2.1. Objetivos

Neste capítulo foi investigada a temperatura dentro do ninho e a termorregulação colonial de *Melipona scutellaris*. Os objetivos específicos foram:

❖ Registrar as temperaturas internas das colônias de *M. scutellaris* em duas localidades distintas, na área de cria (dentro do invólucro) e na periferia do ninho (fora do invólucro).

❖ Registrar as temperaturas externas (ambiente, sala) a essas colônias para investigar correlações possíveis entre a temperatura colonial e a temperatura ambiental.

❖ Analisar estruturas que possam auxiliar na conservação de calor na área de cria.

2.2. Material e Métodos

Os experimentos foram realizados no laboratório de Ecologia e Invertebrados da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, campus da Universidade de São Paulo. Este trabalho foi vinculado ao projeto Jovem Pesquisador FAPESP 2006/ 50809-7 com o título "Como achar uma flor – a biologia sensorial das abelhas sem ferrão", e atualmente é parte integrante de uma nova linha de pesquisa na Universidade Federal Rural do Semi-Árido (Mossoró – RN). Foram utilizadas duas colônias de *Melipona scutellaris* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) mantidas em caixas de madeira (24 X 42,5 X 21 centímetros), com um vidro na parte superior. Na caixa também existia um tubo de plástico que permitia a passagem das abelhas para o campo. Entre a entrada e a colônia havia uma pequena caixa de 10 centímetros de comprimento por cinco centímetros de largura para observações da entrada e saída de forrageiras e para a inserção de indivíduos desenvolvidos em estufa devidamente marcados (veja capítulo 3).

2.2.1. Registro das temperaturas

Foi identificada a temperatura da colônia em condições "normais", ou seja, a temperatura registrada na colônia sem influência experimental, para isso, foi utilizada, na região do favo (dentro do invólucro) e na colônia denominada "periferia do ninho" (fora do invólucro), resistores (termômetros no interior do ninho) conectados a data loggers (Minipa, MT-600, RS-232) que registrou a cada 15 minutos a temperatura da colônia durante os períodos de verão (março) e inverno (maio a julho). As colônias foram isoladas com isopor de três centímetros e havia uma caixa com as mesmas condições das demais, porém vazia, para controle, onde foram realizados registros no período do verão. Foram utilizadas duas colônias, com dois sensores em cada uma delas, e um sensor na caixa controle, totalizando cinco

sensores (Figura 1) (Zucchi e Sakagami, 1972; Roubik e Peralta, 1983; Torres *et al.*, 2007).

Para o registro das temperaturas externas, como a temperatura da sala onde estavam localizadas as colônias e a temperatura do ambiente, foi utilizada uma estação meteorológica instalada no laboratório no campus da USP (Oregon Scientific, WMR 928), onde foi possível captar também a cada 15 minutos todas as temperaturas registradas nos dias em que foram feitos os experimentos, ou seja, nos períodos de verão e inverno.

A seguir, os dados foram analisados por meio do programa SigmaPlot 10.0 para adequação dos dados e gráficos e SigmaStat 3.5 para as análises estatísticas.

Figura 1. Colônia de *Melipona scutellaris*. (A) Colônia isolada externamente com isopor e com os sensores conectados à data logger. (B) Termômetros: na área de cria (dentro do invólucro) e na periferia do ninho (fora do invólucro).

2.2.2. Termorregulação

Para investigar a importância da própria cria para a manutenção da temperatura e para a possível produção de calor na área de cria, quatro favos em estágio de pupa (retirados da colônia) foram mantidos por um a dois dias em uma estufa incubadora B.O.D. (Figura 2) em três diferentes temperaturas (25ºC, 27ºC e 29ºC). Os favos foram colocados dentro de caixas de isopor. As temperaturas dentro

da caixa de isopor e ao redor dela (dentro da estufa) foram registradas a cada 5 minutos usando data loggers (Minipa, MT-600, RS-232).

Em uma segunda etapa, foi investigada a importância da cera para a termorregulação na área de cria. Para avaliar a quantidade de cera a ser colocada dentro da estufa, foi pesada, retirando-se um pedaço de favo (cerca de 6 células) onde foi realizada a morte e limpeza da cria, utilizando pinça e alfinete entomológico. Esse procedimento foi realizado cuidadosamente para não afetar as células de cera. Essas células foram pesadas em uma balança de precisão (Marte, AL 500) e assim multiplicadas pelo número de células dos favos que foram incubados anteriormente, desse modo, foi colocada na estufa a quantidade de cera equivalente a quantidade de cera dos favos, sem a cria. Como nos experimentos com os favos, a cera foi colocada dentro de uma caixa de isopor e mantida por um a dois dias dentro da estufa. A temperatura foi registrada dentro e fora da caixa de isopor a cada 5 minutos. Nos dois experimentos (favos e cera) havia uma caixa controle dentro da estufa, uma caixa de isopor vazia, para controlar possíveis efeitos da caixa de isopor.

A análise dos dados dos testes de termorregulação foi avaliada por meio do programa SigmaPlot 10.0 e SigmaStat 3.5, para gráficos e análises estatísticas, respectivamente, observados abaixo.

Figura 2. Estufa Incubadora B.O.D. utilizada para o desenvolvimento dos favos em condições desfavoráveis.

2.3. Resultados

2.3.1. Registro das temperaturas

Variação da temperatura dentro da caixa controle

A fim de verificar o efeito de isolamento térmico fornecido pela caixa isolada usada durante os experimentos, foi feito um teste controle. Entre o dia 13/03/2009 e o dia 29/03/2009 foi investigado a variação da temperatura dentro das caixas experimentais (material, dimensões e isolamento idêntico às caixas usadas como colméias para as abelhas) de acordo com variações na temperatura ambiental sem possíveis modificações causadas pelas abelhas.

Ao longo do dia, a temperatura ambiental variou entre 20,1°C e 28,2°C (temperatura média: 23,0°C), atingindo seu mínimo por volta das 6h15min e o

máximo por volta das 15h00min (Figura 3; Tabela 1). As temperaturas registradas na sala e na caixa controle também oscilaram ao longo do dia. Nestes dois casos, a amplitude da oscilação foi menor quando comparada com a do ambiente e foi observado um atraso temporal dos mínimos e máximos das oscilações. Na sala do laboratório (onde foram mantidas as colônias), a temperatura mínima (24,0°C) foi registrada às 8h30min e a temperatura máxima (26,6°C) às 16h15min (Figura 3; Tabela 1). Na caixa controle, o atraso temporal foi ainda maior. As temperaturas mínimas (24,7°C) foram registradas às 10h00min, e as temperaturas máximas (26,1°C) às 21h15min (Figura 3, Tabela 1).

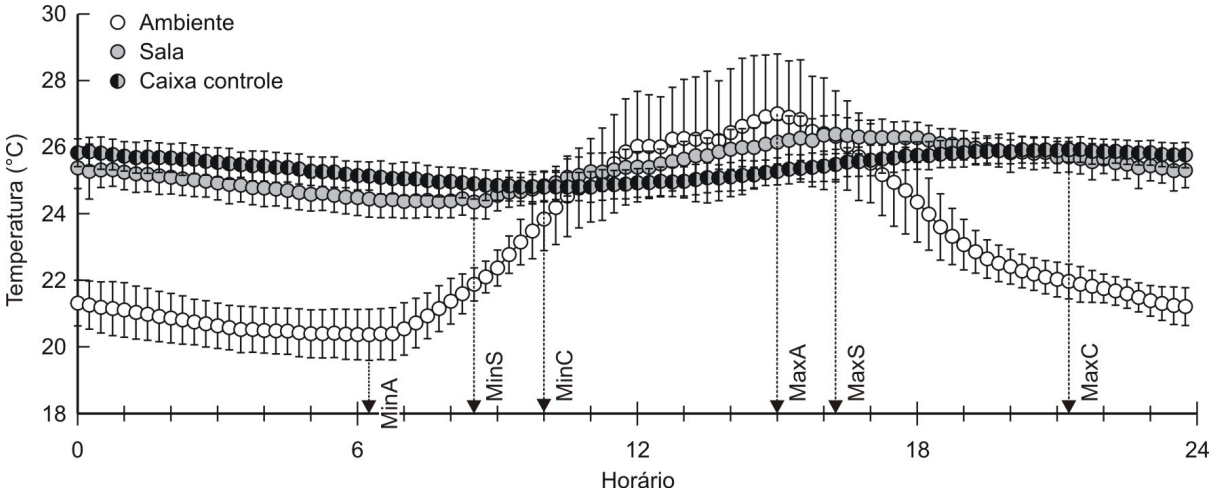

Figura 3. Variação da temperatura diária no ambiente, na sala do laboratório e na caixa controle (sem abelhas). Setas indicam os horários médios das temperaturas mínimas (Min) e máximas (Max). A: ambiente; S: sala do laboratório; C: controle.

A temperatura dentro da caixa controle (temperatura média, temperatura mínima, temperatura máxima) foi semelhante às temperaturas registradas dentro da sala de laboratório (Figuras 4 e 5; Tabela 1). Não houve diferença estatística entre as temperaturas médias registradas na caixa controle (25,4 ± 0,4°C) e as temperaturas médias registradas na sala (25,4 ± 0,4°C) (One Way ANOVA: $P < 0{,}001$; Post-hoc Tukey test, Controle × Sala: $P = 0{,}932$; Figura 5; Tabela 1). Porém, as temperaturas médias registradas na sala e na caixa controle foram significativamente diferentes das temperaturas ambientais (23,0 ± 0,4°C) (One-Way ANOVA: $P < 0{,}001$; Post-hoc

Tukey test; Controle × Ambiente $P < 0,001$; Sala × Ambiente: $P < 0,001$; Figuras 4 e 5; Tabela 1).

Tabela 1. Temperaturas registradas (médias ± desvio padrão) e horários dos picos de temperatura durante o experimento controle. CV (coeficiente de variação) indica a variação diária de temperatura (CV = DP*100/média). Letras sobrescritas diferentes (a, b, c) indicam grupos de dados significativamente diferentes (Tukey test, $P \leq 0,05$). N = número de dias registrados.

	Temperatura				Horário do		
	Média (°C)	Mínima (°C)	Máxima (°C)	CV (%)	Mínimo	Máximo	N
Ambiente	23,0 ± 0,4[a]	20,1 ± 0,6[a]	28,2 ± 1,3[a]	10,6 ± 2,6[a]	06h15min	15h00min	17
Sala	25,4 ± 0,4[b]	24,0 ± 0,6[b]	26,6 ± 0,5[b]	2,8 ± 0,8[b]	08h30min	16h15min	17
Caixa controle	25,4 ± 0,4[b]	24,7 ± 0,4[c]	26,1 ± 0,4[b]	1,6 ± 0,4[b]	10h00min	21h15min	17
One-way ANOVA (F; *P*)	196,9; < 0.001	337,7; < 0,001		165,4; < 0,001			
Kruskal-Wallis ANOVA (H; *P*)			22,7; < 0,001				

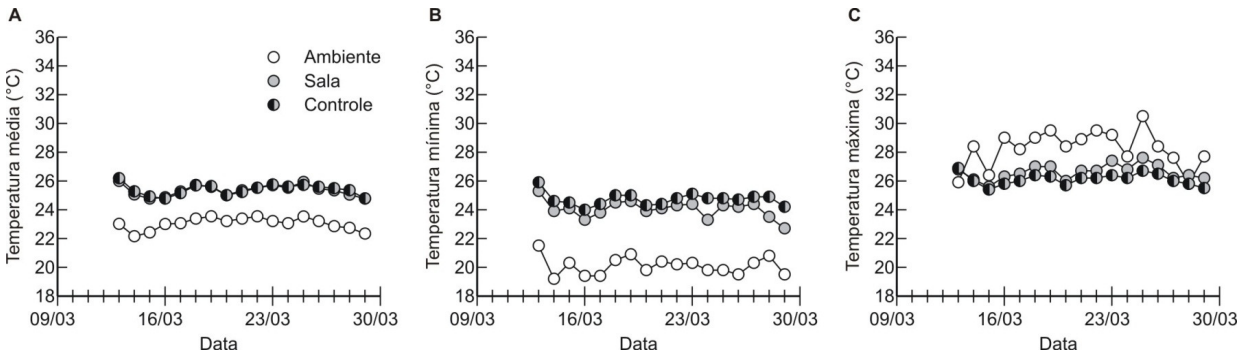

Figura 4. Variação da temperatura no período experimental (13/03/2009-29/03/2009). As temperaturas médias (A), mínimas (B) e máximas (C) registradas dentro da caixa controle eram semelhantes às temperaturas registradas na sala do laboratório. Observe que as temperaturas dentro da sala e dentro da caixa controle variavam de acordo com variações da temperatura ambiental.

As variações diárias da temperatura dentro da caixa controle (1,6 ± 0,4%) e da sala (2,8 ± 0,8%) foram significativamente menores do que a variação da temperatura ambiental (10,6 ± 2,6%) (One-way ANOVA: $P < 0,001$; Post-hoc Tukey test; Controle × Ambiente $P < 0,001$; Sala × Ambiente: $P < 0,001$; Controle × Sala: $P = 0,106$; Figura 5).

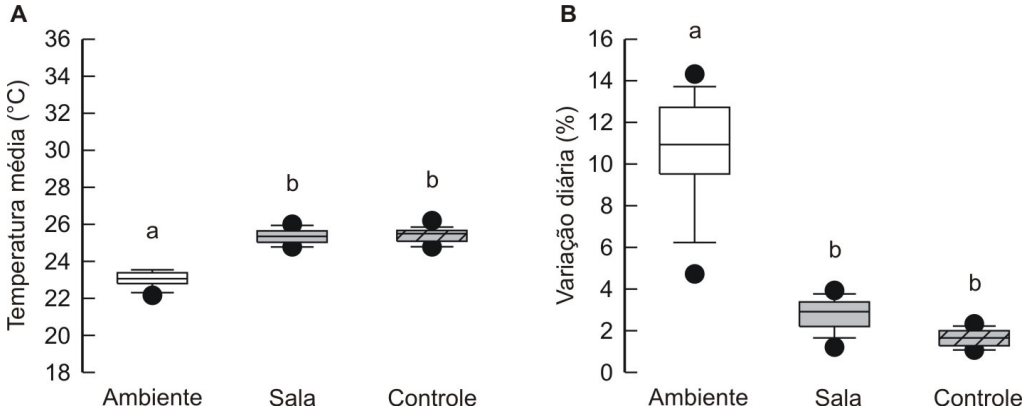

Figura 5. Comparação das temperaturas médias (A) e das variações diárias de temperatura (B) do experimento controle. A linha central da caixa dos *boxplot* marca a mediana, a parte inferior da caixa é delimitada pelo quartil inferior e a parte superior pelo quartil superior. As hastes delimitam a distribuição de 95% dos dados. Os valores inferiores e superiores (*outliers*) às 95% são representados individualmente. Letras sobrescritas diferentes (a, b) indicam grupos de dados significativamente diferentes (Tukey test, $P \leq 0,05$).

A temperatura dentro da sala do laboratório dependia significativamente da temperatura ambiental (Regressão linear: $R^2 = 0,42$; $P = 0,003$; Figura 6). A dependência da temperatura média registrada na caixa controle da temperatura ambiental foi menos pronunciada, mas estatisticamente significante (Regressão linear: $R^2 = 0,18$; $P = 0,049$; Figura 6). Houve, porém, uma forte dependência da temperatura média dentro da caixa controle com relação à temperatura média registrada dentro da sala (Regressão linear: $R^2 = 0,87$; $P < 0,001$; Figura 6).

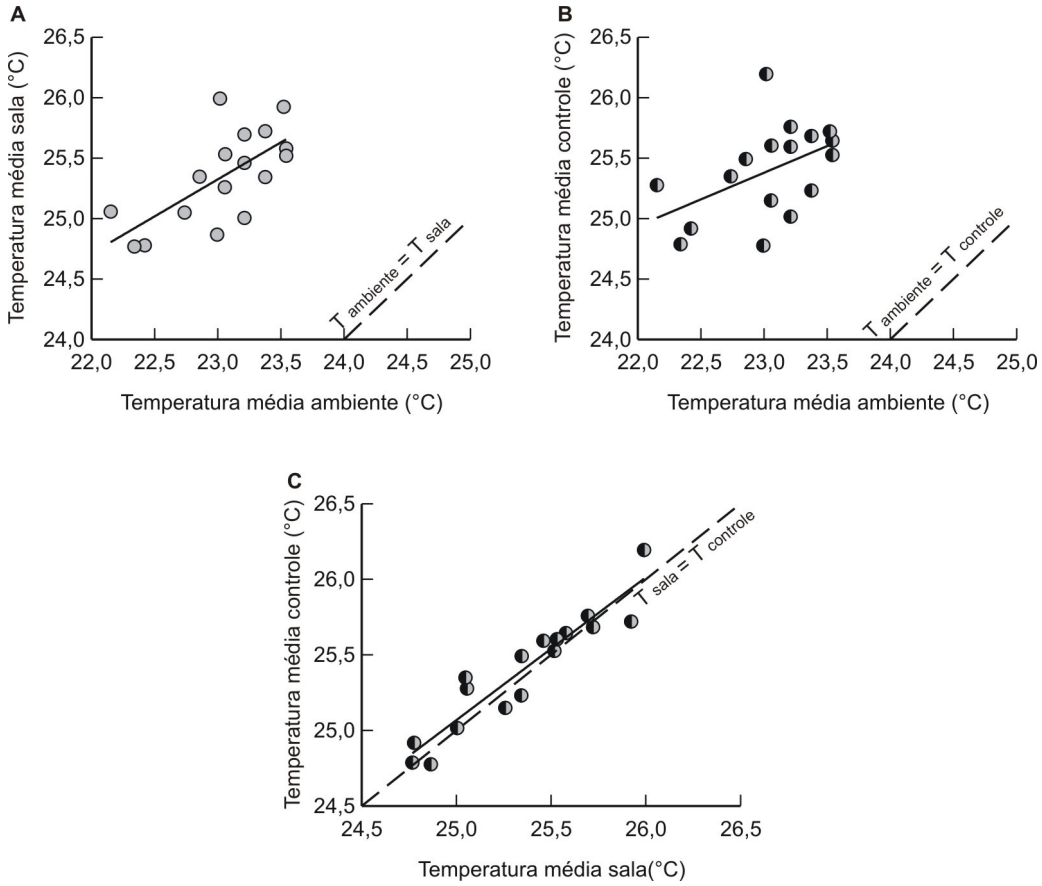

Figura 6. Correlações entre as temperaturas registradas. Houve uma dependência das temperaturas médias registradas na sala (A) e na caixa controle (B) das temperaturas ambientais. As temperaturas médias registradas dentro da caixa controle dependiam altamente das temperaturas da sala de laboratório (C). As linhas inteiras nos gráficos indicam as regressões lineares (veja texto para mais informações).

Desse modo, conclui-se que sem abelhas e/ou colônias, as caixas de madeira isoladas com uma camada de isopor adotavam a temperatura do ambiente que as envolveu, neste caso a temperatura do laboratório. Por outro lado, a temperatura do laboratório, foi influenciada pela temperatura externa ambiental. Portanto, observou-se certa dependência da temperatura registrada na caixa controle com relação à temperatura ambiental. O isolamento fornecido pelo prédio fez com que a temperatura dentro da sala variasse menos do que a temperatura ambiental e também resultou em um atraso da oscilação da temperatura entre uma a duas horas. O isolamento adicional da caixa controle amorteceu as oscilações diárias ainda mais, porém este efeito não foi estatisticamente significante.

Período experimental do verão

Tabela 2. Temperaturas registradas (médias ± desvio padrão) e horários dos picos de temperatura durante o período experimental do verão. CV (coeficiente de variação) indica variação diária da temperatura (CV = DP*100/média). Letras sobrescritas distintas (a-f) indicam grupos de dados significativamente diferentes (Tukey test, $P \leq 0,05$). N = número de dias registrados.

	Temperatura				Horário do		
	Média (°C)	Mínima (°C)	Máxima (°C)	CV (%)	Mínimo	Máximo	N
Ambiente	$23,0 \pm 0,4^{a}$	$20,1 \pm 0,6^{a}$	$28,2 \pm 1,3^{a}$	$10,6 \pm 2,6^{a}$	06h15min	15h00min	17
Sala	$25,4 \pm 0,4^{b}$	$24,0 \pm 0,6^{b}$	$26,6 \pm 0,5^{b}$	$2,8 \pm 0,8^{b}$	08h30min	16h15min	17
C1-Periferia	$26,2 \pm 0,3^{c}$	$25,6 \pm 0,4^{c}$	$26,9 \pm 0,4^{a}$	$1,3 \pm 0,3^{c}$	10h15min	21h30min	17
C1-Área de cria	$28,9 \pm 0,4^{d}$	$28,3 \pm 0,4^{d}$	$29,8 \pm 0,4^{cd}$	$1,5 \pm 0,3^{c}$	09h30min	20h45min	17
C2-Periferia	$27,4 \pm 0,4^{e}$	$26,8 \pm 0,4^{e}$	$28,1 \pm 0,5^{ad}$	$1,3 \pm 0,4^{c}$	10h15min	20h15min	17
C2-Área de cria	$30,7 \pm 0,3^{f}$	$30,0 \pm 0,3^{f}$	$31,7 \pm 0,3^{c}$	$1,5 \pm 0,4^{c}$	08h45min	20h45min	17
One-way ANOVA (F; *P*)	913,4; < 0,001	923,4; < 0,001		180,4; < 0,001			
Kruskal-Wallis ANOVA (H; *P*)			84,0; < 0,001				

No verão, foram coletados dados onde foi possível a comparação entre as temperaturas observadas nas colônias utilizadas e as temperaturas externas (ambiente e sala), por meio de uma média entre os dias (apresentado inicialmente na tabela 2). A temperatura exterior (ambiente) apresentou média de 23,0ºC±0,4, com um intenso aumento entre as 8 horas e às 16 horas. A temperatura da sala apresentou média de 25,4±0,4. A periferia do ninho apresentou média de 26,2ºC±0,3 para a colônia 1 (C1) e 27,4ºC±0,4 para a colônia 2 (C2), onde foi observada na periferia do ninho a ocorrência de temperaturas amenas quando comparadas com as temperaturas da área de cria. Todas as médias podem ser

observadas na figura 7 assim como na tabela 2. As temperaturas das periferias do ninho foram entre 25,5ºC a 28ºC. A média das áreas de cria foram 28,9ºC±0,4 para C1 e 30,7ºC±0,3 para C2, onde as temperaturas das crias foram entre 28ºC a 32ºC, portanto, a área de cria mantém uma temperatura mais elevada com relação às demais.

