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

**“Influência das precipitações pluviométricas e da atividade
forrageira das abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.) no
comportamento higiênico”**

VANESSA DE ANDRADE BUGALHO

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 - SP

2009

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

**“Influência das precipitações pluviométricas e da atividade
forrageira das abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.) no
comportamento higiênico”**

VANESSA DE ANDRADE BUGALHO

Orientador: Prof.Dr. Lionel Segui Gonçalves

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 - SP

2009

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.

BUGALHO, VANESSA DE ANDRADE

Influência das precipitações pluviométricas e da atividade forrageira das abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.) no comportamento higiênico. Vanessa de Andrade Bugalho; Orientador: Lionel Segui Gonçalves – Ribeirão Preto, 2009.

108p.:36il.

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto/ USP – Departamento de Biologia.

1. *Apis mellifera*. 2. Comportamento Higiênico. 3. Precipitações Pluviométricas. 4. Atividade Forrageira. 5. Abelhas Africanizadas.

Dedico,

Aos meus pais, **João Luiz** e **Luiza Helena** por serem os meus maiores exemplos de força, bondade e amor. Agradeço todos os dias pela existência de vocês. Muito obrigada por todo o amor, dedicação, apoio, conselhos e constante incentivo;

Aos meus irmãos **Flavia** (Dudu), **Natalia** (Tatai) e **João** (Juninho) pelo mais sincero e desinteressado amor. Obrigada por estarem sempre presentes, pela lealdade, confiança e por me proporcionarem os momentos mais inesquecíveis;

Ao meu grande amor **Matheus de Falco de Souza**, por ser essa pessoa linda, sempre disposta a me ajudar, me incentivando e me fortalecendo nos momentos mais difíceis. Obrigada por deixar minha vida mais alegre e colorida, tornando simples ocasiões em momentos tão especiais.

AMO VOCÊS !!!!

Agradeço,

À **Deus** e **Jesus Cristo**, por tudo que me foi concedido: a vida, o amor, saúde, coragem e minha família que tanto amo;

Ao **Prof. Dr. Lionel Segui Gonçalves** pela oportunidade, orientação, confiança, dedicação e acima de tudo pelo grande carinho, amizade e pelo exemplo de vida e de comprometimento. Sempre serei grata!!!

À **Profa. Dra. Zilá L.P. Simões, Prof. Dr. Ademilson E.E. Soares, Prof. Dr. Klaus Hartfelder, Prof. Dr. Carlos Alberto Garófalo e Prof. Dr. Evandro Camillo**, pela agradável convivência e auxílio prestado sempre que necessário;

Ao **Prof. Dr. David De Jong**, pelo apoio, sugestões na realização deste trabalho, sinceridade, amizade e por todas as risadas durante esses anos;

Ao **Prof. Dr. Dalton Amorim**, pelos ensinamentos, por me mostrar o caminho da superação e da importância dos valores humanos na educação;

Ao **Prof. Dr. Cláudio Froelich** pelos valiosos conhecimentos transmitidos dentro e fora da sala de aula, pela dedicação, paciência, simpatia e por despertar em mim e em tantos outros alunos o “Espírito Entomólogo”;

Aos técnicos **João José dos Santos, Jairo de Souza, Luiz Roberto Aguiar, Roberto Mazzuco** e em especial ao **Adelino Penatti**, pelo auxílio prestado em todas as ocasiões, inclusive nas circunstâncias mais adversas e principalmente pela amizade e momentos de descontração durante todos esses anos;

Ao **Dr. Michael Hrcir** pelo valioso auxílio prestado nas análises estatísticas e pela enorme simpatia;

Ao **Dejair Message** por todas as sugestões durante a realização dos experimentos;

À secretária do Programa de pós-graduação em Entomologia, **Renata Andrade Cavallari**, pela paciência em esclarecer minhas dúvidas centenas de vezes sempre de bom humor;

À minha família científica **Camila Maia, Daiana Almeida, Gesline Fernandes de Almeida, Michelle Manfrini Moraes, Rogério Ap. Pereira**, pela cumplicidade, alegria e apoio em todos os momentos e em especial ao **Tiago Maurício Franco** por todos os conselhos e ajuda na coleta de dados nos horários mais estranhos. Muito obrigada meus amigos!!!