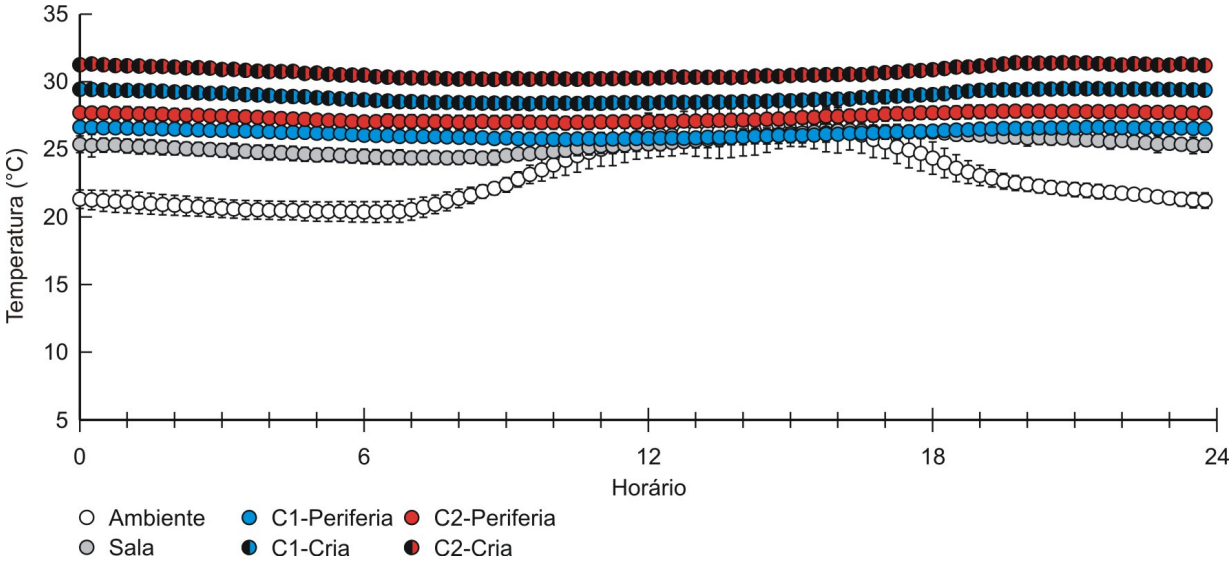

Figura 7. Variação da temperatura diária durante o período experimental do verão entre as médias das temperaturas observadas no período de 13/03/2009 a 29/03/2009. A colocação C1 e C2 são as colônias denominadas colônia (1) (azul) e colônia (2) (vermelho). Em cada colônia havia dois sensores de temperatura, um na periferia do ninho e outro na área de cria. As temperaturas do ambiente e da sala do laboratório também foram registradas.

As temperaturas médias, máximas e mínimas observadas e registradas, no período de verão, estão representadas na figura 8. Foi possível verificar uma comparação e uma variação diária nas temperaturas do ambiente, da sala e das colônias demonstradas na figura 9. Além disso, foi demonstrado na tabela 2 que houve variação quando comparado com todas as temperaturas registradas (colônias e ambiente externo), onde foi apresentado um coeficiente de variação para o ambiente externo de 10,6%±2,6. Para a temperatura da sala o coeficiente de variação foi de 2,8%±0,8. Além disso, foi observado o coeficiente de variação para C1 que apresentou média de 1,5%±0,3 para a área de cria e 1,3%±0,3 para a periferia do ninho. Quanto à variação da C2, apresentou média de 1,5%±0,4 para a área de cria e 1,3%±0,4 para a periferia do ninho.

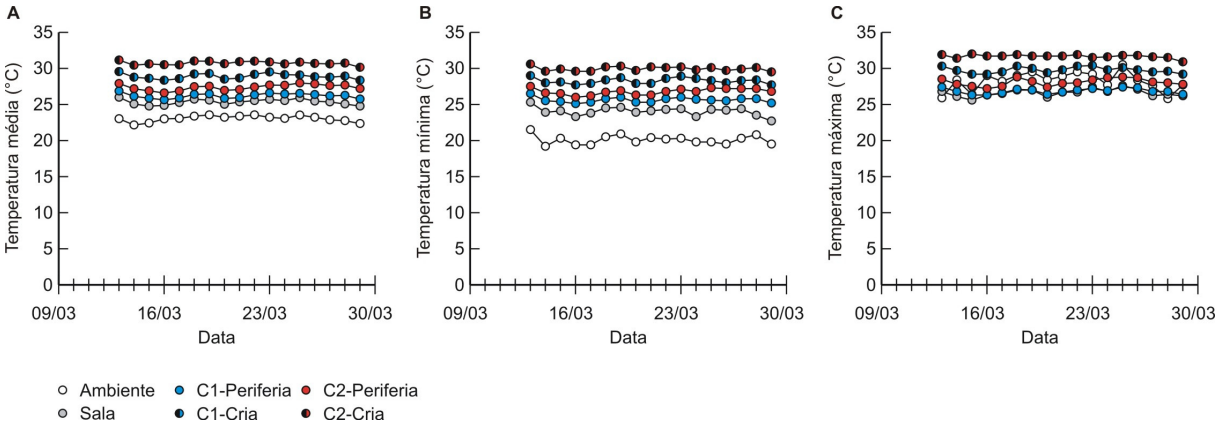

Figura 8. Variação da temperatura no verão (período experimental: 13/03/2009 - 29/03/2009). Estão apresentadas as temperaturas médias (A), mínimas (B) e máximas (C) registradas no ambiente, na sala do laboratório, e nas duas colônias experimentais (C1, C2). Em cada colônia havia dois sensores de temperatura, um na periferia da colônia, o outro na área de cria. Observe que as temperaturas dentro da sala e dentro das colônias variavam de acordo com variações da temperatura ambiental.

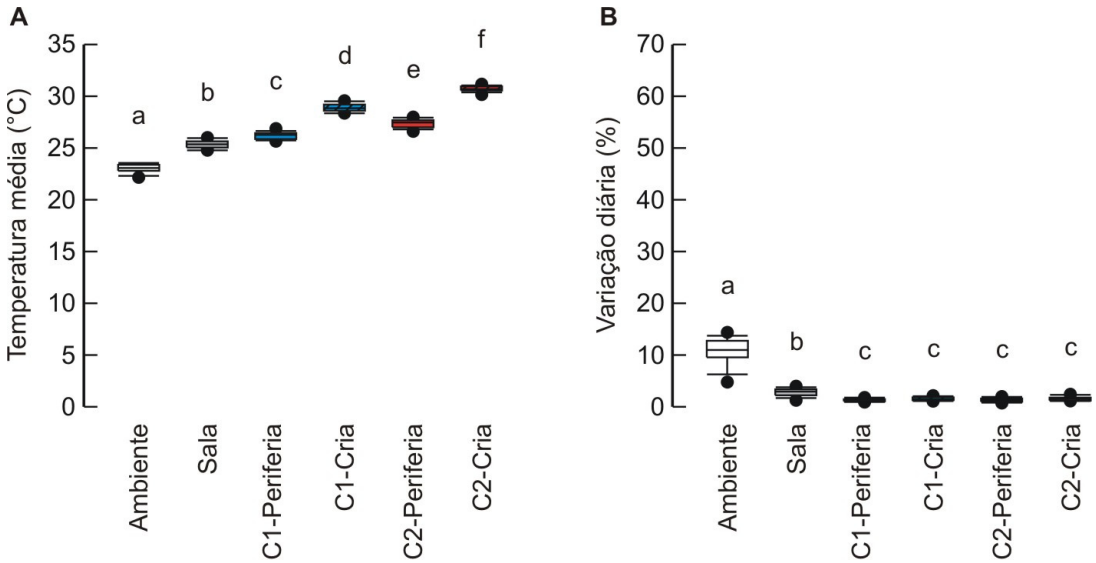

Figura 9. Comparação das temperaturas médias (A) e das variações diárias de temperatura (B) no período de verão. A linha central da caixa dos *boxplot* marca a mediana, a parte inferior da caixa é delimitada pelo quartil inferior e a parte superior pelo quartil superior. As hastes delimitam a distribuição de 95% dos dados. Os valores inferiores e superiores (*outliers*) às 95% são representados individualmente. Letras sobrescritas diferentes (a-f) indicam grupos de dados significativamente diferentes (Tukey test, $P \leq 0,05$).

Período experimental do inverno

No inverno, foram coletados dados no período de Junho e Julho, onde foi possível observar dias frios, como também picos de aumento da temperatura ambiente, demonstrado a seguir na figura 10.

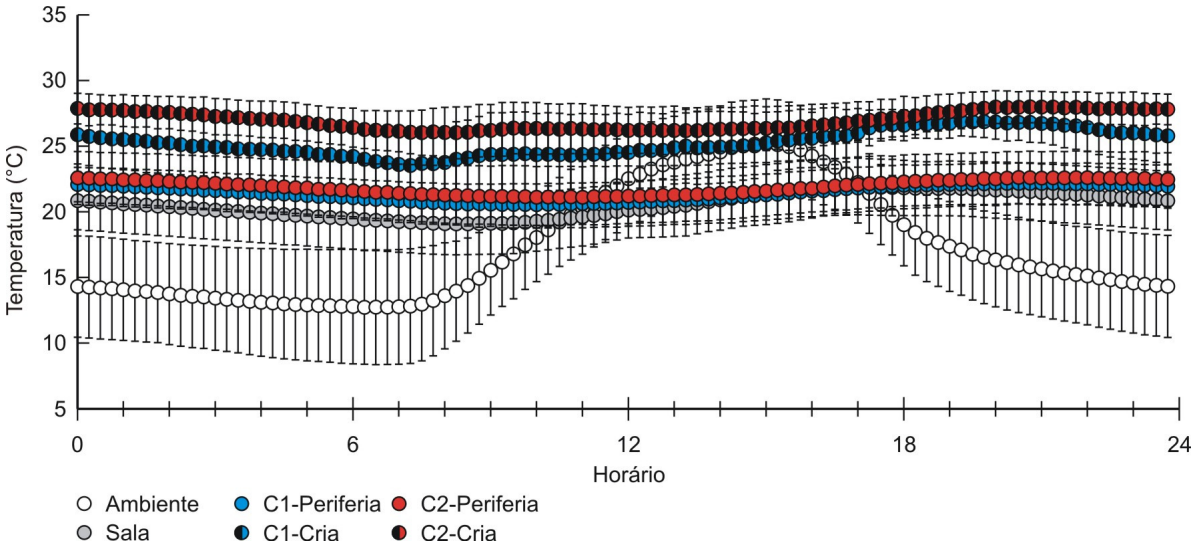

Figura 10. Variação da temperatura diária durante o período experimental de inverno (29/05/2009-15/06/2009 e 07/07/2009-26/07/2009). Temperaturas foram registradas no ambiente, na sala de laboratório e nas colônias (C1, C2). Em cada colônia havia dois sensores de temperatura, um na periferia da colônia, o outro na área de cria.

Foram observadas e registradas as temperaturas das colônias 1 e 2 (C1 e C2) a cada 15 minutos (comparadas por meio de médias diárias entre os dias evidenciados na Figuras 10, 11 e 12; Tabela 3) nos mesmos locais que no período do verão: área de cria e periferia do ninho. Foram registradas também as temperaturas da sala e do ambiente externo. A temperatura controle não foi analisada no período de inverno, pois no período de verão a variação da temperatura (Δ ºC) do ambiente da sala foi semelhante ou proporcional a variação da temperatura controle. As médias, mínimas e máximas de cada temperatura podem ser observadas na Tabela 3, assim como na figura 11.

Tabela 3. Temperaturas registradas (médias ± desvio padrão) e horários dos picos de temperatura durante o período experimental de inverno. CV (coeficiente de variação) indica a variação diária de temperatura (CV = DP*100/média). Letras sobrescritas distintas (a-f) indicam grupos de dados significativamente diferentes (Dunn's test, $P \leq 0,05$). N = número de dias registrados. Temperaturas em ºC e coeficiente de variação em %.

	Temperatura				Horário do		
	Média (°C)	Mínima (°C)	Máxima (°C)	CV (%)	Mínimo	Máximo	N
Ambiente	17,3 ± 3,1[a]	11,6 ± 4,1[a]	25,6 ± 3,4[a]	27,5 ± 13,0[a]	6h15min	15h00min	36
Sala	20,5 ± 2,1[b]	18,9 ± 2,3[b]	22,4 ± 1,9[b]	5,7 ± 2,5[b]	8h15min	6h45min	36
C1-Periferia	21,4 ± 1,4[b]	20,3 ± 1,6[bd]	22,7 ± 1,2[b]	3,5 ± 1,5[c]	10h00min	20h30min	29
C1-Área de cria	25,2 ± 2,0[c]	22,8 ± 2,4[cd]	28,0 ± 3,4[c]	5,9 ± 3,4[bc]	07h15min	19h15min	29
C2-Periferia	21,9 ± 2,1[c]	20,8 ± 2,3[bd]	23,1 ± 1,9[ab]	3,3 ± 1,4[c]	10h00min	20h30min	24
C2-Área de cria	26,9 ± 1,4[c]	25,4 ± 1,9[c]	28,4 ± 1,1[c]	3,1 ± 1,3[c]	08h15min	20h45min	24
Kruskal-Wallis ANOVA (H; *P*)	127,5; < 0,001	131,4; < 0,001	107,0; < 0,001	103,5; < 0,001			

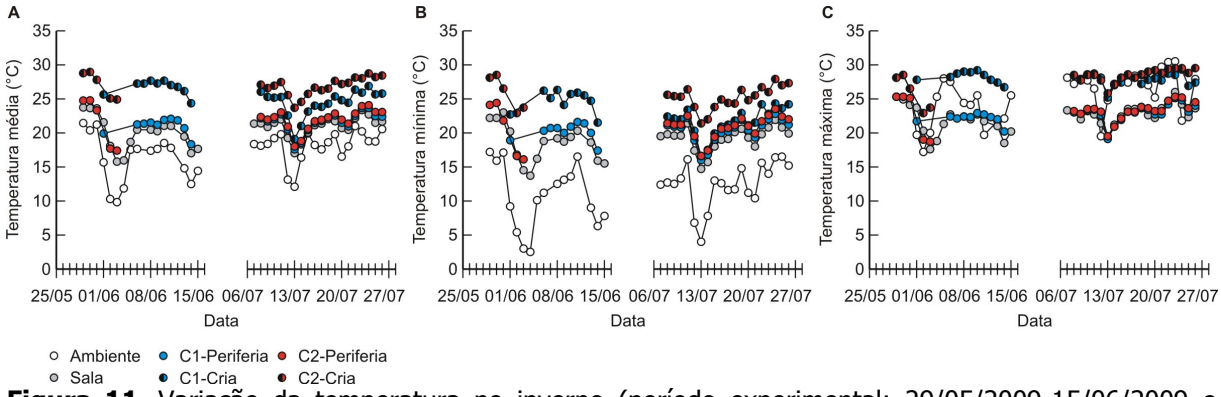

Figura 11. Variação da temperatura no inverno (período experimental: 29/05/2009-15/06/2009 e 07/07/2009-26/07/2009). São demonstradas as temperaturas médias (A), mínimas (B) e máximas (C) registradas no ambiente, na sala do laboratório, e nas duas colônias experimentais (C1, C2). Em cada colônia havia dois sensores de temperatura, um na periferia da colônia, o outro na área de cria. Observe que as temperaturas dentro da sala e dentro das colônias variavam de acordo com variações da temperatura ambiental.

Portanto, foi possível observar que mesmo no inverno a temperatura da área de cria continuou maior que a temperatura da periferia do ninho. A temperatura externa (ambiente) apresentou média de 17,3ºC±3,1 (Figura 10; Tabela 3) e a temperatura média da sala foi de 20,5ºC±2,1. Na periferia do ninho foram encontradas as temperaturas médias de 21,4ºC±1,4 para C1 e 21,9ºC±2,1 para C2 e a média nas áreas de cria foram 25,2ºC±2,0 para C1 e 26,9ºC±1,4 para C2. No período do inverno, foi observado que o coeficiente de variação foi maior, isto é, a variação entre as temperaturas registradas foi maior (veja tabela 3), demonstrando 27,5%±13,0 para o ambiente externo. A sala onde permaneciam as colônias apresentou um coeficiente de variação de 5,7%±2,5, enquanto o coeficiente de variação para C1 foi de 5,9%±3,4 para a área de cria e 3,5%±1,5 para a periferia do ninho. Foi observado também o coeficiente de variação para C2 que apresentou 3,1%±1,3 para a área de cria e 3,3%±1,4 para a periferia do ninho. Também pode ser observado que mesmo a temperatura da área de cria sendo maior, esta temperatura caiu em comparação com os mesmos dados do período de verão.

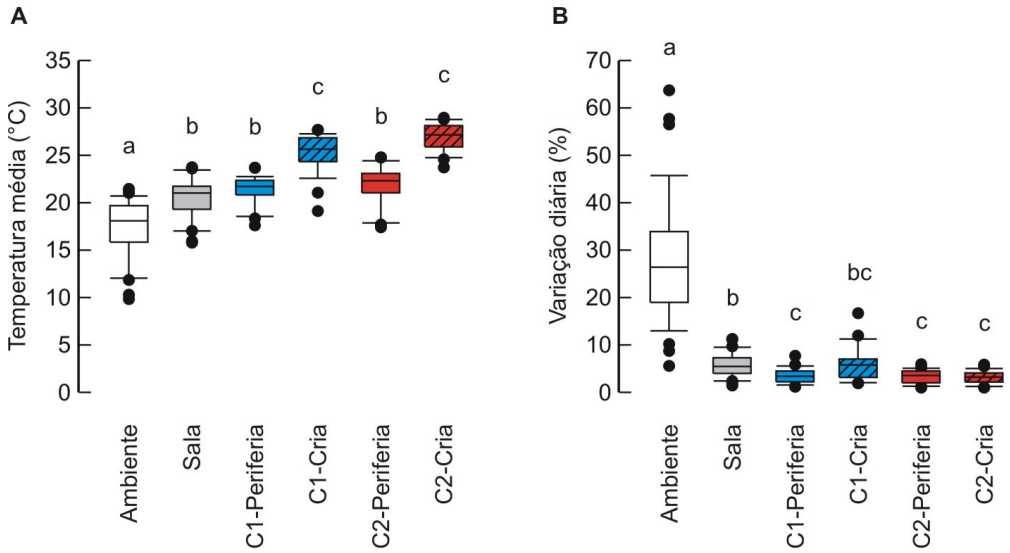

Figura 12. Comparação das temperaturas médias (A) e das variações diárias de temperatura (B) no período experimental de inverno. A linha central da caixa dos *boxplot* marca a mediana, a parte inferior da caixa é delimitada pelo quartil inferior e a parte superior pelo quartil superior. As hastes delimitam a distribuição de 95% dos dados. Os valores inferiores e superiores (*outliers*) às 95% são representados individualmente. Letras sobrescritas diferentes (a-f) indicam grupos de dados significativamente diferentes (Dunn's test, $P \leq 0,05$).