À **Marina Lopes Grassi**, por estar sempre ao meu lado (desde o DAERP na escola) dividindo cada momento de alegria, ansiedade e tristeza, sempre me amparando e me fazendo rir muito. Você é uma grande amiga!!!

Aos queridos amigos do **bloco A**: Adriana Mendes, Alexandre Cristiano, Aline Makert, Amanda Freire, Ana Durvalina Bontorim, Ana Maria Bonetti, Ana Paula Farnesi, Ana Rita Baptistela, Anete Lourenço, Carlos Lobo, Érika Tanaka, Fabrício Capelari, Francis de Moraes, Ivan Akatso, Michele Prioli, Moisés Elias, Mônica Florecki, Omar Martinez, Paulo Emílio Alvarenga, Pedro Roberto Prado, Rodrigo Dallacqua, Sérgio Azevedo, Umberto Moreno, Vera Lúcia Figueiredo e Weyder Cristiano por estarem presentes durante esta trajetória, tornando-a mais fácil e divertida. Obrigada a cada um de vocês!!!

À **Marcela B. Laure** pelo carinho, alegria, amizade, risadas e conversas. Você é uma pessoa muito especial;

Às minhas queridas amigas da faculdade **Roberta Vecchi O. Mazzucato** e **Sandra Maria Navarro**, pela mais sincera amizade e companheirismo, estando presente em TODOS os momentos mesmo. Vocês são amigas maravilhosas!!

Às amigas **Chimene Assis Dutra, Luciane Silva** e **Paula Ap. Lima** pela mais longa e verdadeira amizade. Obrigada por continuarem fazendo parte da minha vida!!

Aos meus amigos **Mayara Bittar** e **Gustavo Adolpho** por sempre me socorrerem nos momentos de crise de riso. Muito obrigada pela amizade;

Aos meus primos **Fabírcia Ferreira de Andrade, Gianni Biffon de Andrade, Juliano Ferreira de Andrade, Leandro de Andrade Kroll** e **Rodrigo de Andrade Kroll** pela maravilhosa convivência. Vocês são como irmãos para mim!!

À minha madrinha **Cleuza Bugalho Catroqui** e ao meu padrinho **Nelson Catroqui** pelo carinho e dedicação a mim dispensados;

Aos funcionários da **Insight Equipamentos** pela assistência e agilidade na solução de problemas;

À **Karin Gonçalves Rossi** e **6 P Marketing e propaganda Ltda** pelo fornecimento dos números plastificados utilizados na marcação individual das abelhas, o que possibilitou a realização de parte dos experimentos;

Ao **CNPq** e **FAPESP**, pelo suporte financeiro;

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

Ao **Departamento de Genética** da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.

Franguinho na Panela

Composição: Moacyr Dos Santos e Paraíso

No recanto onde moro é uma linda passarela
O carijó canta cedo, bem pertinho da janela
Eu levanto quando bate o sininho da capela
E lá vou eu pro roçado, tenho Deus de sentinela
Têm dia que meu almoço, é um pão com mortadela
Mais lá no meu ranchinho a mulher e os filhinhos
Tem franguinho na panela

Eu tenho um burrinho preto bom de arado e bom de sela
Pro leitinho das crianças, a vaquinha Cinderela
Galinha da no terreiro papagaio tagarela
Eu ando de qualquer jeito, de botina ou de chinela
Se na roça a fome aperta, vou apertando a fivela
Mais lá no meu ranchinho a mulher e os filhinhos
Tem franguinho na panela

Quando eu fico sem serviço a tristeza me atropela
Eu pego um bico pra fora, deixo cedo a corruptela
Eu levo meu viradinho é um fundinho de tigela
É só farinha com ovo, da gema bem amarela
É esse o meu almoço, que desce seco na goela
Mais lá no meu ranchinho a mulher e os filhinhos
Tem franguinho na panela

Minha mulher é um doce diz que sou o doce dela
Ela faz tudo pra mim, e tudo que eu faço é pra ela
Não vestimos lã nem linho é no algodão e na flanela
É assim a nossa vida, que levamos na cautela
Se eu morrer Deus dá um jeito, mais a vida é muito bela
Não vai faltar no ranchinho pra mulher e os filhinhos
O franguinho na panela.