2.3.2. Correlações entre as temperaturas registradas

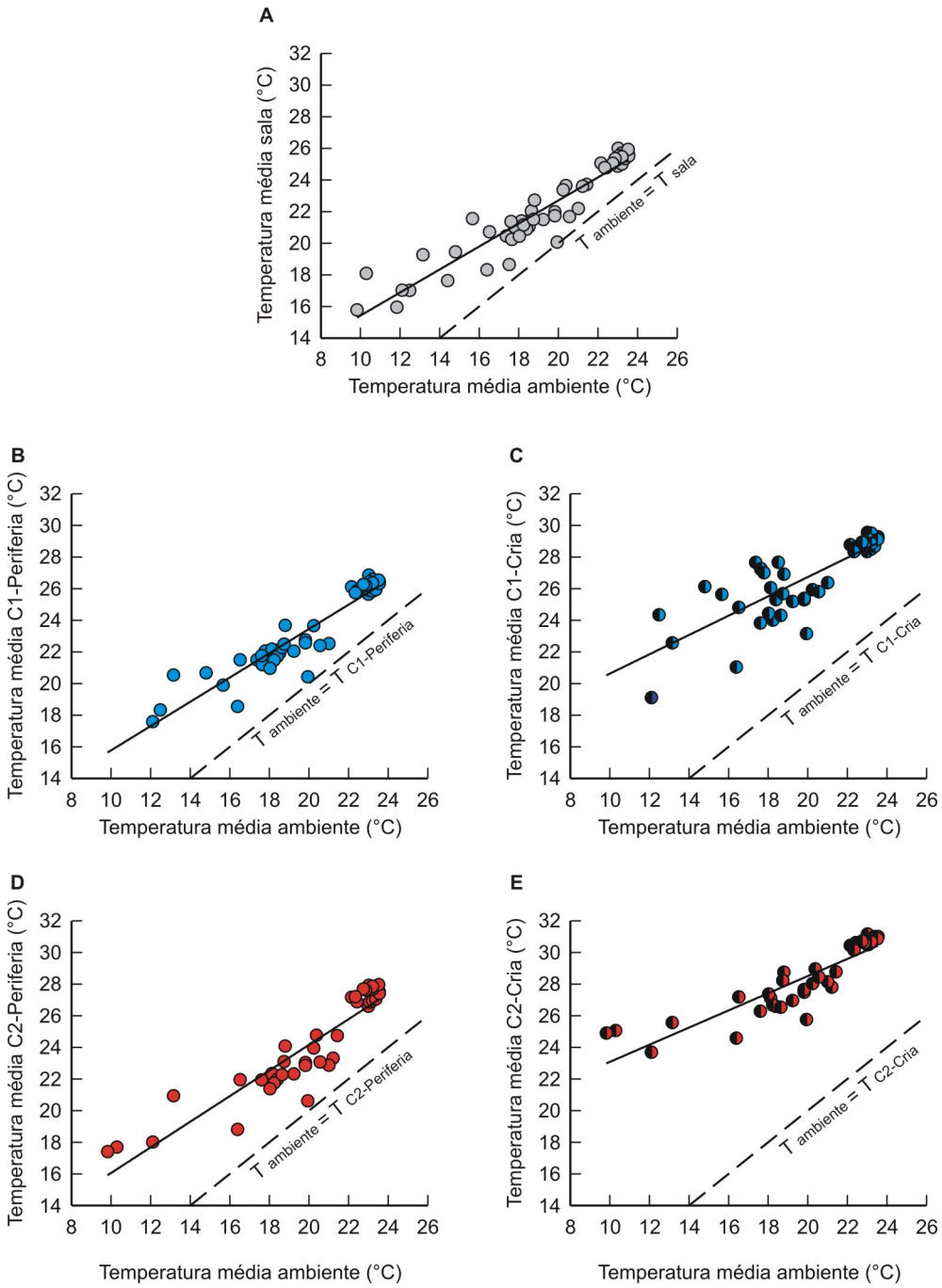

Figura 13. Influência da temperatura ambiente às temperaturas registradas na sala (A) e nas colônias (B-E). A temperatura do ambiente influenciava a temperatura diária média da sala de laboratório (A), e das colônias C1 e C2 (Regressão linear: Sala: $R^2 = 0,90$; $P < 0,001$; C1-Periferia: $R^2 = 0,87$; $P < 0,001$; C1-Cria: $R^2 = 0,65$; $P < 0,001$; C2-Periferia: $R^2 = 0,85$; $P < 0,001$; C2-Cria: $R^2 = 0,87$; $P < 0,001$). As linhas inteiras indicam as regressões lineares.

Para determinar a influência da temperatura ambiental sobre a temperatura das colônias foram feitos regressões lineares usando a temperatura do ambiente como variável independente.

Foi observado que nos dois períodos de experimento (verão e inverno) a temperatura ambiente influenciava as demais temperaturas (sala e colônias), ou seja, as temperaturas atingidas na sala (onde foram mantidas as colônias) e nas colônias (área de cria e periferia do ninho) variavam de acordo com a variação da temperatura ambiente (Figura 13). Em todos ambientes (sala, periferia da colônia e área de cria), a temperatura sempre foi mais alta comparado com a temperatura do ambiente (veja também Figura 9 e 12).

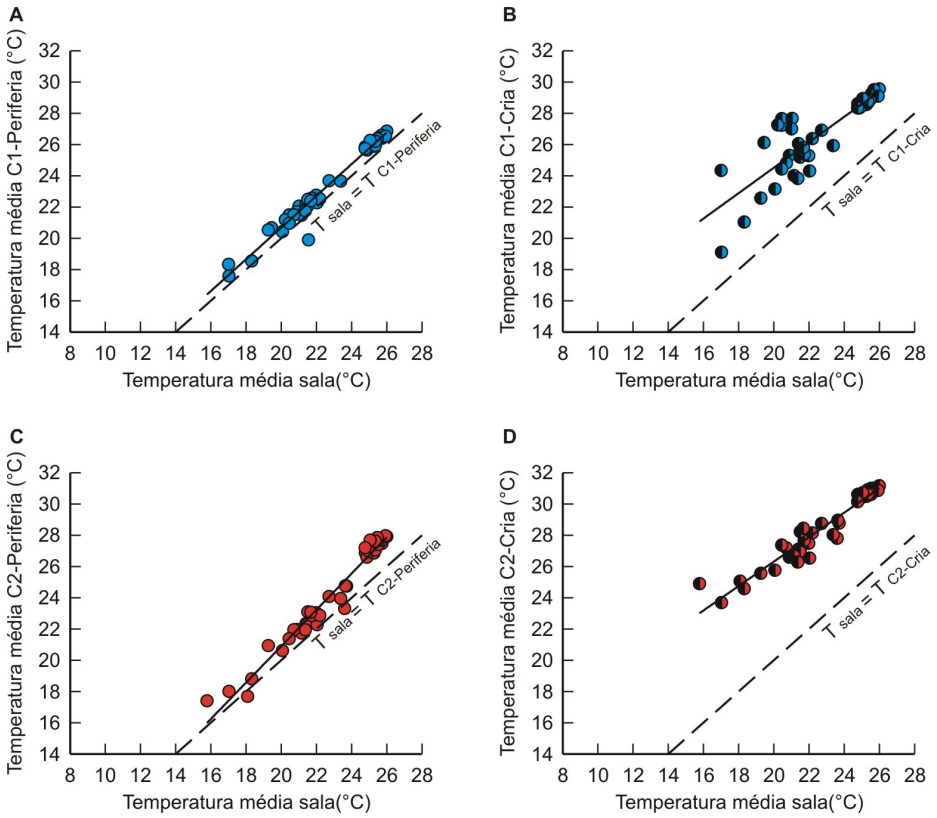

Figura 14. Influência da temperatura da sala de laboratório às temperaturas registradas nas colônias. A temperatura diária média registrada no laboratório apresentou uma influência forte nas temperaturas das colônias C1 e C2 (Regressão linear: C1-Periferia: $R^2 = 0,97$; $P < 0,001$; C1-Cria: $R^2 = 0,73$; $P < 0,001$; C2-Periferia: $R^2 = 0,97$; $P < 0,001$; C2-Cria: $R^2 = 0,92$; $P < 0,001$). As linhas inteiras indicam as regressões lineares.

Semelhante ao observado no experimento controle, a temperatura da sala de laboratório apresentou uma forte influência sobre as temperaturas das colônias (área de cria e periferia do ninho) (Figura 14). A dependência da temperatura dentro das colônias da temperatura dentro da sala é indicada pelos valores altos de R^2 (0,73-0,97; veja Figura 14). Neste caso, foi observado que a periferia da colônia tinha temperaturas parecidas às da sala, enquanto a temperatura na área de cria foi constantemente elevada por 4-6°C relativa à temperatura da sala (Figura 14).

A dependência mais forte observada em nossos experimentos (maiores valores de R^2) foi entre a temperatura na área de cria e a temperatura na periferia da colônia (Figura 15). Nas duas colônias investigadas, a temperatura na área de cria sempre era mais alta do que a temperatura na periferia do ninho.

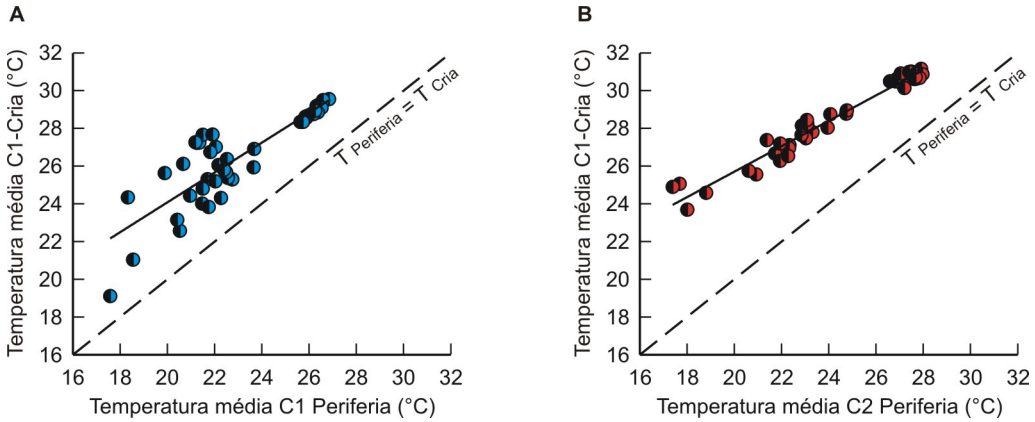

Figura 15. Influência das temperaturas registradas na periferia da colônia às temperaturas da área de cria. A temperatura diária média registrada na periferia das colônias C1 e C2 proporcionaram uma influência forte nas temperaturas registradas na área de cria (Regressão linear: C1-Cria: $R^2 = 0,74$; $P < 0,001$; C2-Cria: $R^2 = 0,96$; $P < 0,001$). As linhas inteiras indicam as regressões lineares.

2.3.3. Termorregulação

A fim de determinar o papel da própria cria (células com pupas) para a produção de calor e a manutenção da temperatura na área de cria, foram feito experimentos onde favos foram mantidos dentro de uma caixa de isopor (isolamento) dentro de uma estufa em temperaturas diferentes (25, 27 e 29ºC). A

temperatura dentro da estufa oscilou por volta da temperatura média escolhida para o experimento. Estas oscilações variavam na sua amplitude ao longo do dia (Figura 16). Na caixa controle (caixa de isopor vazia) e na caixa experimental (caixa de isopor com os favos) também foram registradas oscilações de temperatura. Tomando como ponto de referência, o início das oscilações crescentes (indicado por setas na Figura 16), foi possível verificar um atraso no tempo dessas oscilações dentro das caixas comparado com as oscilações dentro da estufa. Este atraso no tempo pode ser atribuído às propriedades de isolamento do respectivo material.

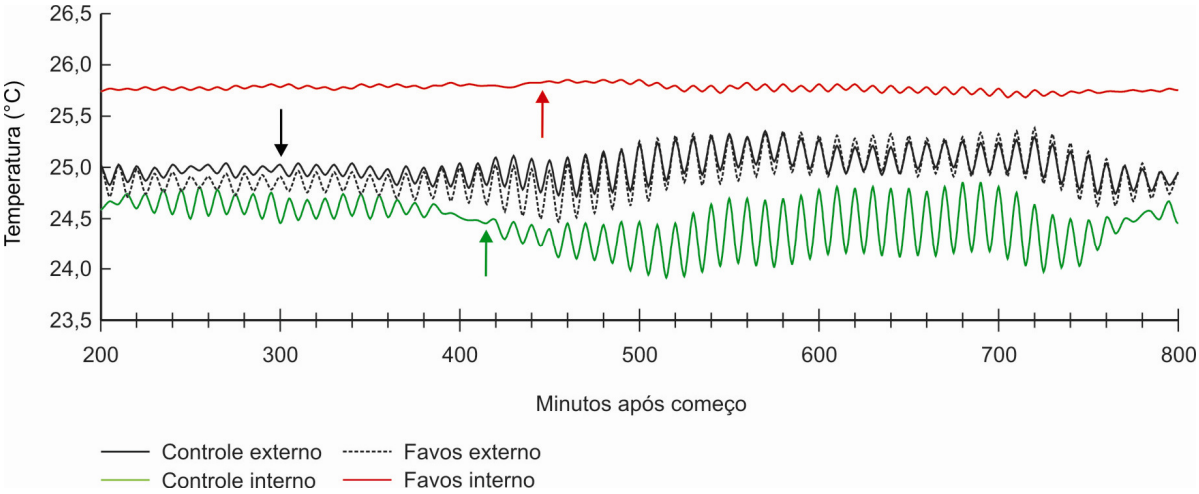

Figura 16. Parte dos registros de temperatura dentro da estufa (dois sensores externos, linhas pretas), dentro do isopor vazio (controle interno; linha verde) e dentro do isopor com quatro favos de cria (favos interno, linha vermelha). A temperatura dentro da estufa oscilava em volta de 25°C. Foram registradas oscilações mais e menos intensas. As setas indicam o ponto inicial de uma oscilação com amplitude maior, que foi registrado com atraso temporal nos recipientes de isopor (setas: verde e vermelho).

Por meio dos dados obtidos, foi possível observar a permanência de temperatura na caixa com favos, isto é, a caixa onde se encontrava esses favos manteve a temperatura próxima a da estufa independente das variações que a estufa apresentou, em todas as temperaturas sugeridas (como observado na Figura 19), sugerindo que existiu uma conservação da temperatura. A caixa controle (vazia) não apresentou esse mesmo padrão. A temperatura da caixa vazia oscilava de acordo com a temperatura da estufa, porém a temperatura da caixa controle

demorou a se estabelecer, e por esse motivo, formou uma elipse nos gráficos representados na figura 17. O atraso de tempo na passagem da temperatura para dentro da caixa pode ser explicado pelas propriedades de isolação do material (caixas de isopor), isto é, quanto melhor a isolação do material, mais baixa fica a oscilação de temperatura (Figura 18).

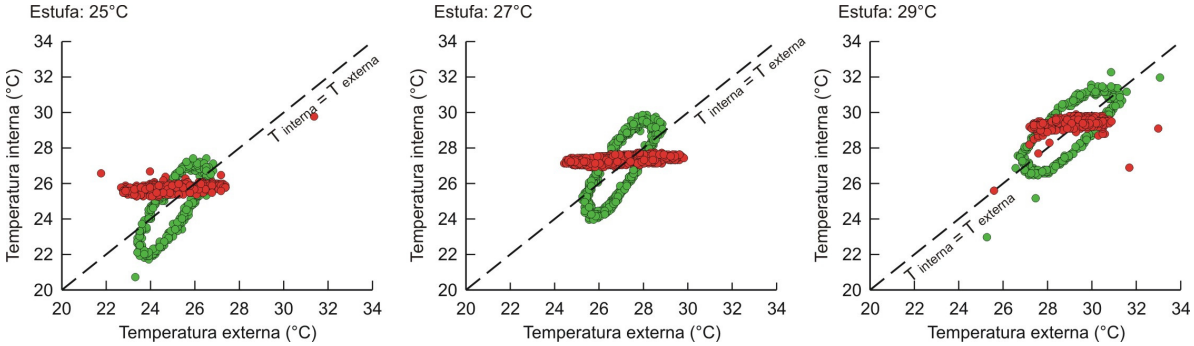

Figura 17. Correlação entre a temperatura dentro das caixas de isopor (temperatura interna) e a temperatura registrada na estufa (temperatura externa). Nas caixas de isopor com quatro favos (círculos preenchidos com cor vermelho) a temperatura ficou estável, enquanto nas caixas vazias (círculos preenchidos com cor verde) a temperatura oscilava de acordo com a temperatura da estufa e com um atraso temporal. Estas oscilações com atraso temporal resultaram em correlações de forma elíptica.

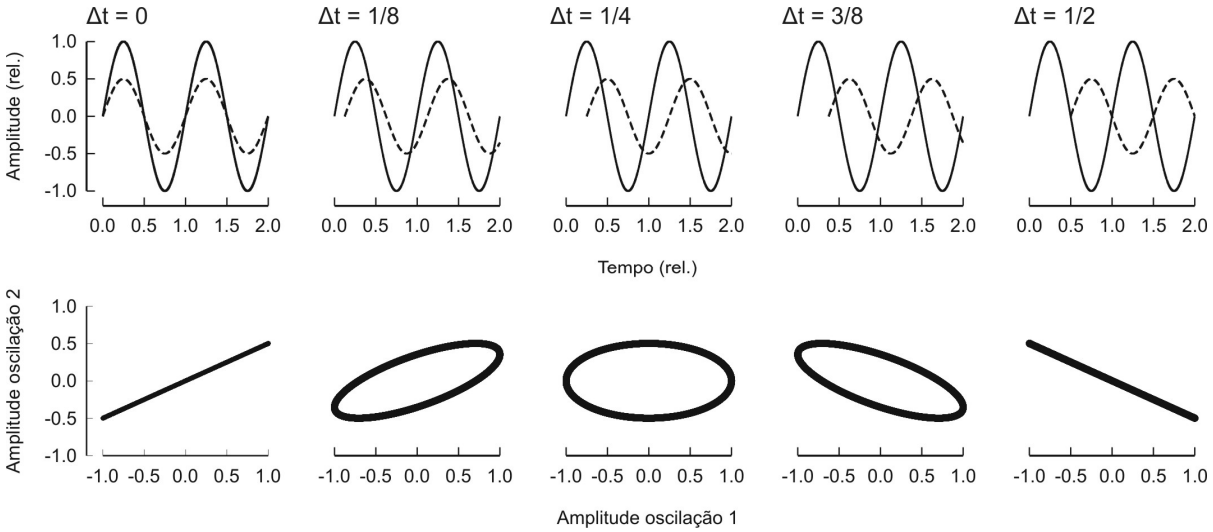

Figura 18. Oscilações sinus (Oscilação 1- linha inteira; Oscilação 2- linha quebrada), com amplitudes diferentes, mas com o mesmo tempo de oscilação. No primeiro par de figuras foi observado um começo simultâneo (Δt = 0), e na segunda oscilação é apresentado um início com atraso de tempo (diferenças temporais 1/8 a 1/2).

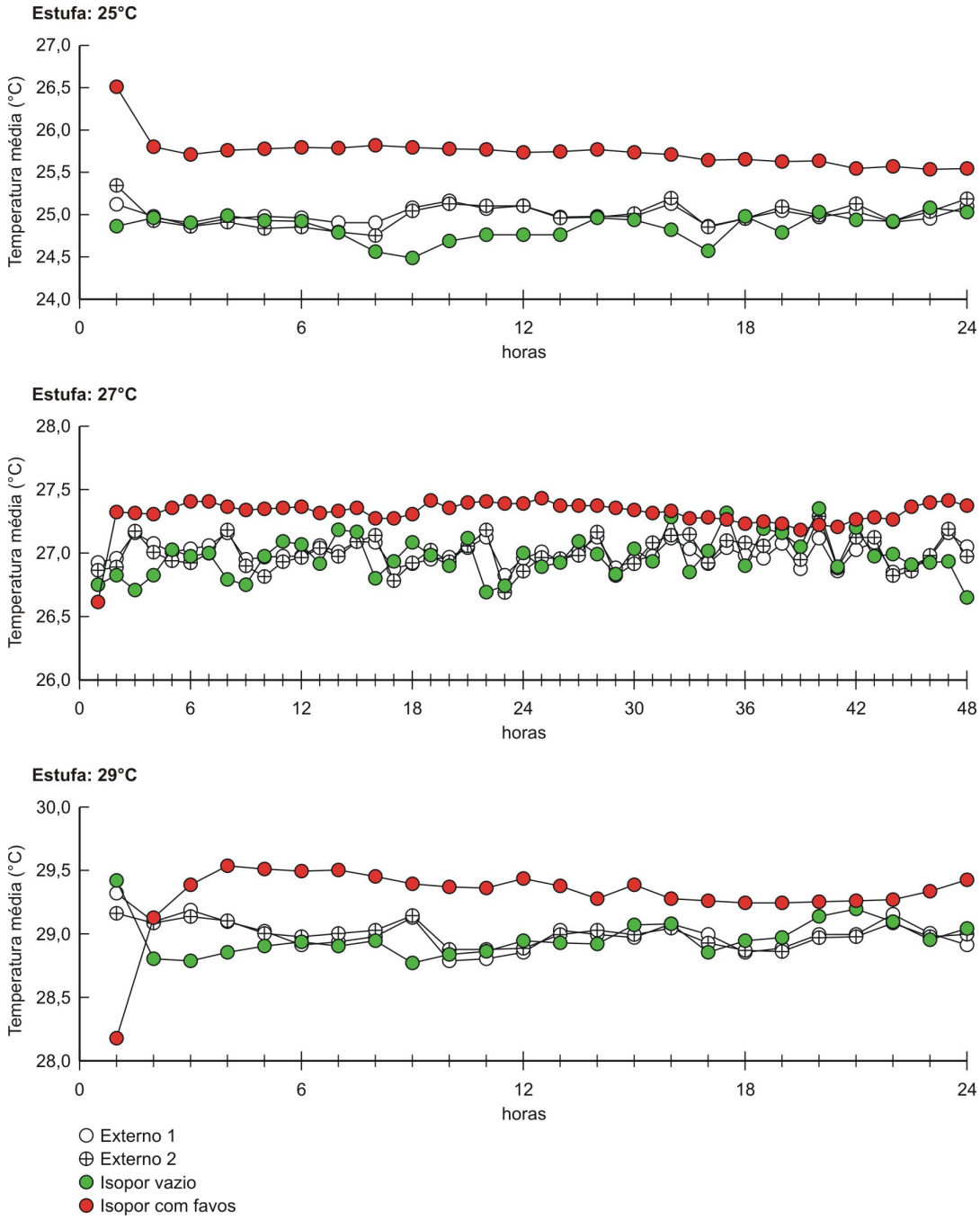

Figura 19. Temperaturas médias por hora no decorrer dos experimentos. Foram registradas as temperaturas dentro da estufa a 25, 27 e 29°C (dois sensores externos), e simultaneamente dentro do isopor vazio e dentro do isopor com quatro favos de cria. Observe o ajuste da temperatura nas caixas de isopor com quatro favos durante as primeiras uma a duas horas do registro.

Na caixa onde foi realizado o teste com a cera pesada, foi verificado que não houve a permanência de temperatura conforme a variação da temperatura na estufa (Figura 20). A caixa com a cera também não manteve a temperatura em seu interior quando comparada com a caixa com os favos. Portanto, a caixa com a cera

apresentou o mesmo perfil da caixa controle, onde a temperatura oscilou de acordo com a temperatura da estufa, havendo um atraso temporal pelos mesmos motivos da caixa controle esclarecido acima (Figura 18, 21, 22).