Índice

Resumo.....	i
Abstract.....	iii
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Aspectos gerais de abelhas <i>Apis mellifera</i>	2
1.2 Divisão de trabalho em <i>Apis mellifera</i>	4
1.3 Comportamento higiênico.....	10
1.3.1 Influências genéticas e ambientais no comportamento higiênico.....	15
2. OBJETIVOS.....	19
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	22
3.1 Local de estudo.....	23
3.2 Espécie utilizada e condições das colônias.....	23
3.3 Detectores de atividade (Apidômetros).....	24
3.4 Técnica utilizada para avaliação do comportamento higiênico.....	28
3.5 Avaliação da constituição etária da colônia no comportamento higiênico.....	30
3.5.1 Avaliação da participação das abelhas forrageiras no comportamento higiênico.....	32
3.5.2 Colméia de observação.....	33
3.5.2.1 Marcação das abelhas e equipamentos utilizados.....	34
3.6 Avaliação do comportamento higiênico em abelhas africanizadas antes, durante e depois de precipitações pluviométricas.....	38
3.7 Análise estatística.....	39

4. RESULTADOS.....	40
4.1 Avaliação do comportamento higiênico das abelhas africanizadas relacionado às atividades forrageiras.....	41
4.1.1 Influência da constituição etária da colônia no comportamento higiênico.....	41
4.1.2 Efeito da presença das abelhas forrageiras na colméia durante a realização do comportamento higiênico.....	43
4.1.2.1 Avaliação da participação de abelhas forrageiras no comportamento higiênico com o auxílio de colméias de observação.....	54
4.2 Comportamento higiênico em função das precipitações pluviométricas, temperatura e umidade relativa.....	56
5. DISCUSSÃO.....	72
5.1 Influência das abelhas forrageiras e do período do dia no comportamento higiênico.....	73
5.2 Influência das precipitações pluviométricas, da temperatura e umidade relativa no comportamento higiênico.....	80
6. CONCLUSÕES.....	89
7. BIBLIOGRAFIA.....	93

Introdução

1. INTRODUÇÃO

1.1 Aspectos gerais de abelhas *Apis mellifera*

As abelhas *Apis mellifera* são insetos eussociais altamente especializados. Em uma colônia podemos encontrar três tipos de membros: rainha, operárias e zangões onde cada um apresenta suas especializações na sociedade (Palácio *et al.*, 2000). Existem diferenças quanto à anatomia, fisiologia e comportamento entre rainha, operárias e zangões. Enquanto as rainhas detêm o papel reprodutivo da colônia, sendo responsáveis pela manutenção da descendência, as operárias são funcionalmente estéreis na presença da rainha, e desempenham funções de acordo com um processo conhecido como polietismo etário. Tais operárias executam praticamente todas as tarefas intranidais como limpar os alvéolos, cuidar da cria e construir os favos, bem como as atividades externas de guarda e forrageamento. Aos zangões cabe apenas a função de acasalamento (Winston, 2003).

O desenvolvimento dos três tipos de membros envolve uma transição por quatro fases principais: ovo, larva, pupa e adulto, portanto são insetos holometábolos. A rainha coloca ovos em células de dois tamanhos: uma menor, mais freqüente na colônia, chamadas de células de operárias (de onde emergirão operárias), e uma maior encontrada em menor quantidade, chamadas de células de zangões, onde esses machos se desenvolvem. As células de cria podem ser modificadas em realeiras, quando a larva fêmea no interior da célula receber uma alimentação diferencial (geléia real) durante todo o estágio de desenvolvimento e assim tornar-se-á uma rainha (Seeley, 2006). Os ovos que forem fertilizados darão origem a operárias ou, se necessário, a rainhas virgens (organismos diplóides), enquanto ovos não fertilizados originarão zangões (organismos haplóides). No caso específico das abelhas africanizadas, material biológico utilizado no presente trabalho, o período de desenvolvimento ontogenético varia entre os membros, podendo

ser de 15 a 16 dias para as rainhas, 19 a 20 dias para as operárias e 24 dias para os zangões (Nunes-Silva *et al.*, 2006). O alimento (néctar e pólen) também é armazenado nas células, que formam os favos, os quais são construídos verticalmente (Seeley, 2006).