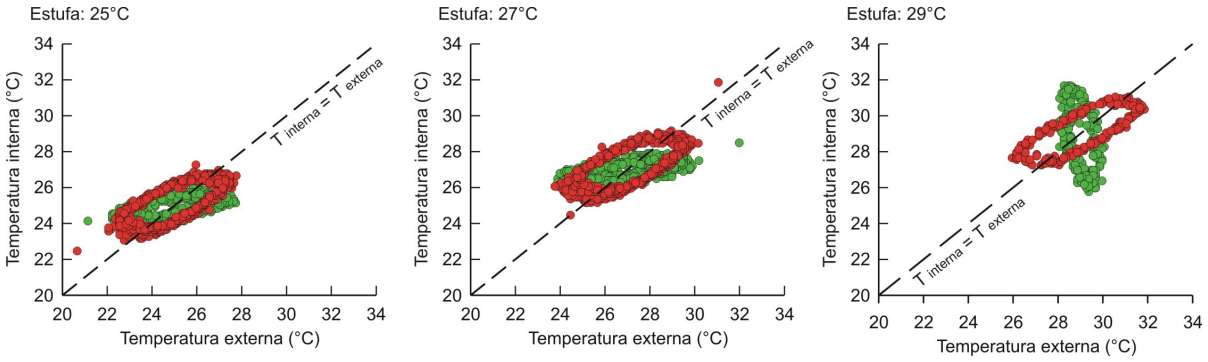

Figura 20. Correlação entre a temperatura dentro das caixas de isopor (Temperatura interna) e a temperatura registrada na estufa (Temperatura externa). Nas caixas de isopor com a cera (círculos preenchidos com cor vermelho) e nas caixas vazias (círculos preenchidos com cor verde) a temperatura oscilava de acordo com a temperatura da estufa e com um atraso temporal. Estas oscilações com atraso temporal resultaram em correlações de forma elíptica.

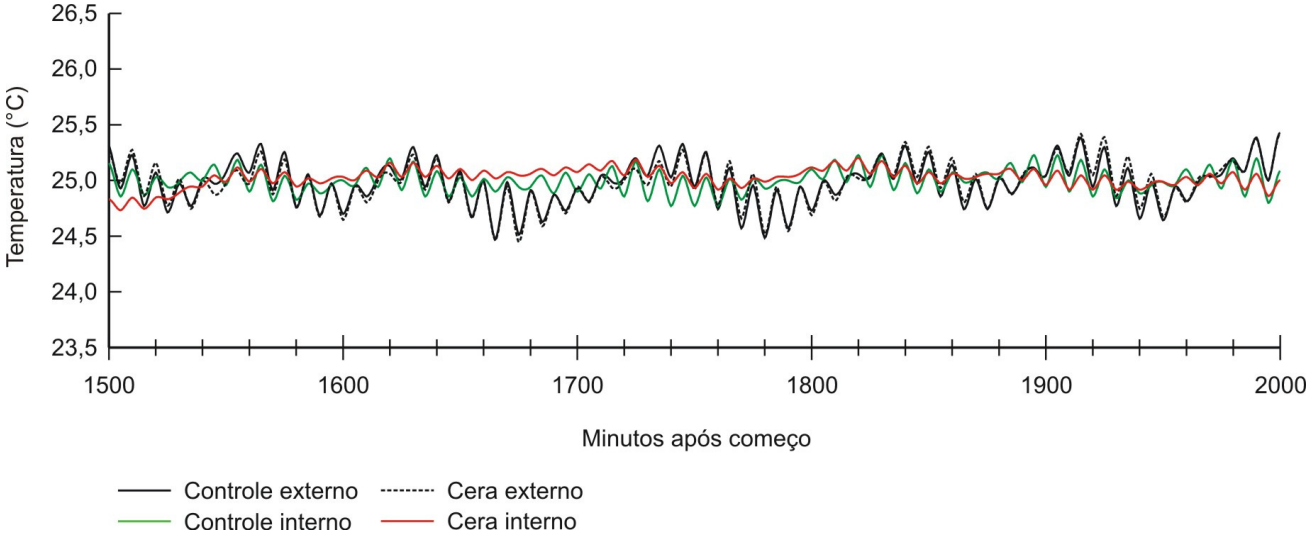

Figura 21. Parte dos registros de temperatura dentro da estufa (externo, linhas pretas), dentro do isopor vazio (controle interno; linha verde) e dentro do isopor com cera (cera interno, linha vermelha). Todas as temperaturas registradas oscilavam em volta de 25°C.

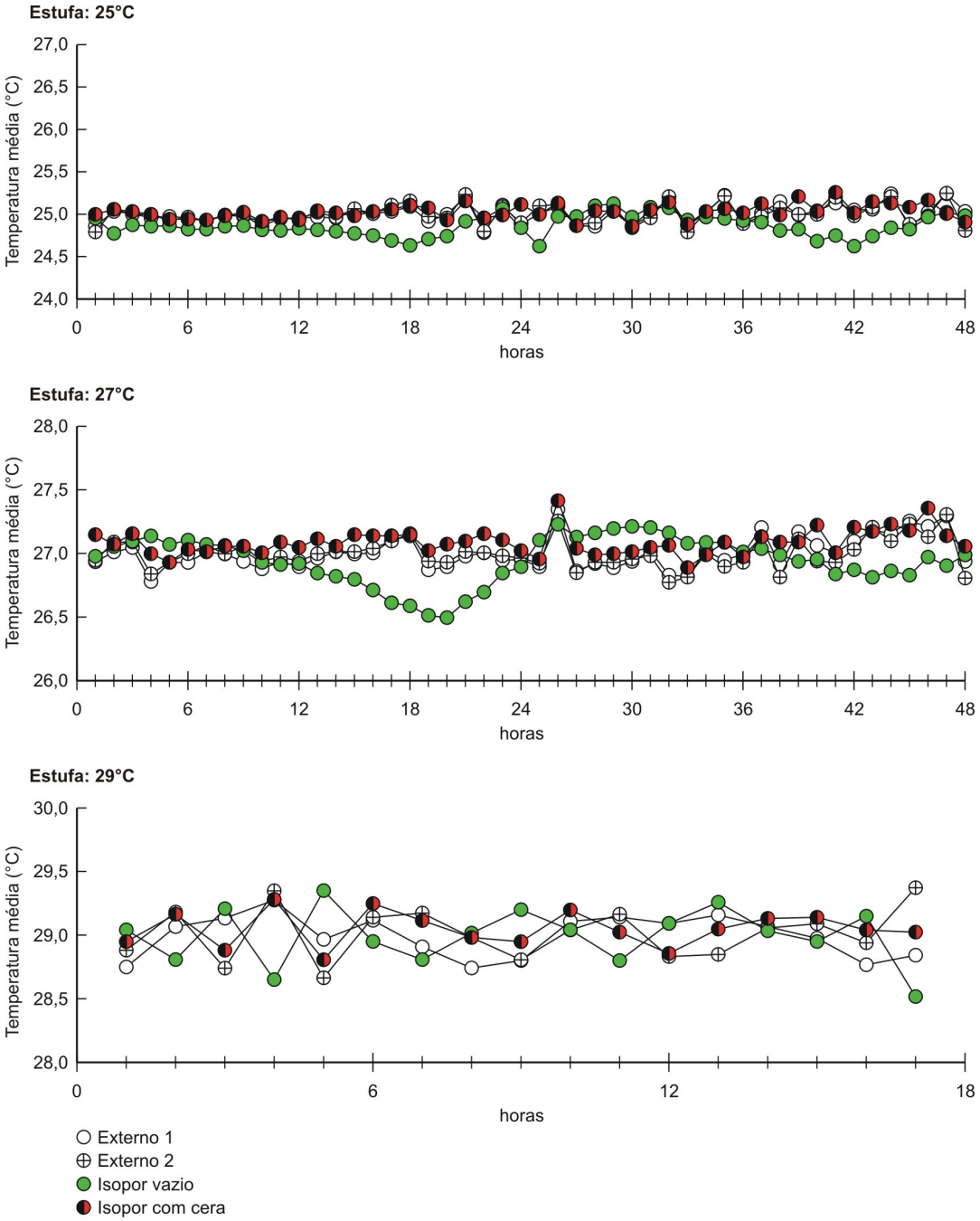

Figura 22. Temperaturas médias por hora no decorrer dos experimentos. Foram registradas as temperaturas dentro da estufa a 25, 27 e 29°C (dois sensores externos), e simultaneamente dentro do isopor vazio e dentro do isopor com cera.

A fim de comparar os registros de temperatura, foram unidos todos os registros de temperatura de todos os sensores externos (externo 1 e externo 2 dos experimentos com favos e dos com cera) e das caixas de isopor vazias (experimentos com favos e com cera). Unir os dados desta maneira foi legítimo devido ao fato que não havia diferença estatística entre os grupos juntados

(Sensores externos: Kruskal-Wallis test: H = 0,33; *P* = 0,955; Temperaturas nas caixas vazias: teste *t*: t = -0,37; *P* = 0,710).

Em todas as situações, a temperatura dentro da caixa com os favos era significativamente maior do que a temperatura na estufa, dentro da caixa de controle ou dentro da caixa com a cera (Tabela 4; Figura 23). Esta diferença foi em média de 0,7ºC no experimento de 25ºC, e 0,4 ºC nos experimentos de 27 e 29ºC (Tabela 4; Figura 23 e 24). As temperaturas registradas nos outros ambientes (estufa, caixa controle, caixa com cera) foram parecidas (Tabela 4; Figura 23 e 24).

Foi avaliada a correlação entre as temperaturas médias registradas nas caixas de isopor e as temperaturas médias da estufa, onde se tornou mais evidente que as caixas com a cera e a caixa vazia permaneceram com as temperaturas próximas a estufa, enquanto que a caixa com os favos apresentou temperaturas mais elevadas (Figura 24). Os favos dentro da caixa demonstraram funcionar como um armazenador físico de calor. Esse armazenamento pode ser esclarecido por meio dos indivíduos (pupas) presente nos favos, ou seja, os mesmos demoraram a aquecer ou esfriar, assim quando a temperatura da estufa aumentava, o calor passava para dentro da caixa gerando energia para a cria, que neste caso estava sendo utilizada para aquecer os indivíduos. Dessa maneira, quando a estufa começava a esfriar, os indivíduos liberavam a energia estocada e aqueciam o ambiente dentro da caixa.

Tabela 4. Comparação dos registros de temperatura na estufa, na caixa de isopor vazio (controle), no isopor com quatro favos e no isopor com cera. Em todas as situações (25, 27, 29°C), a temperatura dentro do isopor com os favos foi significativamente maior que as outras temperaturas registradas. Letras sobrescritas diferentes (a-c) indicam grupos de dados significativamente diferentes (Dunn's test ou Tukey test, $P \leq 0,05$).

	Temperatura (°C)				**Estatística**	
	Estufa	Controle	Favos	Cera	One-Way AVOVA	Kruskal Wallis test
25°C	$25,0 \pm 0,11^{a}$	$24,9 \pm 0,13^{b}$	$25,7 \pm 0,09^{c}$	$25,0 \pm 0,09^{a}$		H = 111,0; $P < 0,001$
27°C	$27,0 \pm 0,11^{a}$	$27,0 \pm 0,17^{a}$	$27,4 \pm 0,14^{b}$	$27,1 \pm 0,10^{c}$		H = 202, 2; $P < 0,001$
29°C	$29,0 \pm 0,14^{a}$	$29,0 \pm 0,17^{a}$	$29,4 \pm 0,10^{b}$	$29,1 \pm 0,14^{a}$	F = 39,0; $P < 0,001$	

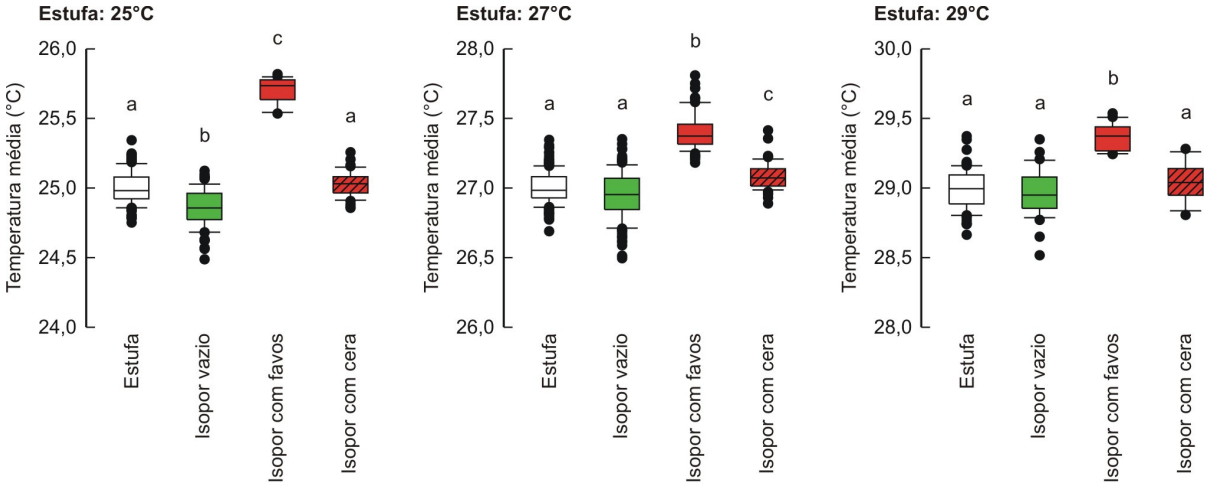

Figura 23. Registros de temperatura na estufa, na caixa de isopor vazia, no isopor com quatro favos e no isopor com cera. Em todas as situações (25, 27, 29°C), a temperatura dentro do isopor com os favos era significativamente maior do que as outras temperaturas registradas. A linha central da caixa dos *boxplot* marca a mediana, a parte inferior da caixa é delimitada pelo quartil inferior e a parte superior pelo quartil superior. As hastes delimitam a distribuição de 95% dos dados. Os valores inferiores e superiores (*outliers*) às 95% são representados individualmente. Letras sobrescritas diferentes (a-c) indicam grupos de dados significativamente diferentes (Dunn's test ou Tukey test, $P \leq 0,05$).

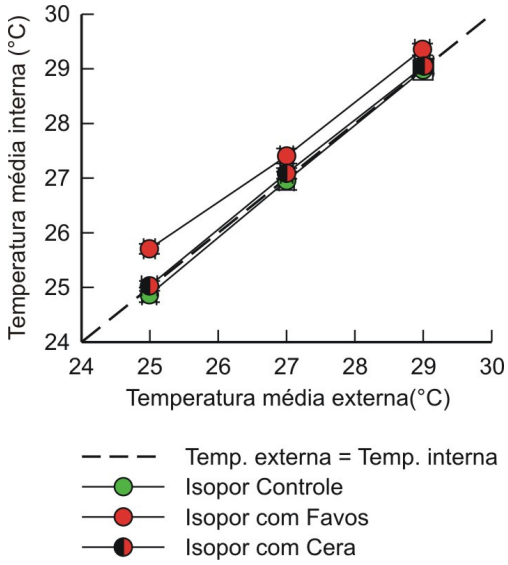

Figura 24. Correlação entre as temperaturas médias registradas dentro das caixas de isopor (interna) e as registradas na estufa (externa). As temperaturas na caixa de isopor vazia (controle) e no isopor com cera foram iguais às temperaturas registradas na estufa. A temperatura dentro da caixa de isopor com quatro favos era elevada em comparação com a temperatura externa.

2.4. Discussão

Foi observado nos registros das temperaturas que as abelhas sem ferrão *Melipona scutellaris* apresentaram uma temperatura variável dentro de seus ninhos, recordando que as temperaturas das áreas de cria foram sempre maiores em relação às temperaturas das periferias dos ninhos e a temperatura ambiente (Figuras 9, 12 e 13; Tabelas 1, 2 e 3). No entanto, em abelhas do gênero *Apis*, as temperaturas dentro do ninho se mantêm sempre com muita estabilidade (33 a 36ºC). De acordo com vários autores já citados neste capítulo (Zucchi e Sakagami, 1972; Roubik e Peralta, 1983; Monteiro, 2000 e Jones e Oldroyd, 2007), o invólucro que envolve a área de cria em várias espécies de abelhas sem ferrão seria a principal estrutura que mantém o calor na área de cria, resultando em temperaturas maiores e constantes que as atingidas pela colônia. Por meio dos testes de termorregulação foi observado que possivelmente a cria imatura dentro das células nas áreas de cria realize a manutenção da temperatura e sugere que o invólucro funcione como um isolamento adicional que amortece as oscilações da temperatura (Figuras 17 e 19; Tabela 4). De acordo com os resultados, os favos funcionaram como um armazenamento de calor, ou seja, dentro da caixa de isopor com os favos, os indivíduos imaturos armazenavam energia e a liberavam quando necessário, no caso quando a temperatura da estufa se tornava mais amena. Talvez, isso evidencie que a cria (indivíduos) com seus líquidos (presente na fase ontogênica) possam causar uma pequena variação de temperatura na área de cria. Como muitos autores (Loli, 2008; Carvalho, 2009; entre outros) relatam que larvas, pupas e abelhas jovens são ectotérmicas (necessitam da troca de calor com o ambiente) e precisam de calor proveniente de abelhas maduras para sobreviverem, essas larvas e pupas realizam a troca de calor com as abelhas adultas presentes na região dos favos ou até mesmo com o ambiente, no caso a área de cria. Acredita-se que essa produção de calor decorra provavelmente dos indivíduos adultos presentes na região da cria, desse modo, adotando o conceito descrito por Engels *et al*. (1995) que acreditou na ativação dos músculos das asas para a produção de calor em abelhas sem ferrão. Porém, os resultados diferem com relação ao invólucro para a manutenção da

temperatura (citado acima). Portanto, pode-se considerar que exista uma termorregulação ativa por parte dessas abelhas, não apenas pela produção de calor como também por manterem a temperatura da cria mais elevada, entretanto essa termorregulação não é eficiente visto que a temperatura da área de cria depende da temperatura ambiente, principalmente quando comparadas com as abelhas *Apis mellifera* que utilizam a termorregulação ativa independente do ambiente e ainda conseguem manter uma temperatura muito estável durante todo o ano (33 a 36ºC), como discutido por Engels *et al*. (1995).

Existem vários registros de temperatura dentro do ninho de muitas espécies de abelhas sem ferrão. Um dos primeiros registros foi feito por Zucchi e Sakagami (1972) com *Trigona spinipes,* num período de Dezembro a Agosto, onde apresentaram uma média para área de cria de 34,41ºC e 35,06ºC, e média de zonas periféricas (como encostado no escutelo) de 26,68ºC e 24,03ºC. Zucchi e Sakagami (1972) registraram ainda temperaturas na região da cria de colônias de *Melipona quadrifasciata* e *Melipona rufiventris*, que apresentaram uma temperatura média de 29,3ºC e 31,9ºC, respectivamente. Estes dados estão de acordo com os registros realizados no período do verão, onde as médias para as áreas de cria foram de 28,9ºC para C1 e 30,7ºC para C2, demonstrando que a área de cria apresenta temperaturas mais elevadas (Figuras 7 e 8; Tabela 2). Moo-Valle *et al.* (2000) também realizaram registros das temperaturas em duas colônias de *Melipona beecheii* no período de Janeiro a Março, no momento em que as temperaturas ambientes estavam baixas (18,2ºC a 22,9ºC), e observaram que as temperaturas internas dos ninhos (área de cria [mínimas de: 27,1ºC e 25,6ºC] e área dos potes de alimento) apresentaram diferenças (estatísticas) da temperatura ambiente, demonstrando semelhança com os registros realizados neste trabalho no período de inverno, onde as mínimas para as áreas de cria foram de 22,8ºC e 25,4ºC. Roubik e Peralta (1983) verificaram temperaturas médias de 31 a 31,8ºC nas áreas de cria de *Melipona*, enquanto na região dos potes de alimento a temperatura média foi de 26,7 a 29,7ºC, estes resultados também estão de acordo com os resultados obtidos dos registros de temperatura.

Torres *et al.* (2007) avaliaram as temperaturas de ninhos de *Tetragonisca angustula* de Fevereiro a Maio na Colômbia, onde verificaram temperaturas altas no

centro da área de cria (30,3ºC) e temperaturas mais amenas na parte de baixo da área de cria (25,4ºC). Esses resultados diferem dos encontrados neste trabalho, onde os sensores foram posicionados entre os favos de cria. Hilário (2005) verificou a termorregulação de abelhas *Plebeia remota* por meio de registros de quatro colônias durante um ano, retirando a diapausa das colônias que começaram no outono e acabaram no inverno. Foi observado que a amplitude das temperaturas internas foi menor quando comparado com a amplitude das temperaturas ambientais, sendo que as temperaturas internas foram sempre maiores que as temperaturas ambientais e as temperaturas mais altas foram registradas no verão, desse modo, consentindo com os resultados obtidos em *Melipona scutellaris*. Entretanto esses registros abrangem apenas o fator da termorregulação individual e colonial e não apresentam temperaturas que possam influenciar no desenvolvimento desses insetos, assunto que será abordado no próximo capítulo. Não se conhece ainda como cada operária reage na termorregulação, se elas formam uma resposta termorregulatória de grupo (termogênese coordenada), ou se essa termorregulação é subproduto da produção individual de calor (Weidenmüller *et al.*, 2002; Loli, 2008).