A principal diferença morfológica interna entre rainhas e operárias está relacionada ao sistema reprodutor, onde as rainhas apresentam ovários com cerca de 150- 180 ovariolos e as operárias possuem apenas 4-7 ovariolos em cada um de seus ovários e uma espermateca rudimentar. Com relação ao sistema endócrino, existem diferenças entre as castas, onde algumas glândulas são específicas de rainhas e outras de operárias, como por exemplo, a glândula hipofaringeana, secretora de geléia real presente somente em operárias (Winston, 2003).

As abelhas *Apis mellifera* estão disseminadas por todo o mundo; em regiões de clima temperado elas despendem a maior parte do tempo com estocagem de alimento e cuidados com a temperatura do ninho para suportar o inverno rigoroso, já abelhas de clima tropical, como por exemplo, as abelhas africanizadas *Apis mellifera* L., são mais ativas comparadas às de clima temperado, pois podem acompanhar floradas ou abandonar o local de nidificação para evitar predadores e condições adversas, tratando-se de uma das maiores estratégias de sobrevivência em clima tropical (Nunes-Silva *et al.*, 2006, Francoy, 2007).

No Brasil, as *Apis mellifera* foram introduzidas em 1839, quando o Reverendo Antônio Carneiro importou da Europa colméias de *Apis mellifera mellifera* (abelha preta ou alemã) com o intuito de produzir mel e utilizar a cera produzida por elas para a fabricação de velas (Nogueira-Neto, 1972). Nos anos seguintes também foram introduzidas as subespécies *A.m. ligustica*, *A.m. carnica* e *A.m. caucasiana* entre outras (Gonçalves, 1994). Assim, até 1956, somente subespécies européias haviam sido introduzidas no Brasil. No entanto, neste ano, o geneticista Prof. Dr. Warwick Estevan Kerr viajou ao continente africano, a pedido do governo brasileiro, com o objetivo de trazer abelhas com

maior produtividade do que a apresentada pelas abelhas européias (Kerr, 1957). Assim, Dr. Kerr introduziu no Horto de Camacua, no município de Rio Claro-SP, as abelhas africanas *Apis mellifera scutellata*. Estas abelhas tiveram a entrada de suas colméias protegidas por uma tela excludora de rainhas, no entanto, um apicultor visitante removeu estas telas e quando os pesquisadores tomaram conhecimento do fato, vários enxames já haviam abandonado o local (Kerr, 1967). A partir disto, iniciou-se uma rápida expansão das abelhas pelo Brasil, as abelhas africanas realizaram diversos cruzamentos com as subespécies européias já existentes no país, resultando em um poli-híbrido, que posteriormente foi chamado de abelha africanizada (Gonçalves, 1974). Nestes híbridos predominaram as características da subespécie africana *Apis mellifera scutellata*, tais como: alta capacidade enxameatória, alta produtividade, forte comportamento defensivo e alta adaptabilidade. A união destas características ajudou as abelhas africanizadas a se estabelecer rapidamente como populações silvestres nas regiões Neotropicais (Stort, 1979; Lobo & Krieger, 1992).

1.2 Divisão de trabalho em *Apis mellifera*

O que separa os insetos sociais, como as abelhas do gênero *Apis*, dos solitários, são as interações que ocorrem entre as crias e os adultos, e são estas relações que expressam muitos dos aspectos únicos da sociedade das abelhas. (Winston, 2003). Algumas das características dos insetos sociais que fascinam os pesquisadores são: o altruísmo expresso por membros da colônia, a complexa divisão de trabalho e a plasticidade demonstrada em função das alterações do meio (Page & Erber, 2002).