Um fator muito relevante observado neste trabalho, foi que as temperaturas da colônia variaram de acordo com a temperatura ambiente, sendo que muitos autores (Roubik e Peralta, 1983; Moo-Valle *et al.*, 2000; Hilário, 2005; Loli, 2008) já comentaram que essa temperatura não dependia ou não estava relacionada com a temperatura ambiente. Esse fato demonstra que não é possível generalizar as temperaturas atingidas dentro dos ninhos de abelhas sem ferrão, ou seja, não se deve concluir que as abelhas sem ferrão mantêm uma temperatura na área de cria por volta de 30ºC o ano todo, visto que essa temperatura é atingida no período do verão, e no período do inverno a mesma permanece amena como a temperatura ambiente. Portanto, as abelhas sem ferrão não conseguem manter uma temperatura única (entre uma faixa de 3ºC) o ano todo como as abelhas *Apis mellifera* cujos ninhos permanecem em uma faixa ótima de 33 e 36ºC.

Foi observado também durante os experimentos que na colônia 1 (C1), no período do inverno, houve a perda da rainha no momento dos registros da temperatura, um fato que ofereceu um problema para os experimentos, mas não para as comparações e análises estatísticas. Com isso, é possível que a rainha da

colônia possua influência sobre a temperatura mantida dentro da área de cria, ou seja, com a perda da mesma não há oviposição (conseqüentemente sem larvas e pupas), sem esta não teria necessidade de manter a temperatura em condições favoráveis para os indivíduos emergirem. O fato da temperatura na área de cria ser relativamente maior e mais estável dentro de ninhos de abelhas sem ferrão, não indica que as mesmas são independentes do ambiente e/ou que apenas o invólucro mantém esse calor.

Referências Bibliográficas

AMANO, K., NEMOTO, T. & HEARD, T. A. (2000) **What are stingless bees, and why and how to use them as crop pollinators? A review.** JARQ. **34(3):** 183-190.

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

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

HEINRICH, B. 1987. **Thermoregulation in bees.** American Science. **82(2):** 164-170.

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

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

HIMMER, A. 1927. **Ein beitrag zur kenntnis des wärmehaushalts im Nestbau sozialerHautflügler.** Z. Vgl. Physiol. **5:** 375-389.

HÖLLODOBLER, B. & WILSON, E. O. 1990. **The ants.** Harvard University Press. Cambridge MA, London UK. 732p.

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

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

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

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

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

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

MONTEIRO, W. R. **Abelhas Nativas – A mandaçaia.** Mensagem Doce. **57.** Disponível em: <http: // www.apacame.org.br/mensagemdoce/57/msg57.htm>

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

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

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

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

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

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

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

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

WINSTON, M. L. 2003. **A biologia da abelha.** Porto Alegre, RS: Magister. 1 ed. 276p.

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

"A abelha é pequena entre os seres que voam,
mas o que ela produz é o que
há de mais doce." (Laura Anversa)

Capítulo 3

Influência da Temperatura no Desenvolvimento da Cria e no Comportamento adulto

Resumo

O sucesso do desenvolvimento da cria é decorrente de uma manutenção de temperatura dentro da colônia, principalmente na área de cria. Em *Apis mellifera*, a influência de temperatura sobre o desenvolvimento de abelhas em estufas já é bastante conhecida, porém em abelhas sem ferrão ainda é desprovido de literatura. A influência da temperatura na cria pode causar "problemas" no comportamento adulto dos indivíduos. Para observar estes "problemas" foram desenvolvidos favos em uma estufa incubadora nas temperaturas de 28, 30 e 32ºC. Além disso, foi desenvolvido favos em uma caixa de observação vinculada a colônia, para controle. Após a emergência dos indivíduos dos diferentes tratamentos, foi verificada a taxa de mortalidade e o tempo de desenvolvimento. Para cada tratamento, foram selecionadas 20 operárias. Nestas foram realizadas as medidas dos corpos e dos primeiros pares de asas, para comparação entre os tamanhos atingidos para cada tratamento. Assim, os demais indivíduos emergidos foram marcados e devolvidos a colônia para posterior análise do comportamento adulto (no momento do forrageio), essa análise foi realizada por meio de um limiar comportamental, no caso um limiar de resposta gustativa. As abelhas desenvolvidas nos tratamentos da estufa foram menores que as abelhas desenvolvidas no tratamento controle, enquanto aparentemente as abelhas desenvolvidas no tratamento de 32ºC apresentaram um placar gustativo semelhantes ao das abelhas desenvolvidas no tratamento controle. Além disso, o tempo de desenvolvimento e a taxa de mortalidade foram melhores para as mesmas. O tratamento de 28ºC foi o mais prejudicado, onde não foi possível observar com eficiência os tempos de desenvolvimento, taxa de mortalidade e até mesmo suas medidas e comportamentos. Estes fatos sugerem que mesmo para o tratamento de 32ºC (que apresentou resultados semelhantes ao tratamento controle) o desenvolvimento em estufa para abelhas sem ferrão talvez seja muito sensível, ou talvez tenha ocorrido algum problema nos experimentos.

3. Introdução

O sucesso do desenvolvimento da cria e a sobrevivência de abelhas jovens e larvas depende da manutenção e do controle da temperatura dentro da colônia, principalmente próximo à área dos discos de cria (Petz *et al.*, 2004). Loli (2008) acrescenta que a escolha de um local de nidificação (que pode funcionar como um isolante térmico para as espécies de abelhas sem ferrão; veja capítulo 2) pode

proporcionar possibilidades de manutenção da temperatura e da umidade relativa nas áreas de cria.

A influência da temperatura no desenvolvimento da cria (fase de pupa) já foi bastante estudado por outros autores no gênero *Apis* (onde a temperatura considerada ótima para o desenvolvimento é de 33 a 36ºC) como em Tautz *et al*. (2003), que testaram favos de cria incubados (*Apis mellifera*) em 32°C, 34,5°C e 36°C, onde não houve diferença entre a emergência dos indivíduos dos grupos de temperatura (32°C- 100%; 34,5°C- 99%; 36°C- 98%). Em *A. dorsata*, Mardan e Kevan (2002) observaram que houve taxas de mortalidade altas quando realizado desenvolvimentos em temperaturas acima dos 36ºC, e à 30ºC houve indivíduos que emergiram deformados, sugerindo que a baixa temperatura no favo pode interferir no desenvolvimento desses indivíduos. Tautz *et al*. (2003) e Jones *et al*. (2005) descreveram que temperaturas "inadequadas" de incubação de cria, em abelhas *A. mellifera*, podem afetar habilidades como a aprendizagem, comunicação e memória de curta duração de operárias adultas, provavelmente por deficiências neurais causadas pelo desenvolvimento comprometido, assim ressaltando a importância da termorregulação.

A influência da temperatura no desenvolvimento de imaturos foi analisada também em abelhas solitárias do gênero *Centris*. Nessas abelhas os índices de mortalidade foram altos nos primeiros estágios larvais, quando o desenvolvimento dos imaturos foi influenciado por elevadas temperaturas em condições naturais (Frankie *et al*., 1988 *apud* Couto e Camillo, 2007). No entanto, Couto e Camillo (2007) observaram que a temperatura entre 26°C e 27°C pode ser considerada eficiente para o desenvolvimento dos imaturos de *Centris analis* (Hymenoptera; Apidae; Centridini), pois nos meses em que houve essa temperatura média (outubro e novembro) a taxa de mortalidade foi de 0%.

De acordo com Undurraga e Sthephen (1980), em incubações de *Megachile rotundata* (Hymenoptera; Megachilidae; Megachilini), a exposição à temperatura de 50ºC provocou a mortalidade total nas pupas e pré-pupas, entretanto, à exposição a 45ºC não causou mortalidade significativa nas mesmas. Foram observadas também células de *Megachile rotundata* (pupa) submetidas a

baixas temperaturas (4,4, 15,6, 18,3, 21,1 e 23,9ºC), a fim de determinar o efeito dessas temperaturas na mortalidade, que resultaram em baixa mortalidade significante. Estes resultados indicaram que a espécie está bem adaptada para a sobrevivência em pequenos intervalos de temperaturas amenas (Undurraga e Sthephen, 1980).

As abelhas sem ferrão são pouco estudadas com respeito à influência da temperatura sobre o desenvolvimento da cria. Em *Scaptotrigona aff. depilis* foram recentemente realizadas incubações com temperatura de 34ºC (4ºC acima da média "adequada" para esta espécie) por Vollet-Neto (informação pessoal, dados ainda não publicados) , onde foi avaliado o tempo de desenvolvimento como também a taxa de mortalidade. Todas as incubações realizadas nessa temperatura apresentaram uma taxa de mortalidade baixa (n= 250, taxa de mortalidade = 5%). Um fator relevante foi que os indivíduos submetidos a temperaturas mais altas que as consideradas "normais" para o desenvolvimento dessa espécie, apresentaram um tempo de desenvolvimento menor, ou seja, a duração de tempo entre a incubação e a emergência das abelhas foi mais acelerada com relação às abelhas desenvolvidas na temperatura "adequada" da colônia. Também foram observadas por Vollet-Neto (informação pessoal, dados ainda não publicados), incubações da mesma espécie à 38ºC, onde os indivíduos morreram, sugerindo que em temperaturas extremas a sobrevivência é praticamente impossível.

Na emergência dos indivíduos de um favo, geralmente cerca de 60% a 80% da cria são operárias (embora esses números sejam dependentes de uma série de fatores como recursos disponíveis no ambiente [época do ano] e quantidade de alimento estocado, entre outros) (Alves, 2010). Após a emergência, as operárias realizam várias tarefas sendo elas as internas, atividades dentro do ninho e, posteriormente as externas, o forrageio (Hebling *et al.*, 1964; Nogueira-Neto, 1997). Este "polietismo etário" individual pode ser compreendido por meio do limiar de resposta observado no desenvolvimento comportamental de abelhas sociais (Page e Erber, 2002). Em grupos de indivíduos da mesma espécie, as respostas comportamentais com relação a um estímulo são distintas, pois derivam dos graus de sensibilidade do indivíduo ao estímulo. Quando um estímulo excede o limiar de

resposta desse indivíduo, alterações morfofisiológicas ou comportamentais serão observadas de acordo com o modelo estímulo – resposta – comportamento (Beshers e Fewell, 2001; Benetoli, 2011). O limiar de resposta gustativa à sacarose é um destes limiares comportamentais, e está relacionado com o limiar do comportamento do "forrageio". Este limiar de resposta gustativa está diretamente ligado com a vontade da operária de coletar, e pode ser estudado por meio da atividade do reflexo de extensão da probóscide (*Proboscis Extension* Reflex; PER).

De acordo com Bitterman *et al*. (1983) e Page *et al*. (1998), o reflexo de extensão da probóscide ocorre quando uma solução açucarada toca as antenas ou peças bucais de um indivíduo. Se a concentração de açúcar é suficientemente alta a este estímulo resulta na extensão involuntária da probóscide da abelha. O limiar gustativo distingue qual concentração mínima de açúcar a abelha é capaz de discriminar de água. Esse reflexo pode ser utilizado como uma ferramenta para estudos de características neurais do sistema nervoso central que afeta o comportamento de escolha (Page *et al*., 1998).

Em abelhas sem ferrão, McCabe *et al*. (2007) utilizaram sete concentrações de solução de sacarose para verificar o limiar de resposta gustativa avaliado pelo PER em *Melipona quadrifasciata* e *Scaptotrigona aff. depilis*. As abelhas recebiam como estímulo solução de sacarose com as concentrações de 0,1%, 0,3%, 1%, 3%, 10%, 30% e 50%. Na concentração de 50% (a com maior resposta) *Melipona quadrifasciata* e *Scaptotrigona aff. depilis* apresentaram aproximadamente 70% das respostas, enquanto as abelhas *Apis mellifera*, incluídas neste estudo para fins de comparação filogenética, apresentaram quase 100% de respostas.

Em abelhas melíferas a temperatura durante o desenvolvimento ontogenético tem uma influência grande sobre o comportamento dos indivíduos adultos (Tautz *et al*., 2003; Jones *et al*., 2005). Devido às variações altas de temperatura na área de cria ao longo do ano em *Melipona scutellaris* descritos no capítulo 2, o objetivo do capítulo presente foi avaliar o impacto dessa variação térmica durante o desenvolvimento para o comportamento dos indivíduos adultos. Como ferramenta para avaliar o desempenho das forrageiras foi utilizada o

paradigma do reflexo da extensão de probóscide, avaliando o limiar de resposta gustativa de abelhas desenvolvidas em temperaturas diferentes.

3.1. Objetivos

Neste capítulo foi abordada a influência da temperatura no desenvolvimento de operárias das abelhas *Melipona scutellaris*. Os objetivos específicos foram:

❖ Submeter favos em temperaturas de 28, 30 e 32ºC, a fim do conhecimento da duração do desenvolvimento (tempo), taxa de mortalidade e perfeição dos indivíduos emergidos (desenvolvimento completo e corpo perfeito).

❖ Registro dos tamanhos atingidos pelos corpos das abelhas emergidas em cada temperatura desenvolvida.

❖ Analisar o comportamento adulto das abelhas desenvolvidas nas temperaturas indicadas, por meio do limiar de resposta gustativa no forrageio com relação à influência da temperatura em que estas foram submetidas durante seu desenvolvimento no estágio de pupa.

3.2. Material e Métodos

Os experimentos foram realizados com as mesmas colônias e nas mesmas condições citadas no capítulo anterior (veja capítulo 2). Para o desenvolvimento da cria em condições experimentais, foram utilizadas as temperaturas registradas e analisadas nas colônias de *Melipona scutellaris* no período de verão (veja capítulo 2). Foram registradas as temperaturas mínimas e máximas para as áreas de cria e para as periferias do ninho (C1 e C2) como também as temperaturas médias para cada área (Tabela 2). As temperaturas médias registradas foram as de mais interesse para

este capítulo, as quais foram 28,9ºC para a área de cria da C1 e 30,7ºC para a área de cria da C2 (Figura 7 e 9). Assim sendo, foi utilizada a temperatura de 29 a 30ºC como uma média "base" para o desenvolvimento dos favos na estufa incubadora B.O.D. (veja capítulo 2; Figura 2). Portanto, de acordo com essa média, foram desenvolvidos indivíduos em quatro situações experimentais diferentes, ou seja, uma situação com a temperatura média (controle) e outras três situações com uma temperatura similar (30ºC), acima (32ºC) e abaixo (28ºC) da temperatura média selecionada. Posteriormente foram realizadas as medidas do corpo dos indivíduos emergidos e foi avaliado o comportamento adulto de acordo com a temperatura em que este foi desenvolvido (para detalhes, veja abaixo).

3.2.1. Situação controle

Foi realizado o desenvolvimento de favos em estágio de pupa dentro de uma caixa de observação ao lado da colônia e vinculada à mesma por um tubo de plástico, a qual continha a temperatura média apresentada no período do verão, ou seja, em condições "normais" (29-30ºC; veja Tabela 2). Vale ressaltar que essa caixa de observação onde foi desenvolvido o favo também foi revestida de isopor de 3 centímetros para isolação da temperatura externa (veja capítulo 2). Foram registradas as temperaturas da caixa de observação a cada 5 minutos, utilizando os sensores conectados à data-loggers (Minipa, MT-600, RS-232) (descritos anteriormente; veja capítulo 2). O favo foi retirado da colônia na fase de pupa e mantido na caixa de observação até a emergência dos indivíduos. Esta situação foi desenvolvida com um favo de 55 células. As abelhas emergidas foram subdividas para duas finalidades diferentes, 20 operárias foram selecionadas aleatoriamente para que fossem realizadas as medidas do corpo e da asa (para detalhes veja abaixo), e os demais indivíduos (operárias) foram marcados com tinta Acrilex® seguindo um código de cores padrão e após meia hora devolvidos a colônia de origem por meio da caixa de observação entre a entrada e a caixa da colônia (veja

capítulo 2). Vale ressaltar que as rainhas virgens emergidas dessa situação foram devolvidas à colônia com marcação, porém não foram avaliadas. Posteriormente, na idade forrageira, esses indivíduos marcados foram testados a fim de analisar o limiar de resposta gustativa (assunto abordado a seguir). Os resultados foram analisados pelos programas SigmaPlot 10 (gráficos) e SigmaStat 3.5 (estatísticas).

3.2.2. Situações experimentais

Todos os favos (em todas as diferentes situações) foram incubados no estágio de pupa, por esse motivo, foi utilizada no interior da estufa B.O.D. (onde foram desenvolvidos os favos) uma umidade controlada de 75% que é considerado "bom" para este estágio do desenvolvimento, de acordo com Menezes (2010). Essa umidade foi controlada por meio 40 gramas de Cloreto de Sódio (NaCl) em 200ml de água (em uma placa de Petri). No meio desta placa havia um suporte de vidro onde permaneciam os favos de cria sem contato direto com a água ou com o NaCl e foi observada em um relógio termo-higrômetro (Minipa; MT-242) para confirmação da porcentagem estipulada.

Durante as três situações experimentais dentro da estufa B.O.D., os favos foram colocados em placa de Petri com uma tela acima, presa por meio de um elástico. Essa tela foi colocada para evitar que abelhas recém-emergidas saíssem do local. A temperatura no interior da estufa durante todos os desenvolvimentos foi registrada por meio dos sensores conectados à data-loggers (veja capítulo 2) que registraram as temperaturas a cada 5 minutos. As três situações foram 30ºC (similar a média registrada na colônia, veja capítulo anterior, Figura 9 e Tabela2), 32ºC (maior que a média registrada) e 28ºC (menor que a média registrada), já citadas anteriormente. Na situação de 30ºC foi desenvolvido um favo de 42 células, na de 32ºC foi desenvolvido um favo de 90 células e na situação de 28ºC um favo de 48 células. Todas as células (indivíduos) incubadas foram mapeadas anteriormente, desde o momento da oviposição da rainha. Portanto, para cada indivíduo era sabido

o dia da postura, com quantos dias os indivíduos foram para a estufa e quantos dias foram necessários dentro da estufa para emergirem e assim completarem o ciclo vital. Os resultados obtidos por meio das situações experimentais foram analisados pelos programas SigmaPlot 10 (gráficos) e SigmaStat 3.5 (estatística). Alguns dos indivíduos nascidos foram marcados com tinta Acrilex® seguindo um código de cores padrão, para posterior análise do comprometimento de habilidades por meio do reflexo de extensão da probóscide que será visto a seguir. Esses indivíduos marcados foram devolvidos a colônia por meio da pequena caixa de observação situada entre a entrada da colônia e a mesma (veja capítulo 2). Foram selecionados (aleatoriamente) 20 indivíduos para a retirada das medidas do corpo e das asas, a fim de comparar o tamanho do corpo com relação ao desenvolvimento em que esses indivíduos foram submetidos.

3.2.3. Medidas

Foi realizada medidas dos corpos e asas de 20 abelhas para cada situação de desenvolvimento para posterior comparação entre tamanhos e deformações. As medidas do corpo foram subdivididas em cabeça e tórax (Figura 25). As medidas do tórax abrangem o comprimento do mesoscuto (1) e a distância intertegular (2). As medidas da cabeça envolvem a distância entre ocelo médio e início do labro (3), a largura da cabeça (4) e a distância interorbital (5). Essas medidas foram realizadas de acordo com as medidas utilizadas para análises morfométricas em Aleixo (2009) explicadas na figura 25 em *Melipona scutellaris*. Além dessas medidas, foram realizadas também medidas do primeiro par de asas (direita e esquerda - comprimento). As medidas foram feitas por meio de uma lupa *Leica* modelo MZ 16 conectada a uma câmera *Leica* DFC 500 e acoplada a um computador. As medidas foram comparadas por meio de testes estatísticos convencionais (One-Way-ANOVA e Kruskal-Wallis-ANOVA) usando o programa SigmaStat 3.5 e por meio de análise

discriminante usando o programa Statistica 7.0. A deformação foi calculada por meio das diferenças de comprimento das asas, utilizando a fórmula:

$$DFO = \left| \frac{(E - M) \times 100}{M} \right|$$

onde, *DFO* (deformação) descreve o desvio (%) da asa esquerda (*E*) que é igual ao desvio da asa direita (*D*) do valor médio das duas (*M = E+D*/2).

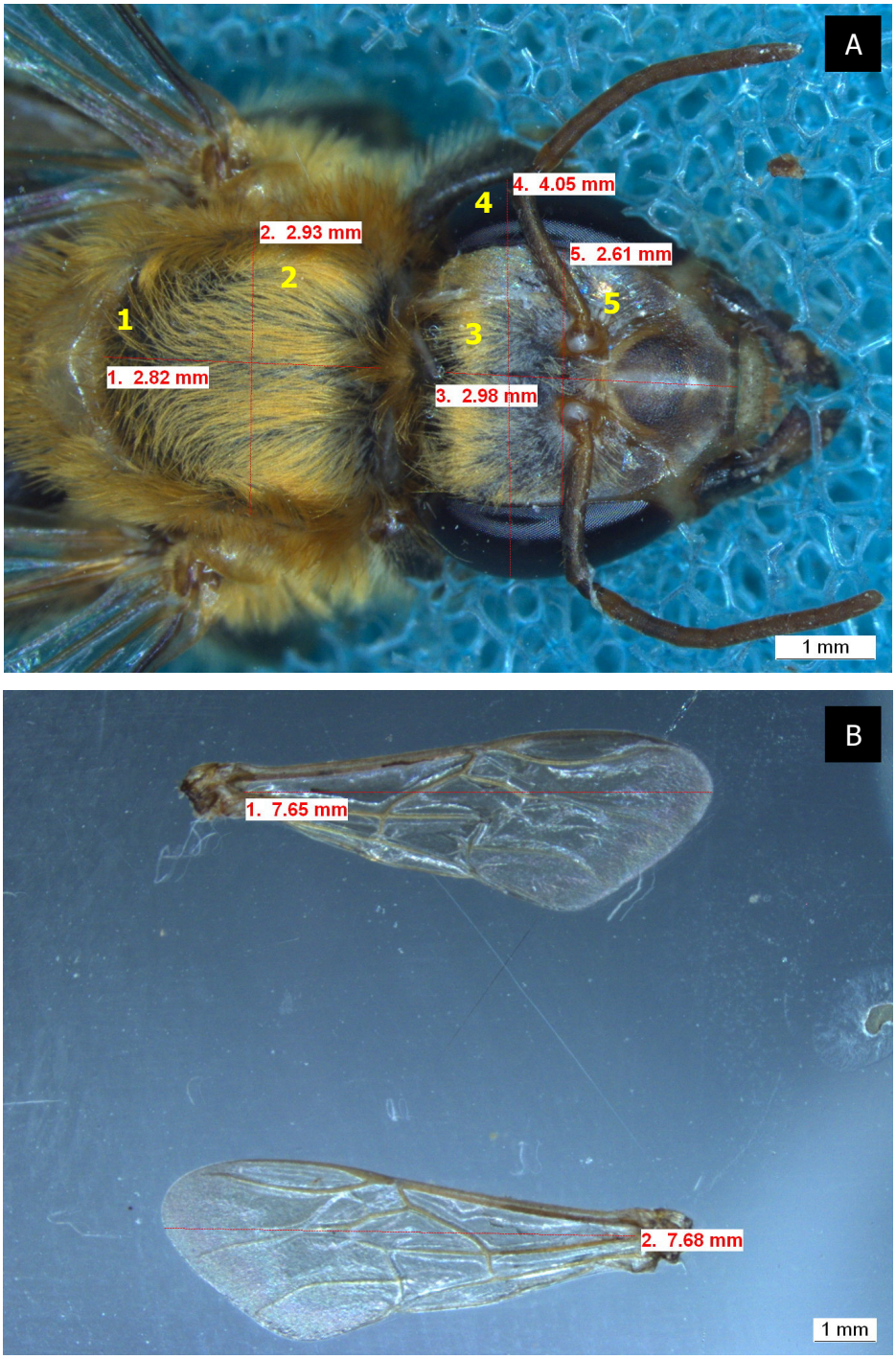

Figura 25. Exemplificação das medidas que foram realizadas nos indivíduos para posterior comparação entre os tamanhos (corpo e asas) atingidos de acordo com a temperatura em foram submetidos. (A) Medidas do corpo (tórax: 1- comprimento do mesoscuto e 2- distância intertegular; e cabeça: 3- distância entre ocelo médio e início do labro, 4- largura da cabeça e 5- distância interorbital) e (B) Medidas das asas (comprimento).

3.2.4. Comportamento adulto

Os indivíduos marcados com tinta Acrilex® e devolvidos a colônia de origem, foram esperados na saída/entrada da colônia, que foi conferida diariamente até o momento em que os indivíduos começaram a forragear. Por meio deste, foi possível avaliar o comportamento adulto, ou seja, analisar se o desenvolvimento em condições experimentais (influência de temperatura) pode comprometer as habilidades de forrageio como o limiar de resposta gustativa.

As abelhas submetidas ao Reflexo de Extensão da Probóscide (*Proboscis Extension Reflex*, PER) foram coletadas por meio de uma rede entomológica na entrada da colônia (lembrando que estas abelhas estavam marcadas com tinta Acrilex®, seguindo um código de cores). Após cada coleta, as abelhas foram fixadas em um suporte de isopor e imobilizadas confortavelmente em bicos de pipetas cortados e adaptados, onde foi possível apenas o movimento das antenas e peças bucais. As abelhas permaneciam imobilizadas por 2 horas para a aceitação do ambiente até o início do teste (Figura 26). Para o teste foi utilizado 9 soluções de sacarose oferecidas crescentemente (0,1%; 0,3%; 1%; 3%; 10%; 20%; 30%; 40%; 50%) intercalando e começando com água. As soluções como também a água foram oferecidas em uma seringa, onde foi possível proporcionar apenas uma gota. Assim, foi oferecido para cada abelha 9 tipos de concentrações de sacarose com 9 intervalos de água. A água é oferecida a fim de neutralizar os sentidos da abelha, para que ela não leve em consideração o estímulo (solução) anterior. Quando as soluções tocaram as antenas dos indivíduos e estes aceitaram o estímulo (esticando a probóscide) não foi oferecida recompensa, ou seja, não foi permitido que a abelha tomasse a gota da solução de sacarose proporcionada. Para a análise dos resultados obtidos por meio do PER, foi utilizada uma pontuação de acordo com o número de respostas dos indivíduos (exemplificada na Tabela 5) utilizada por McCabe *et al*. (2007), onde cada resposta, ou seja, cada reflexo de extensão da probóscide, conta pontos. A contagem desses pontos é realizada dependendo da resposta da abelha, ou seja, se esta respondeu para a concentração açucarada (xarope) ou para a água (oferecida antes e depois das concentrações). Por exemplo, se um indivíduo responde para as

concentrações 1%, 30%, 40% e 50%, a soma da pontuação será de três pontos. Neste caso, a abelha respondeu corretamente nas últimas concentrações (30%, 40% e 50%), não respondendo a água. Mas respondeu também a concentração 1% e não respondeu as próximas concentrações crescentes (3%, 10% e 20%), então essa resposta não poderá ser considerada, pela distância que existe entre as respostas.

Tabela 5. Exemplificação da pontuação realizada para o reflexo de extensão da probóscide (sinais: + = indicam onde as abelhas responderam ao estímulo; - = indicam onde não responderam ao estímulo).

Ind.	**[ ]**																			
	água	0,1%	água	0,3%	água	1%	água	3%	água	10%	água	20%	água	30%	água	40%	água	50%	Pontos
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	-	+	**5**
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	**5**
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	**2**
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	**0**
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	**0**
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	**3**
7	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	**6**
8	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	**6**
9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	**5**
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	**0**

No caso de resposta a água (acompanhada de uma resposta a concentração anterior ou posterior), quando esta acontecer apenas uma única vez, será desconsiderada, ou seja, como se esta resposta não ocorrera, permitindo a soma daquela concentração de sacarose que se encontra próxima aquela resposta para água. Quando houver mais de uma resposta a água, já será desconsiderada a concentração que está próxima aquela resposta. Por exemplo, o indivíduo que

respondeu a concentração 1% e em seguida respondeu a água também, apenas uma vez, será desconsiderada a resposta a água e a resposta a concentração 1% permanecerá na pontuação. Já o indivíduo que responder a duas concentrações e assim duas águas também, as duas concentrações serão desconsideradas para a pontuação.

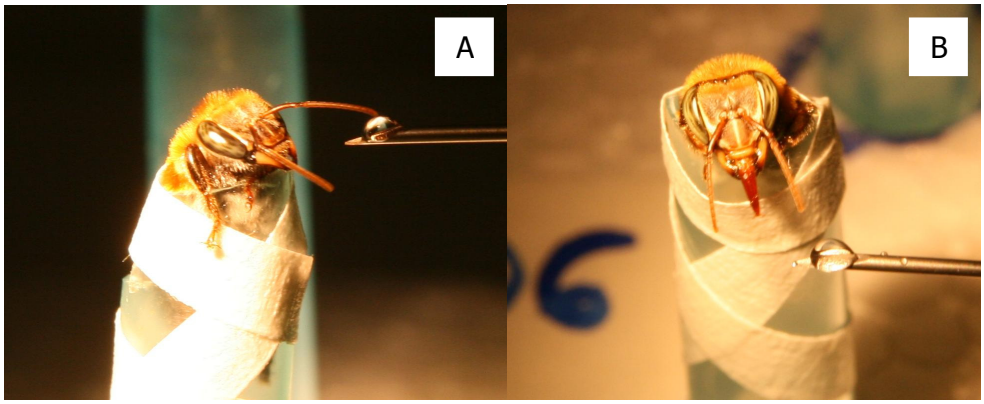

Figura 26. Local onde foram fixadas as abelhas. (A) Gota da solução de sacarose sendo oferecida, tocando as antenas. (B) Reflexo de extensão da probóscide para a solução de sacarose oferecida sem que a abelha receba (ingerir) a solução.

3. 3. Resultados

Por meio dos resultados adquiridos foi possível observar a influência da temperatura durante o desenvolvimento das abelhas para comparar morfologia, índice de mortalidade, tempo de desenvolvimento das pupas e o comportamento adulto, que podem ser observados na Tabela 6.

Tabela 6. Resumo e comparação dos valores obtidos nos experimentos do desenvolvimento na estufa. Como controle foi usado um favo desenvolvido na colônia (caixa de observação). Indicadas são as médias ± desvio padrão (temperatura; medidas das abelhas; placar gustativo) ou os números integrais (número de pupas; tempo de desenvolvimento, TD; mortalidade). As medidas das abelhas conforme a figura 25 são (1) Comprimento do mesoscuto; (2) Distância intertegular; (3) Distância ocelo médio - início do labro; (4) Largura da cabeça; (5) Distância interorbital; a deformação entre as asas foi calculado usando equação 1; PER = *Proboscis Extension Reflex* (Reflexo da Extensão da Probóscide). Os dados foram comparados usando o teste qui-quadrado (comparação sempre com o grupo controle;* indica *P*< 0,05; ** indica *P*< 0,01) ou os testes Kruskal-Wallis ANOVA on Ranks e One-Way-ANOVA (letras sobrescritas diferentes a-c indicam grupos de dados significativamente diferentes: Dunn's test ou Tukey test, *P* ≤ 0,05).

			Colônia	**Estufa**			**Estatística**	
			Controle	28°C	30°C	32°C	Teste Qui-Quadrado (χ^2)	Kruskal-Wallis test One-Way ANOVA
	Número de pupas		55	48	42	90	-	-
Temperatura	$T_{média}$ (°C)		30,3 ± 0,1^{a}	27,9 ± 0,2^{b}	29,9 ± 0,4^{a}	31,5 ± 0,2^{c}	-	H = 97,5; *P*< 0,001
	$T_{mínima}$ (°C)		28,8 ± 0,2^{a}	26,5 ± 0,1^{b}	28,5 ± 0,8^{a}	30,4 ± 0,4^{c}	-	H = 95,7; *P*< 0,001
	$T_{máxima}$ (°C)		31,7 ± 0,1^{a}	29,3 ± 0,3^{b}	31,2± 0,3^{c}	32,9 ± 0,3^{a}	-	H = 106,7; *P*< 0,001
	Variação diária (%)		2,7 ± 0,2^{a}	2,4 ± 0,5^{a}	2,5 ± 0,9^{a}	1,4± 0,2^{b}	-	H = 35,6; *P*< 0,001
TD	$TD_{antes\text{-}max}$(dias)		19	18	17	17	0,03; 0,11; 0,11	-
	$TD_{experimento}$ (dias)		22	31	48**	20	1,53; 9,66; 0,09	-
	$TD_{total\text{-}max}$ (dias)		41	49	65*	37	0,71; 5,43; 0,21	-
	Mortalidade (%)		3,6	62,5**	14,3*	8,8	52,5; 6,56; 2,18	-
Medidas das abelhas	Cabeça/Tórax	1 (mm)	3,10 ± 0,06^{a}	2,91 ± 0,10^{b}	2,97 ± 0,09^{b}	2,90 ± 0,11^{b}	-	F = 18,5; *P*< 0,001
		2 (mm)	3,02 ± 0,05^{a}	2,88 ± 0,07^{b}	2,93 ± 0,05^{b}	2,93 ± 0,10^{b}	-	F = 12,1; *P*< 0,001
		3 (mm)	3,00 ± 0,03^{a}	2,87 ± 0,07^{b}	2,92 ± 0,07^{bc}	2,96 ± 0,09^{ac}	-	H = 28,0; *P*< 0,001
		4 (mm)	4,07 ± 0,05	4,02 ± 0,04	4,03 ± 0,05	4,05 ± 0,09	-	F = 2,3; *P* = 0,088
		5 (mm)	2,71 ± 0,04^{a}	2,55 ± 0,04^{b}	2,56 ± 0,06^{bc}	2,60 ± 0,13^{c}	-	H = 48,4; *P*< 0,001
	Asas	Direita (mm)	7,88 ± 0,06	7,73 ± 0,08	7,77 ± 0,12	7,70 ± 0,22	-	-
		Esquerda (mm)	7,90 ± 0,07	7,74 ± 0,05	7,79 ± 0,11	7,70 ± 0,13	-	-
		Média (mm)	7,89 ± 0,06^{a}	7,73 ± 0,06^{b}	7,78 ± 0,06^{b}	7,70 ± 0,16^{b}	-	H = 29,7; *P*< 0,001
		Deformação (%)	0,38 ± 0,12	0,37 ± 0,11	0,42 ± 0,20	0,64 ± 0,78	-	H = 0,2; *P* = 0,983
PER	Placar gustativo		4,9 ± 1,6^{a}	2,8 ± 1,6^{b}	3,3 ± 1,4^{b}	4,6 ± 1,4^{a}	-	H = 21,3; *P*< 0,001
	Número de abelhas		20	12	12	20	-	-

3.3.1. Tratamento controle

Nesse tratamento, o favo submetido a um desenvolvimento isolado (ao lado da colônia) na caixa de observação (C.O.), foi de 55 células e o tempo de desenvolvimento pupal foi de 22 dias (geral; período de: 10/07/2010-31/07/2010). De acordo com o mapeamento realizado no favo, as primeiras 15 abelhas emergiram com 19 dias. No 20º dia, emergiram 18 abelhas (entre estas, 2 rainhas virgens) e no 21º dia nasceram 9 abelhas. No último dia do desenvolvimento (utilizado como base para o trabalho – 20º dia) 11 abelhas emergiram (entre estas, 1 rainha). No total, emergiram 3 rainhas virgens que foram devolvidas a colônia de origem. Na emergência dos indivíduos, nenhum apresentou morte por falha ontogênica, porém 2 indivíduos não emergiram. Além disso, nenhum dos indivíduos emergidos apresentou deformações, ou seja, falta das pernas, asas ou antenas. Portanto, a taxa de mortalidade foi de 3,6%, sugerindo que essa média de temperatura mantida dentro das áreas de cria em abelhas sem ferrão é suficiente para o sucesso no desenvolvimento.

As temperaturas atingidas dentro da caixa de observação (Tabela 6) e na área de cria (colônia) foram próximas. Essas apresentaram médias de 30,3ºC±0,1 e 30,5ºC±0,32, respectivamente. Não houve diferença estatística entre estas temperaturas (Kruskal-Wallis ANOVA on Ranks: H = 43,6; $P < 0,001$; Dunn's test $T_{C.O.}$ versus T_{cria}: $P < 0,05$). A periferia do ninho apresentou uma temperatura média de 27,2ºC±0,46 e foi significativamente diferente das temperaturas dentro da caixa de observação e da área de cria (Dunn's test: $P > 0,05$). As temperaturas máximas foram de 31,7ºC±0,1 para a caixa de observação, 31,9ºC±0,23 para a área de cria e 28,7ºC±0,55 para a periferia do ninho. Assim, a temperatura mínima da caixa de observação foi de 28,8ºC±0,2. A área de cria apresentou temperatura mínima de 28,4ºC±0,52 e a periferia do ninho apresentou temperatura mínima de 25,7ºC±0,63. A variação diária de temperatura ofereceu 2,7%±0,2 (Tabela 6).

Após a emergência das abelhas, foram selecionados aleatoriamente 20 indivíduos (operárias). Assim, foi possível a retirada das medidas do corpo para

posterior comparação entre os tratamentos experimentais. As medidas foram separadas por meio de médias, para cada tipo de medida já citada anteriormente (veja material e métodos), que estão representadas na tabela a seguir (Tabela 6). As medidas realizadas para as asas (medidas 6 e 7) apresentaram média de 7,88mm±0,06 e 7,90mm±0,07 (direita e esquerda), com deformação de 0,38%±0,12 (calculado por meio da fórmula demonstrada acima). As médias apresentadas para o tórax foram de 3,10mm±0,06 para o comprimento do mesoscuto (medida 1) e 3,02mm±0,05 para a distância intertegular (medida 2). Na cabeça, as médias foram de 3,00mm±0,03 para a distância entre o ocelo médio e o início do labro (medida 3), 4,07mm±0,05 para a largura da cabeça (medida 4) e 2,71mm±0,04 para a distância interorbital (medida 5), para detalhes veja Tabela 6.

3.3.2. Tratamentos experimentais

Temperaturas durante os tratamentos

Na estufa, onde estavam os favos em desenvolvimento foram registradas as temperaturas para cada tratamento. No tratamento à 28ºC, as temperaturas atingidas pela estufa são de 27,9ºC±0,2 para a temperatura média, 26,5ºC±0,1 para a temperatura mínima e 29,3ºC±0,3 para a temperatura máxima, assim apresentando uma variação diária de temperatura de 2,4%±0,5 (Tabela 6). Além disso, no tratamento à 30ºC, a variação diária da temperatura dentro da estufa foi maior que nos outros tratamentos, uma vez que a estufa possui oscilações (Tabela 6). No interior da estufa (durante o desenvolvimento do favo), a temperatura apresentou média de 29,9ºC±0,4. A temperatura máxima foi 31,2ºC±0,3 e a temperatura mínima foi 28,5ºC±0,8, desse modo, apresentando uma variação diária de temperatura de 2,5%±0,9. No tratamento à 32ºC foi abordada média de 31,5ºC±0,2. A temperatura mínima atingida pela estufa foi de 30,4ºC±0,4 e a

temperatura máxima atingida pela mesma foi de 32,9ºC±0,3, portanto com uma variação diária de 1,4%±0,2 de temperatura (Tabela 6).

Foram realizadas as comparações entre as temperaturas médias, mínimas, máximas, variação de temperatura e todos os tratamentos desenvolvidos (controle, 28, 30 e 32ºC), onde se pode notar que o tratamento de 28ºC foi o que apresentou temperaturas menores, entretanto o tratamento de 32ºC foi o que apresentou menor variação diária de temperatura, assim apresentando diferença entre os demais tratamentos que por sua vez são semelhantes (Figura 27; Kruskal-Wallis test One-Way ANOVA: H = 35,6; $P < 0,001$). As temperaturas médias e mínimas dos tratamentos de 28 e 32ºC diferem do tratamento controle enquanto que o tratamento de 30ºC apresentou semelhança em comparação com o tratamento controle (Figura 27; Kruskal-Wallis test One-Way ANOVA: H = 97,5; $P < 0,001$). As temperaturas máximas do tratamento de 28 e 30ºC foram estatisticamente diferentes com relação aos tratamentos controle e 32ºC, estes apresentaram semelhanças (Kruskal-Wallis test One-Way ANOVA: H = 106,7; $P < 0,001$).

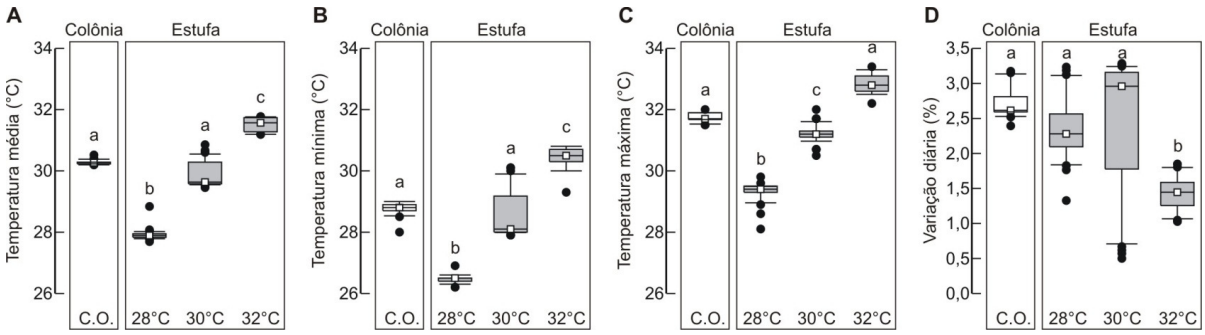

Figura 27. Temperaturas e variação diária da temperatura na área do desenvolvimento da cria (fase de pupa) registrada durante o experimento. A linha central da caixa dos *boxplot*, enfatizada pelo quadrado branco, marca a mediana, a parte inferior da caixa é delimitada pelo quartil inferior e a parte superior pelo quartil superior. As hastes delimitam a distribuição de 95% dos dados. Os valores inferiores e superiores (*outliers*) a 95% são representados individualmente. *Box* branca: favos controle – caixa de observação (C.O.) acoplada a uma colônia de *Melipona scutellaris*. *Box* cinza: favos desenvolvidos na estufa. As temperaturas médias e mínimas obtidas na estufa a 30°C não diferem das do grupo controle, desenvolvido em C.O. Os grupos foram comparados usando o teste Kruskal-Wallis ANOVA on Ranks. Letras sobrescritas diferentes (a-c) indicam grupos de dados significativamente diferentes (Dunn's test: $P \leq 0,05$). Para detalhes da estatística veja Tabela 6. Número de dias do experimento: $N_{C.O.} = 55$; $N_{28°C} = 48$; $N_{30°C} = 42$; $N_{32°C} = 90$.

Desenvolvimento nos tratamentos

A – Tempo de desenvolvimento e mortalidade

O favo submetido ao tratamento de 28ºC na estufa B.O.D. apresentava 48 células (48 indivíduos) para um desenvolvimento pupal (geral) de 30 dias (período de: 22/11/2010-22/12/2010). Criteriosamente, as primeiras 5 operárias emergiram com 28 dias, no 29º dia nasceram 8 operárias e no 30º dia emergiram 5 operárias, nenhuma rainha virgem emergiu durante esse tratamento, porém havia 2 rainhas virgens entre os indivíduos que não emergiram (mortos). A taxa de mortalidade alcançou 62,5% (morte de 30 células e/ou indivíduos), um índice relativamente denso, entretanto todos esses indivíduos mortos estavam perfeitos (morfologicamente) para emergir. Esse fato sugere que as abelhas sem ferrão (onde a média "adequada" para o sucesso do desenvolvimento e a sobrevivência da cria é de aproximadamente 30ºC), talvez sejam mais sensíveis à estufa com temperaturas mais amenas ou talvez acontecesse alguma falha no controle de umidade dentro da estufa. Os indivíduos emergidos não apresentaram nenhuma deformação com relação à falta de pernas, asas ou antenas.