A divisão de trabalho é um aspecto estrutural de polimorfismo social nos insetos (Michener, 1961). Praticamente toda a evolução da vida social dos insetos é baseada na aquisição de polimorfismo social, sendo esta, uma das

características mais importantes para seu sucesso ecológico (Wilson, 1971; Robinson, 1992). Na divisão de trabalho das abelhas eussociais em geral, operárias jovens são responsáveis por tarefas, como cuidado com as crias e construção de células. A limpeza e a guarda da colônia ficam a cargo de indivíduos ligeiramente mais velhos e o forrageamento é tarefa das operárias mais velhas da colônia, cuja pigmentação e esclerotização da cutícula está completa e estão, portanto, aptas a voar para o campo, coletar e transportar alimento para a colônia toda (Nowogrodzki, 1984). No entanto, esta distribuição de atividades entre as operárias é mais complexa, estando organizada em dois grandes processos, a divisão de trabalho e a divisão de tarefas. A divisão de trabalho consiste na divisão dos diferentes trabalhos existentes em uma colônia, como construção de células, alimentação da cria e forrageamento, entre as operárias da colônia. Já a divisão de tarefas é a divisão de uma determinada tarefa (unidade discreta de trabalho que deve ser completada) entre diferentes operárias, como por exemplo, a coleta de néctar em *Apis mellifera*, processo no qual, as forrageiras transferem o néctar para operárias que trabalham no ninho (receptoras ou armazenadoras), as quais depositam o néctar nas células. Existem vários exemplos de divisão de tarefas relacionados à coleta de alimento e de outros recursos, envolvendo tipicamente forrageiras e armazenadoras ou transportadoras. Durante o forrageamento, excetuando-se o pólen, todos os outros recursos (néctar, resina e água) são coletados pelas forrageiras e transferidos para outras operárias no ninho. No entanto, a existência de forrageamento sem partição de tarefas é extremamente comum e há casos em que pode ou não haver partição, dependendo do tamanho da colônia (Ratnieks & Anderson, 1999). Outro exemplo desta partição de tarefas é o comportamento higiênico realizado pelas abelhas melíferas, pois neste processo muitas operárias estão envolvidas em tarefas específicas como inspeção das células, pontuação dos opérculos, desoperculação das células e remoção das crias mortas, ou seja, diversas

operárias executam tarefas distintas para a concretização de uma única atividade, o comportamento higiênico (Pereira, 2008).

Nas colônias de insetos sociais, há ainda dois níveis de organização interdependentes, o nível individual e o colonial. O comportamento individual é regulado pelas necessidades da colônia, no entanto, este comportamento individual também pode influenciar o estado colonial (Fewell & Winston, 1992). Um aspecto que envolve tanto o comportamento individual quanto colonial é a ritmicidade. As abelhas melíferas foram um dos primeiros organismos, no qual o ritmo circadiano foi descrito (Forel, 1910 *in* Frisch & Koeniger, 1994). Enquanto as abelhas jovens de *Apis mellifera* cuidam das crias e trabalham dentro do ninho o tempo todo sem apresentar ritmo circadiano, sendo, portanto, arrítmicas, as abelhas mais velhas que forrageiam por néctar e pólen no ambiente externo possuem ritmo circadiano (Moore, 2001). No interior do ninho, a ausência de ritmo colonial é derivada da arritmicidade das operárias individuais, que trabalham em tempos aleatórios (Moore *et al.*, 1998) e os períodos comuns de atividade e descanso do conjunto de abelhas na colônia resultam da sincronização social dos ritmos das abelhas individuais. Essa sincronização social também é importante para a organização da colônia. Cada indivíduo pode realizar o repertório completo de tarefas existentes em uma colônia, entretanto, cada abelha não executa sempre todos os trabalhos, mas somente os requeridos em um determinado momento (Frisch & Koeniger, 1994).