Entretanto, o favo incubado submetido à temperatura de 30ºC dentro da estufa B.O.D. foi de 42 células e a duração do desenvolvimento pupal (geral) foi de 48 dias (período de: 03/02/2010-22/03/2010). De acordo com o mapeamento realizado no favo, os primeiros 6 indivíduos emergiram com 39 dias de desenvolvimento. No 40º dia nasceram 3 abelhas e 42º dia emergiram 8 abelhas. Além disso, emergiram 4 abelhas com 43 dias e 9 abelhas com 45 dias. No 46º dia emergiram 3 abelhas e no último dia do desenvolvimento (utilizado como base – 48 dias) emergiram 3 abelhas. A taxa de mortalidade para esse desenvolvimento foi relativamente densa, pois apresentou 14,3%, possivelmente pelo atraso (dias) nas emergências dentro da estufa. Dessa mortalidade presente, um indivíduo não completou as fases do desenvolvimento, assim havia apenas a pigmentação dos

olhos e a cabeça se encontrava achatada. É interessante ressalvar que nesse tratamento emergiram duas rainhas virgens, as quais foram devolvidas a colônia de origem.

No tratamento à 32ºC, as abelhas que emergiram foram saudáveis, com exceção de 8 que não completaram a fase do desenvolvimento pupal. A taxa de mortalidade desse favo incubado foi de 8,8% para 90 células submetidas a essas condições. Nenhum indivíduo emergido apresentou deformações como falta de pernas, asas ou antenas. O tempo de desenvolvimento na fase de pupa (geral) foi de 20 dias (período de: 29/10/2010-17/11/2010). Entretanto, a emergência desses indivíduos se iniciou no 17º dia, onde emergiram 28 abelhas (entre estas, 3 rainhas virgens). No 18º dia emergiram 25 abelhas (entre estas, 1 rainha virgem), no 19º dia nasceram 12 abelhas e por fim, no último dia do desenvolvimento (20º dia) emergiram 17 abelhas (entre estas, 1 rainha virgem). No entanto, emergiram nesse tratamento 5 rainhas virgens, que foram devolvidas a colônia de origem.

B – Medidas

Para todos os tratamentos e após as emergências, foram selecionadas 20 operárias para a retirada das medidas dos corpos e das asas, com exceção das abelhas emergidas do desenvolvimento à 28ºC, pois a taxa de mortalidade foi alta e assim muitas abelhas não emergiram, como já citado anteriormente. Por esse motivo, não foi possível utilizar as abelhas recém-nascidas para a medição, pois era necessário manter as 18 abelhas emergidas vivas para analisar o comportamento adulto das mesmas. Portanto, as medidas dessas abelhas foram realizadas após essa análise, ou seja, após o PER no momento do forrageio, apesar de que as abelhas apresentaram tamanhos similares quando comparadas com as recém-nascidas de outros tratamentos. Talvez, o fato de que essas abelhas apresentaram problemas durante o desenvolvimento na estufa, seja a explicação para o pouco crescimento desses indivíduos. As medidas das abelhas foram apresentadas em médias para cada medida realizada (Tabela 6). Para as asas foi verificada a média de 7,73mm±0,08 e

7,74mm±0,05 (direita e esquerda), com deformação (calculada pela equação e demonstrada na Tabela 6) de 0,37%±0,11. A média das medidas do tórax foram 2,91mm±0,10 para o comprimento do mesoscuto (medida 1) e 2,88mm±0,07 para a distância intertegular (medida 2). Assim, as médias das medidas da cabeça foram de 2,87mm±0,07 (distância entre ocelo médio e início do labro), 4,02mm±0,04 (largura da cabeça) e 2,55mm±0,04 (distância interorbital), para as medidas 3, 4 e 5, respectivamente.

As medidas utilizadas (citadas anteriormente) do corpo e da asa para as operárias desenvolvidas no tratamento de 30ºC na estufa também foram separadas por meio de médias, demonstradas na tabela 6. A média para o comprimento das asas (direita e esquerda) foi de 7,77mm±0,12 e 7,79mm±0,11, respectivamente. O grau de deformação para essas asas foram de 0,42%±0,20. Nas medidas do corpo, os indivíduos recém-emergidos apresentaram média de 2,97mm±0,09 para o comprimento do mesoscuto (medida 1) e 2,93mm±0,05 para a distância intertegular (medida 2), pertencentes ao tórax. Na cabeça, a distância entre ocelo médio e o início do labro (medida 3) apresentou média de 2,92mm±0,07, enquanto a largura da cabeça (medida 4) apresentou média de 4,03mm±0,05. Por fim, a distância interorbital (medida 5) proporcionou uma média de 2,56mm±0,06.

Após a emergência das abelhas provenientes do desenvolvimento de 32ºC e a separação das mesmas para a realização das medidas, foram separadas as médias para cada medida estipulada, ou seja, para as 2 medidas do tórax, 3 medidas da cabeça e 2 medidas da asa (Tabela 6). A média para o comprimento das asas foi de 7,70mm±0,22 e 7,70mm±0,13 (direita e esquerda), assim com deformação de 0,64%±0,78. A média obtida para o tórax foi de 2,90mm±0,11 para a medida 1 (comprimento do mesoscuto) e 2,93mm±0,10 para a medida 2 (distância intertegular). Para a cabeça as médias obtidas foram de 2,96mm±0,09 para a medida 3 (distância entre o ocelo médio e o início do labro), 4,05mm±0,09 para a medida 4 (largura da cabeça) e 2,60mm±0,13 para a medida 5 (distância interorbital).

Comparação entre os desenvolvimentos e medidas

A – Tempo de desenvolvimento e mortalidade

Conforme as taxas de mortalidade e a duração do desenvolvimento total (dias), demonstradas na tabela 6 e já citadas anteriormente, foram realizadas comparações com os tratamentos (controle, 28, 30 e 32ºC), sendo que o maior desenvolvimento foi para o tratamento de 30ºC (65 dias), enquanto o menor foi para o tratamento de 32ºC (37 dias), demonstrado na figura 28. O tempo de desenvolvimento total, ou seja, o tempo de desenvolvimento antes da retirada dos favos da colônia ($TD_{antes\text{-}max}$) e o tempo de desenvolvimento durante os tratamentos na estufa ($TD_{experimento}$) foram comparados com os tratamentos experimentais (controle, 28, 30 e 32ºC) por meio do teste Qui-Quadrado (x^2). O $TD_{antes\text{-}max}$ apresentou 18 e 17 dias para os tratamentos experimentais na estufa (28, 30 e 32ºC) e o tratamento controle apresentou 19 dias (teste x^2 = 0,03; 0,11; 0,11). O $TD_{experimento}$ foi de 31 dias para o tratamento de 28ºC, 48 dias para o tratamento de 30ºC e 20 dias para o tratamento de 32ºC, onde o tratamento controle apresentou 22 dias (teste x^2 = 1,53; 9,66; 0,09). Portanto, o tempo de desenvolvimento total no tratamento de 30ºC difere do tratamento controle ($P < 0,05$; Figura 28; Tabela 6).

A taxa de mortalidade foi relativamente pequena na caixa de observação (C.O. – controle), entretanto o tratamento de 28ºC apresentou uma taxa de mortalidade muito elevada, apresentando diferença estatística em comparação com o grupo controle ($P < 0,01$) e sugerindo uma falha na manutenção dentro da estufa (Figura 28). Apesar do tratamento de 30ºC ter apresentado mortalidade mais baixa em relação ao tratamento de 28ºC, o grupo de 32ºC também difere estatisticamente do grupo controle ($P < 0,05$; Figura 28; Tabela 6).

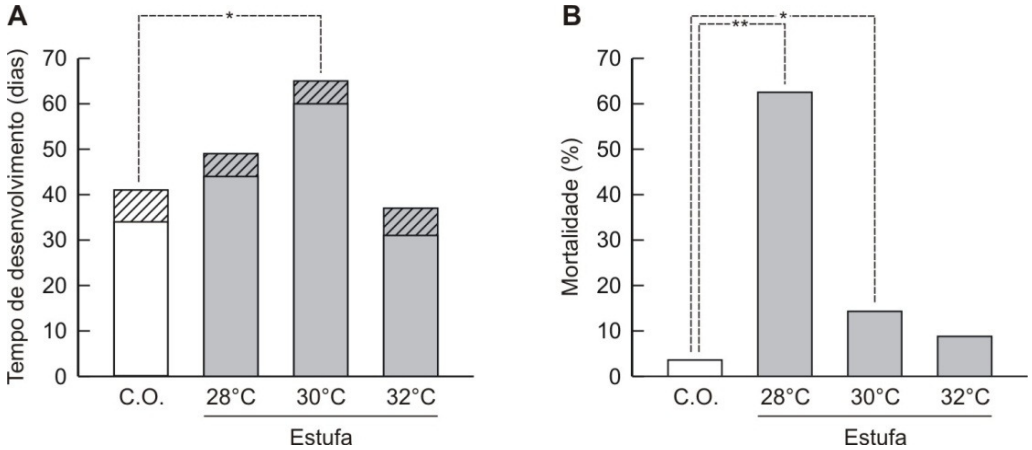

Figura 28. . Tempo de desenvolvimento (**A**) e mortalidade (**B**) da cria observada nos experimentos. Barras em **A** representam os tempos mínimos e máximos (parte listrada) do desenvolvimento total das abelhas. Os valores obtidos na estufa (barras cinza) foram comparados com os valores obtidos no grupo controle (favos desenvolvidos em uma caixa de observação, C.O., acoplada a uma colônia de *Melipona scutellaris*) usando testes qui-quadrado. * indica $P < 0,05$; ** indica $P < 0,01$. Para detalhes da estatística veja Tabela 6. Número de pupas: $N_{C.O.} = 22$; $N_{28°C} = 31$; $N_{30°C} = 48$; $N_{32°C} = 20$.

B - Medidas

Para verificar diferença entre os grupos (tratamentos) com relação aos tamanhos atingidos pelos indivíduos, foi utilizada a análise discriminante canônica, onde foi possível observar que as operárias do grupo (M30°CII - controle) foram segregadas das operárias do grupo (M28°C) (M30°CII vs. M28°C: distância de Mahalanobis = 11,776; $F_{6, 63} = 13,638$; $P < 0,001$), das operárias do grupo (M30°C) (M30°CII vs. M30°C: distância de Mahalanobis = 8,757; $F_{6, 63} = 13,522$; $P < 0,001$) e das operárias do grupo (M32°C) (M30°CII vs. M32°C: distância de Mahalanobis = 12,700; $F_{6, 63} = 19,610$; $P < 0,001$) (Figura 29). De acordo com a análise discriminante *stepwise*, os grupos foram significativamente separados (Modelo global: λ de *Wilks* = 0,190; $F_{18, 178} = 7,916$; $P < 0,001$). As medidas responsáveis pela segregação dos grupos foram, nesta ordem, o comprimento do mesoscuto, a distância interorbital, a distância entre o ocelo médio e início do labro, o comprimento da asa, a largura da cabeça e a distância intertegular.

A classificação de matriz resultou em uma porcentagem de 72,5% de correta alocação das operárias em seus respectivos grupos. É interessante ressaltar

que 100% dos indivíduos pertencentes ao grupo M30°CII (controle) foram classificados corretamente.

O gráfico gerado pelo *plot* da primeira com a segunda raiz da análise discriminante canônica aparentemente não mostrou uma separação entre os grupos M28°C e M30°C (M28°C vs. M30°C: distância de Mahalanobis = 1,274; $F_{6,\ 63}$ = 1,479; P = 0,201) (Figura 29). O valor da distância de Mahalanobis entre os dois grupos são baixos, evidenciando uma proximidade entre os indivíduos desses grupos.

O grupo M32°C está mais próximo ao grupo de M30°C (M32°C vs. M30°C: distância de Mahalanobis = 2,471; $F_{6,\ 63}$ = 3,815; P = 0,003).

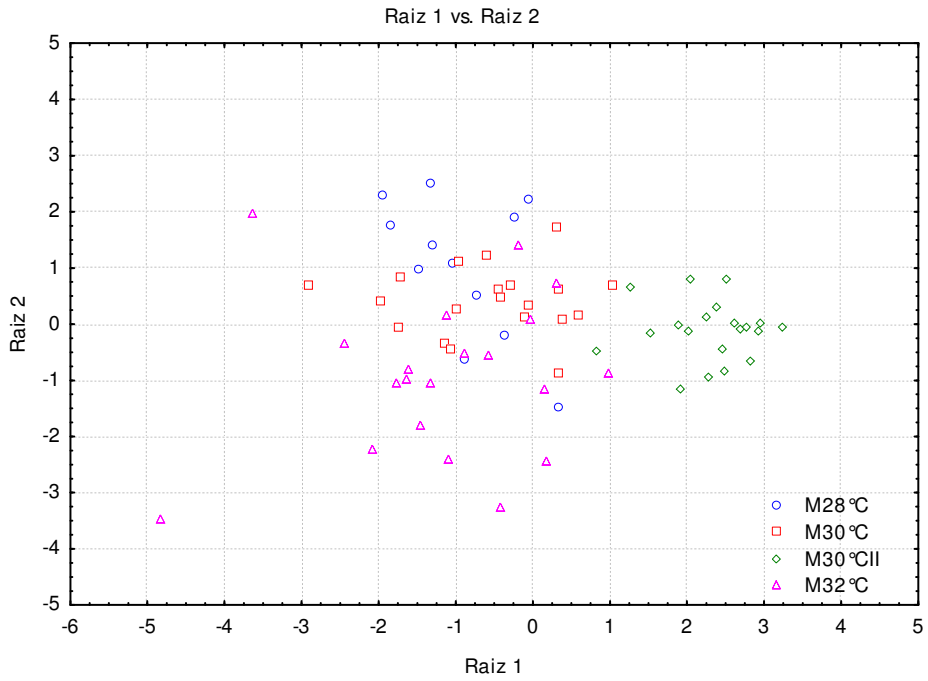

Figura 29. Análise de discriminante canônica realizada com as medidas para os grupos de operárias. M28°C- grupo de operárias desenvolvidas no tratamento de 28ºC (estufa); M30°C- grupo de operárias desenvolvidas no tratamento de 30ºC (estufa); M30°CII- grupo de operárias desenvolvidas no tratamento controle (caixa de observação); M32°C- grupo de operárias desenvolvidas no tratamento de 32ºC (estufa).

A análise discriminante canônica identificou as seguintes medidas responsável pela segregação dos grupos (em ordem de importância): comprimento

do mesoscuto > distância interorbital > distância entre o ocelo médio e início do labro > comprimento da asa > largura da cabeça > distância intertegular. Para verificar se estas medidas realmente diferiam significativamente entre os grupos, foram realizadas análises de variância (One-Way ANOVA ou Kruskal-Wallis test) (Figura 30 e 31; Tabela 6).

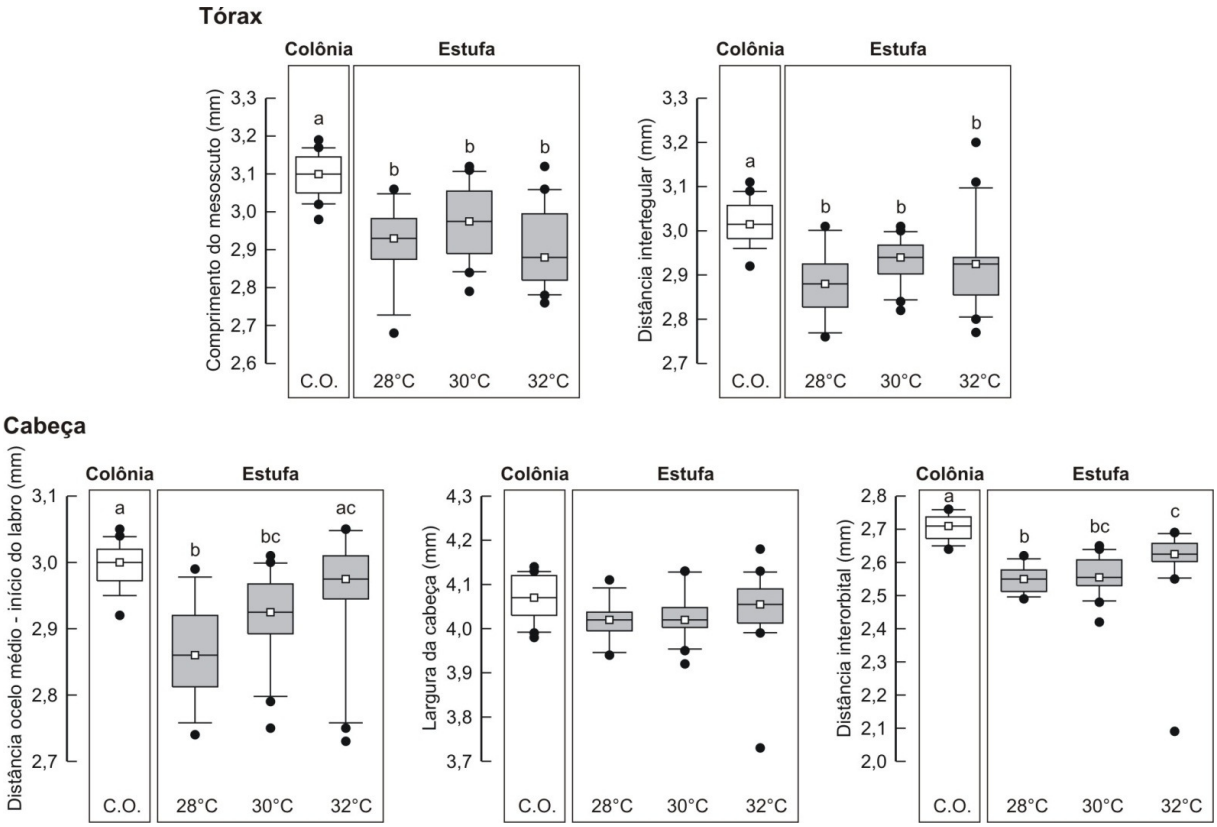

Figura 30. Medidas do tórax e da cabeça das abelhas desenvolvidas durante o experimento. A linha central da caixa dos *boxplot*, enfatizada pelo quadrado branco, marca a mediana, a parte inferior da caixa é delimitada pelo quartil inferior e a parte superior pelo quartil superior. As hastes delimitam a distribuição de 95% dos dados. Os valores inferiores e superiores (*outliers*) às 95% são representados individualmente. *Box* branca: favos controle – caixa de observação (C.O.) acoplada a uma colônia de *Melipona scutellaris*. *Box* cinza: favos desenvolvidos na estufa. Os grupos foram comparados usando o teste Kruskal-Wallis ANOVA on Ranks ou One-Way ANOVA (veja Tabela 6). Letras sobrescritas diferentes (a-c) indicam grupos de dados significativamente diferentes (Dunn's test ou Tukey test: $P \leq 0,05$). Número de abelhas medidas: $N_{C.O.} = 20$; $N_{28°C} = 12$; $N_{30°C} = 20$; $N_{32°C} = 20$.

A comparação das medidas do tórax (comprimento do mesoscuto e distância intertegular) entre os grupos demonstrou que abelhas do tratamento controle obtiveram as maiores medidas (3,10mm e 3,02mm, respectivamente)

comparadas às abelhas dos tratamentos da estufa (comprimento do mesoscuto: Kruskal-Wallis test One-Way ANOVA: F = 18,5; $P < 0,001$; distância intertegular: Kruskal-Wallis test One-Way ANOVA: F = 12,1; $P < 0,001$). É interessante ressaltar que para as duas medidas do tórax houve diferença estatística entre o tratamento controle e os demais tratamentos experimentais (Tukey test: $P < 0,05$; Figura 30; Tabela 6), mas não entre os grupos experimentais (Tukey test: $P > 0,05$; Figura 30, Tabela 6). Foram comparadas as médias entre as medidas da cabeça (distância entre o ocelo médio e o início do labro, largura da cabeça e distância interorbital) e os grupos, demonstrando que as abelhas do tratamento controle também apresentaram medidas maiores que os indivíduos dos tratamentos da estufa, porém na medida 4 (largura da cabeça) não houve diferença estatística entre os tratamentos, assim, apresentando semelhança entre os diferentes grupos (Kruskal-Wallis test One-Way ANOVA: F = 2,3; $P = 0,088$).

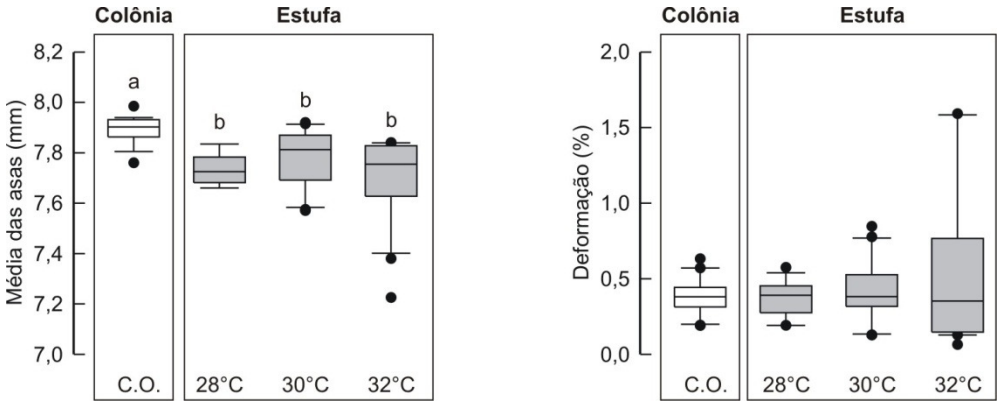

Figura 31. Comprimento das asas (médias das asas direitas e esquerdas do primeiro par de asas) das abelhas desenvolvidas durante o experimento. A linha central da caixa dos *boxplot*, enfatizada pelo quadrado branco, marca a mediana, a parte inferior da caixa é delimitada pelo quartil inferior e a parte superior pelo quartil superior. As hastes delimitam a distribuição de 95% dos dados. Os valores inferiores e superiores (*outliers*) às 95% são representados individualmente. *Box* branca: favos controle – caixa de observação (C.O.) acoplada a uma colônia de *Melipona scutellaris*. *Box* cinza: favos desenvolvidos na estufa. Os grupos foram comparados usando o teste Kruskal-Wallis ANOVA on Ranks (veja Tabela 6). Letras sobrescritas diferentes (a,b) indicam grupos de dados significativamente diferentes (Dunn's test: $P \leq 0,05$). Número de abelhas medidas: $N_{C.O.} = 20$; $N_{28°C} = 12$; $N_{30°C} = 20$; $N_{32°C} = 20$.

A comparação entre as médias das asas (direita e esquerda) demonstra que as abelhas desenvolvidas no tratamento controle diferem estatisticamente com relação às abelhas desenvolvidas nos tratamentos da estufa (Kruskal-Wallis test One-Way ANOVA: H = 29,7; $P < 0,001$), onde foi observado que as asas das abelhas pertencentes ao grupo controle foram maiores que as asas dos demais grupos. Porém a deformação verificada nas asas, por meio da equação (citada acima), não apresentou diferenças significantes (Kruskal-Wallis test One-Way ANOVA: H = 0,2; $P = 0,983$ – Figura 31).

3.3.4. Comportamento adulto

Os indivíduos emergidos e devidamente marcados de todos os tratamentos, ou seja, todas as abelhas que foram desenvolvidas em todas as temperaturas dentro da estufa foram analisadas (no momento do forrageio) pelo limiar gustativo, que em outras palavras, seria a "vontade" da abelha de forragear ou de avaliar uma fonte considerada "boa" para a colônia. O limiar gustativo foi avaliado por meio de uma ferramenta denominada Reflexo de Extensão da Probóscide (PER), como já esclarecido anteriormente.

Durante os testes, considerando todas as abelhas envolvidas (abelhas desenvolvidas em todos os tratamentos), foi verificado que em nenhuma das condições obteve-se a pontuação máxima, ou seja, 9 pontos. Entretanto, houve quatro abelhas que conseguiram 7 pontos, uma vinda do tratamento a 32ºC e outras três derivadas do tratamento controle (30ºC), enquanto que cinco indivíduos não apresentaram pontuação. A menor pontuação atingida foi de 2 pontos, isto representa respostas apenas em concentrações altas de sacarose (40% e 50%), ocorrendo em abelhas submetidas a 28ºC e 30ºC na estufa. O placar gustativo (média da pontuação) está representado na tabela 6. Os indivíduos desenvolvidos no tratamento controle apresentaram um placar gustativo de 4,9±1,6, enquanto os indivíduos desenvolvidos no tratamento de 28ºC apresentaram uma média de pontos de 2,8±1,6, uma média relativamente baixa quando comparada com os demais

indivíduos. As abelhas desenvolvidas no tratamento de 30ºC alcançaram um placar gustativo de 3,3±1,4 e as abelhas desenvolvidas no tratamento de 32ºC apresentaram um placar de 4,6±1,4. Foi verificada a comparação entre o placar gustativo das forrageiras, onde as abelhas dos tratamentos controle (caixa de observação) e 32ºC apresentaram mais sensibilidade, ou seja, apresentaram uma pontuação maior e desse modo, responderam a concentrações mais elevadas. Estes dois grupos diferem dos tratamentos de 28 e 30ºC (Kruskal-Wallis test One-Way ANOVA: H = 21,3; $P < 0,001$ - Figura 32).

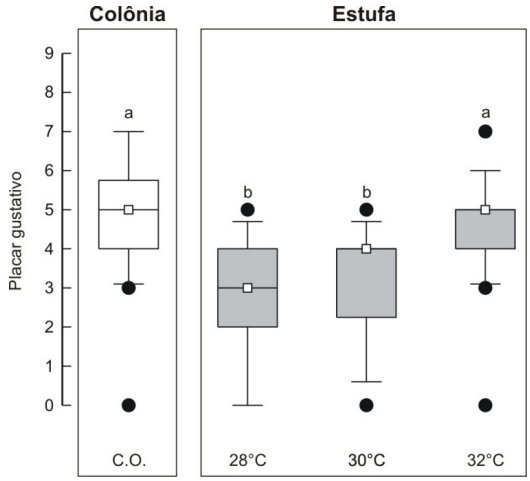

Figura 32. Placar gustativo das forrageadoras desenvolvidas durante o experimento. O placar gustativo das abelhas indica o número de respostas positivas (extensão completa da probóscide) nos experimentos de PER (*Proboscis Extension* Reflex), e é um indicador da sensibilidade gustativa do indivíduo. Um valor alto significa uma sensibilidade alta. A linha central da caixa dos *boxplot*, enfatizada pelo quadrado branco, marca a mediana, a parte inferior da caixa é delimitada pelo quartil inferior e a parte superior pelo quartil superior. As hastes delimitam a distribuição de 95% dos dados. Os valores inferiores e superiores (*outliers*) às 95% são representados individualmente. *Box* branca: abelhas do grupo controle – caixa de observação (C.O.) acoplada a uma colônia de *Melipona scutellaris*. *Box* cinza: abelhas desenvolvidas na estufa. Os grupos foram comparados usando o teste Kruskal-Wallis ANOVA on Ranks. Letras sobrescritas diferentes (a, b) indicam grupos de dados significativamente diferentes (Dunn's test: $P \leq 0,05$). Para detalhes da estatística veja Tabela 6. Número de forrageadoras testadas: $N_{C.O.} = 20$; $N_{28°C} = 12$; $N_{30°C} = 12$; $N_{32°C} = 20$.

3.4. Discussão

A influência de temperatura durante o desenvolvimento da cria não é muito conhecido em abelhas sem ferrão, entretanto nas abelhas melíferas (*Apis mellifera*) existem vários autores que trabalharam esse tema. Tautz *et al*. (2003) avaliaram a influência de temperatura em pupas, para verificar a possibilidade de modificação na aprendizagem e memória. Na emergência dos indivíduos dos grupos determinados, não houve diferença estatística, pois a probabilidade dos nascimentos chegou a quase 100% para todos os grupos. Neste trabalho, os índices de emergências foram menores, uma vez que o grupo desenvolvido à 32ºC apresentou emergência de 91,2%, o grupo desenvolvido à 30ºC apresentou emergência de 85,7% e o grupo desenvolvido para controle apresentou emergência de 96,4%, porém é necessário lembrar que provavelmente há diferença de desenvolvimento pupal entre os gêneros de *Melipona* e *Apis*. O grupo desenvolvido à 28ºC não se encaixou dentro de nenhum contexto, pois nos ninhos de abelhas sem ferrão as áreas de cria registraram temperaturas semelhantes e até inferiores a essa temperatura de 28ºC. Portanto acredita-se que houve problemas de manutenção da estufa B.O.D. durante este tratamento, tendo em vista que o índice de emergência para esse grupo foi de apenas 37,5%. Além disso, é provável que as abelhas sem ferrão (*Melipona*) sejam mais sensíveis a desenvolvimentos em estufa e por esse motivo não houve o sucesso esperado para todos os tratamentos experimentais da estufa, uma vez que todos os tratamentos apresentaram médias menores que o tratamento controle. É interessante ressaltar que o tratamento controle foi observado em uma caixa onde as abelhas (adultas) da colônia tinham acesso e que provavelmente cuidavam da cria.

Abelhas solitárias também foram observadas com relação à influência de temperatura, como em *Centris analis* (Couto e Camilo, 2007) onde foram verificadas as temperaturas consideradas "ideais" para o desenvolvimento (26 e 27ºC). Undurraga e Sthephen (1980), em desenvolvimento de pupas de *Megachile rotundata* descreveram que em baixas temperaturas (4,4, 15,6, 18,3, 21,1 e 23,9ºC)

houve baixa ou nenhuma significância. Esses fatos sugerem uma diferença entre as temperaturas de desenvolvimento entre abelhas solitárias e eusociais.

Atualmente (Vollet-Neto, informação pessoal), foram desenvolvidas pupas de *Scaptotrigona aff. depilis*, onde à 34ºC os indivíduos emergiram perfeitos e o tempo de desenvolvimento foi menor quando comparado com o tempo de desenvolvimento de indivíduos à 30ºC. Esses resultados estão de acordo com os mesmos deste trabalho, pois o tratamento de 32ºC também apresentou um tempo de desenvolvimento menor com relação ao de 30ºC e controle. Porém, é relevante lembrar que Simões (1974) *apud* Cruz-Landim (2004) descreveu que o desenvolvimento pupal em *Melipona quadrifasciata* pode ser de 22 dias. Além disso, Kerr *et al.* (1996) relataram que o desenvolvimento completo de abelhas sem ferrão (*Melipona*) foi de aproximadamente 40 dias. Esses resultados também foram demonstrados neste trabalho, onde os tratamentos controle e 32ºC apresentaram um desenvolvimento pupal de 22 e 20 dias, respectivamente. O desenvolvimento completo dos indivíduos foi de 41 dias para o tratamento controle, 49 dias para o tratamento de 28ºC e de 37 dias para o tratamento de 32ºC, portanto estão de acordo com os dados relatados acima.

Tautz *et al.* (2003) desenvolveram indivíduos de *Apis mellifera* em estufa incubadora e avaliou posteriormente seu desempenho com relação a consolidação de aprendizagem e memória, por meio do PER, demonstrando a existência de testes para avaliar a performance de indivíduos que foram desenvolvidos (em algum momento) em estufas incubadoras. Neste trabalho, o PER também foi utilizado como ferramenta para avaliar o desempenho das abelhas desenvolvidas nos tratamentos e verificar se estas atuam com a mesma eficiência em relação às outras abelhas da colônia (controle). Foi utilizado para a resposta gustativa, concentrações um pouco maiores que as aproveitadas por Tautz *et al.* (2003) e Page *et al.* (1998) em *Apis mellifera.* As concentrações utilizadas neste trabalho foram sugeridas por McCabe *et al.* (2007) com abelhas *Melipona quadrifasciata*, e foram bem aceitas por serem realizadas com abelhas sem ferrão.

Foi observado que não houve nenhuma resposta as concentrações de 0,1% e 0,3%, o que é comum entre os demais autores (Pankiw e Page, 2001;

McCabe *et al.*, 2007), pois são concentrações relativamente muito baixas e assim talvez as abelhas analisem que não é uma concentração suficiente para elas ou para a colônia. Desse modo, as abelhas discriminam essas soluções.

Com os dados obtidos, acredita-se que "falha" no desenvolvimento das abelhas sem ferrão (no caso, *Melipona scutellaris*) pode causar "problemas" comportamentais na vida adulta. As abelhas desenvolvidas em 28ºC e 30ºC apresentaram problemas no desenvolvimento, pois houve atrasos na emergência (desenvolvimento) e por conseqüência maior taxa de mortalidade. Posteriormente, as mesmas abelhas apresentaram placares gustativos menores que as demais, indicando que os "problemas" no desenvolvimento perduraram para a vida adulta, tornando-as menos sensíveis no momento do forrageio, que no caso, pode trazer malefícios à colônia. O tratamento de 32ºC apresentou resultados semelhantes ao tratamento controle, porém as condições da estufa eram as mesmas utilizadas para os tratamentos de 28 e 30ºC. Isso sugere que em estufas incubadoras talvez fosse necessário utilizar temperaturas um pouco maiores que as registradas pela colônia, como ocorreu também em *Scaptotrigona aff. depilis* (Vollet-Neto, informação pessoal) à 34ºC, onde o desenvolvimento foi mais rápido que o "normal", com 6 dias de diferença.

As medidas do corpo e da asa realizadas nas abelhas dos diferentes tratamentos foram analisadas de acordo com Aleixo (2009) em medidas morfométricas de colônias mistas entre *Scaptotrigona aff. depilis* e *Nannotrigona testaceicornes*. No entanto, medidas realizadas para a comparação de desenvolvimento em temperaturas distintas, como uma ferramenta, foram utilizadas por Jones *et al.* (2005) em abelhas melíferas, apenas com medidas de asas (medidas de assimetria), onde não apresentaram diferença entre as temperaturas em que as abelhas foram incubadas. Todas as abelhas desenvolvidas em tratamentos na estufa apresentaram tamanhos do corpo menores que as desenvolvidas no tratamento controle. Esse fato sugere que além dos problemas de temperatura no desenvolvimento alterar índices comportamentais, também atinge índices morfológicos. Neste caso, as abelhas desenvolvidas em 32ºC também apresentaram medidas menores com relação às abelhas do controle, sugerindo que mesmo para

estas, que apresentaram os demais resultados similares ao das abelhas do controle, o desenvolvimento em estufa talvez seja sensível.

Referências Bibliográficas

ALEIXO, K. P. 2009. **Colônias mistas entre *Nannotrigona testaceicornis* e *Scaptotrigona aff. depilis* (Apidae, Meliponini).** Monografia. Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto/SP. 55p.

ALVES, D. A. 2010. **Estratégias reprodutivas em *Melipona*, com ênfase em pequenas populações em *Melipona scutellaris* (Apidae, Meliponini).** Tese de Doutorado. Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. São Paulo - SP. 102p.

BENETOLI, M. W. 2011. **A influência das aminas biogênicas na modulação sensorial em abelhas sem ferrão: o papel da octopamina e dopamina na representação gustativa em *Melipona scutellaris* Latreille 1811 (Hymenoptera, Apidae, Meliponini).** Dissertação de Mestrado. Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto – SP. 115p.

BESHERS S. N. & FEWELL J. H. 2001. **Models of division of labor in social insects.** Annu. Rev. Entomol. **46:** 413-440.

BITTERMAN, M. E.; MENZEL, R.; FIETZ, A. & SCHÄFER, S. 1983. **Classical Conditioning of Proboscis Extension in Honeybees (*Apis mellifera*).** J. Comp. Psychol. **97(2):** 107-119.

COUTO, R. M. & CAMILLO, E. 2007. **Influência da temperatura na mortalidade de imaturos de *Centris (Heterocentris) analis* (Hymenoptera, Apidae, Centridini).** Iheringia, Sér. Zool. Porto Alegre. **97(1):** 51-55.

CRUZ-LANDIM, C. 2004. **Biologia do desenvolvimento em abelhas.** Departamento de Biologia, Instituto de Biociências de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista. **5:** 1-20.

FRANKIE, G. W.; VINSON, S. B.; NEWSTROM, L. & BARTHELL, J. F. 1988. **Nest site habitat preferences of *Centris* bees in the Costa Rican dry forest.** Biotropica. **20 (4):** 301-310.

HEBLING, N.J.; KERR, W.E. & KERR, F.S. 1964. **Divisão de trabalho entre operárias de *Trigona (Scaptotrigona) xanthotricha* Moure.** Papéis Avulsos do Departamento de Zoologia. **16 (15):** 115-127.

JONES, J. C.; HELLIWELL, P.; BEEKMAN, M.; MALESZKA, R. & OLDROYD, B. P. 2005. **The effects of rearing temperature on developmental stability and learning and memory in the honey bee, *Apis mellifera*.** J. Comp. Physiol. A 191: 1121–1129.

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

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

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

MC CABE, S. I.; HARTFELDER, K.; SANTANA, W. C. & FARINA, W. M. 2007. **Odor discrimination in classical conditioning of proboscis extension in two stingless bee species in comparison to Africanized honeybees.** J. Comp. Physiol. A. **193:** 1089-1099.

MENEZES, C. 2010. **A produção de rainhas e a multiplicação de colônias em *Scaptotrigona* aff. *depilis* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini).** Tese de Doutorado. Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto – SP. 97p.

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

PAGE, R. E.; ERBER, J. & FONDRK, M. K. 1998. **The effect of genotype on response thresholds to sucrose and foraging behavior of honey bees (*Apis mellifera* L.).** J Comp Physiol A. **182:** 489-500.

PAGE, R. E. & ERBER, J. 2002. **Levels of behavioral organization and the evolution of division of labor.** Naturwissenschaften. **89:** 91-106.

PANKIW, T. & PAGE, R. E. 2001. **Brood pheromone modulates honeybee (*Apis mellifera* L.) sucrose response thresholds.** Behav Ecol Sociobiol. **49:** 206-213.

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

SIMÕES, D. 1974. **Estudos sobre a regulação social em *Nannotrigona (Scaptotrigona) postica* Latr. com especial referência a aspectos comportamentais (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae).** Dissertação de Mestrado. Faculdade de Medicina. Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto – SP. 91p.

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

UNDURRAGA, J. M. & STEPHEN, W. P. 1980. **Effect of temperature on development and survival in post-diapausing alfafa leafcutting bee prepupae and pupae (*Megachile rotundata* (F)): (Hymenoptera: Megachilidae). I. High temperatures.** Journal of Kansas Entomological Society. **53:** 669-676.

UNDURRAGA, J. M. & STEPHEN, W. P. 1980. **Effect of temperature on development and survival in post-diapausing leafcutting bee pupae (*Megachile rotundata* (F)): II. Low temperature.** Journal of Kansas Entomological Society. **53 (3):** 677-682.

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

Capítulo 4

Considerações Finais

Durante o desenvolvimento deste trabalho verificou-se que os ninhos das abelhas sem ferrão *Melipona scutellaris* apresentam variações de temperatura dentro de seus ninhos de acordo com a variação da temperatura ambiental. No verão, (temperatura ambiental média: 23°C) na periferia dos ninhos foram registradas temperaturas médias de 26,2°C (colônia 1) e 27,4°C (colônia 2) e na área de cria 28,9°C (colônia 1) e 30,7°C (colônia 2), enquanto no inverno (temperatura ambiental média: 17,3°C) foram registradas temperaturas médias de 21,4°C (colônia 1) e 21,9°C (colônia 2) na periferia dos ninhos e 25,2°C (colônia 1) e 26,9°C (colônia 2) na área de cria (veja Figuras 3, 7 e 10; Tabelas 1, 2 e 3). Apesar dessa variação anual na temperatura dentro dos ninhos foi demonstrado que a temperatura dentro da área de cria sempre era elevada em relação à temperatura da periferia (Figura 8, 9, 11 e 12; Tabela 2 e 3). Este fato indica a presença de algum mecanismo de aquecimento ativo realizado pelas abelhas dentro da área de cria. Pelo fato da própria cria auxiliar relativamente pouco neste aquecimento (0,4° a 0,7°; veja Figura 19, 23 e 24). Concluiu-se que as operárias produzem este excesso de calor na área de cria, provavelmente por meio da ativação dos músculos torácicos, fato característico das abelhas melíferas (abelhas do gênero *Apis*) e das mamangavas (abelhas do gênero *Bombus*). Os resultados deste trabalho também demonstram que os favos de cria têm um papel importante na manutenção da temperatura estável ao longo do dia. Aparentemente os favos funcionam como um armazenador de calor, deste modo armazenando a energia térmica em temperaturas acima da média e liberando esta energia em temperaturas abaixo da temperatura média (Figura 17 e 19). Portanto, não é somente o invólucro o responsável pela manutenção da temperatura dentro da área de cria, como descrito por muitos autores, mas também a própria cria.

A temperatura é fator determinante no desenvolvimento e manutenção da colônia, portanto, oscilações dessa temperatura podem causar malefícios. A temperatura durante o desenvolvimento da cria pode afetar a mesma, sendo que posteriormente ela poderá não desempenhar suas funções com eficiência, no comportamento adulto. Além disso, foram utilizadas as medidas do corpo e dos primeiros pares de asas das recém-emergidas (veja Figura 25) como ferramenta para avaliar mudanças nos desenvolvimentos das crias geradas em estufa. Com isso, foi

possível verificar possíveis alterações morfológicas no momento da emergência. Foi observado que todos os indivíduos emergidos dos desenvolvimentos da estufa (28, 30 e 32ºC) apresentaram tamanhos menores com relação aos indivíduos desenvolvidos na colônia (grupo controle), porém os indivíduos do grupo de 30ºC foram os mais próximos do grupo controle. Acredita-se que o desenvolvimento desses indivíduos menores seja conseqüência de uma falha durante os experimentos, prejudicando o tamanho dos mesmos. Este trabalho foi relevante por contribuir com dados sobre o desenvolvimento de abelhas sem ferrão em condições de diferentes temperaturas da colônia, porém serão necessários estudos com mais cautela para que sejam alcançados melhores resultados.

Para analisar o comportamento adulto das abelhas, foram avaliados os limiares comportamentais, no caso o limiar de resposta gustativa (no momento do forrageio), utilizando-se de uma ferramenta conhecida como Reflexo de Extensão da Probóscide. Foi demonstrado que abelhas desenvolvidas em estufas a temperaturas de 30ºC e 28ºC apresentaram um placar gustativo menor (3,3 pontos e 2,8 pontos, respectivamente) do que abelhas desenvolvidas na estufa em 32°C ou abelhas desenvolvidas na colônia (4,9 pontos e 4,6 pontos, respectivamente; veja Figura 30; Tabela 6). Possivelmente houve algum problema durante os experimentos de desenvolvimento na estufa, pois as abelhas desenvolvidas a 30ºC na estufa deveriam mostrar resultados semelhantes às abelhas que foram submetidas às temperaturas de 29-30ºC. Seria, portanto, necessário repetir estes experimentos para identificar com certeza a influência da temperatura no desenvolvimento da cria e no comportamento adulto.