Ciclos são evidentes nos diversos ambientes da Terra e podemos identificá-los tanto no meio biótico, quanto no abiótico. Dessa forma, se o ambiente sofre oscilações, uma determinada espécie para se adaptar a ele também precisa oscilar e esta adaptação temporal consiste na harmonização entre a ritmicidade biológica e os ciclos ambientais (Marques *et al.*, 1997). Os ritmos circadianos em *Apis* são um importante componente do processo de desenvolvimento do comportamento social que sustenta a divisão de trabalho das colônias (Bloch & Robinson, 2001). O ritmo circadiano é regulado pelos

ciclos de luz e temperatura e atuam para coordenar o comportamento de forrageamento com temperatura de vôo, navegação orientada pelo Sol e escolhas de visitas para fontes florais específicas. No entanto, de acordo com Moore (2001) estamos apenas começando a entender como os ritmos comportamentais das operárias individuais estão integrados na divisão de trabalho da colônia. Dentro deste contexto, o forrageamento é o comportamento mais estudado, sendo considerado uma das características mais notáveis dos insetos sociais por tratar-se do resultado do esforço coletivo de inúmeros indivíduos. O enorme sucesso desses insetos geralmente é atribuído à divisão de trabalho, visto que a divisão de trabalho entre as operárias é fundamental para a manutenção e o desenvolvimento da colônia (Robinson & Page, 1989).

Essa divisão de trabalho entre as operárias é temporal e dinâmica e varia com a idade, necessidades da colônia e condições ambientais; envolve não apenas o comportamento, mas também a fisiologia dos indivíduos (Michener, 1974; Calderone, 1998). Além disso, muita da variabilidade observada no comportamento das operárias é consequência da variabilidade genética (Robinson & Page, 1989). O forrageamento é uma tarefa que envolve diversas atividades, tais como: a desidratação do néctar, o recebimento desse recurso das forrageiras via trofaláxis e o forrageamento, propriamente dito. O forrageamento é o estágio final da vida de uma operária. Em *Apis mellifera*, a quantidade de cria e de pólen estocado pelas abelhas é um dos estímulos que afetam o forrageamento de pólen (Calderone & Johnson, 2002).

As colônias de *Apis* também apresentam ritmos nas atividades de vôo e de forrageamento. Existem diferentes grupos de forrageiras, em relação ao horário de forrageamento dentro da colônia, e estes grupos se comportam de maneira independente (Moore *et al.*, 1989). A partição de tarefas no forrageamento tem benefícios e custos. Um dos custos é o tempo gasto para a passagem do material entre os indivíduos direta ou indiretamente. Além disso, quando há transferência direta do material entre os indivíduos, atrasos podem

ocorrer quando as forrageiras esperam receptoras para a passagem do material ou quando as receptoras esperam pelas forrageiras, dependendo do grupo que está em excesso e isso talvez seja uma importante informação para as operárias sobre a necessidade de um determinado recurso pela colônia (Anderson & Ratnieks, 1999)

Com o aumento da idade das operárias, há uma transição relativamente constante de tarefas realizadas dentro do ninho para tarefas executadas fora do ninho, entretanto, não necessariamente as abelhas seguem esse padrão de atividade, podendo assumir uma extraordinária plasticidade em seu repertório comportamental, ou seja, as operárias podem acelerar, retardar ou até mesmo reverter suas atividades em resposta às mudanças nas condições da colônia. Esta plasticidade nas atividades é uma característica importante de adaptação das colônias de *Apis* ao ambiente (Brillet *et al*, 2002).

A plasticidade é considerada um fator chave para a divisão de trabalho nas sociedades de insetos, visto que permite que as colônias respondam às mudanças nas condições internas e externas através do ajuste do número de operárias individuais engajadas nas diferentes tarefas. Isso é alcançado, em grande parte, devido à flexibilidade comportamental das próprias operárias, e contribui para o sucesso reprodutivo da colônia (Robinson, 1992). Em colméia *single-cohort* constituída inteiramente por abelhas de mesma idade foi observado que, devido à falta de operárias mais velhas, as abelhas mesmo jovens (três dias) iniciam o comportamento de forrageamento (Moraes-Vátimo, 2008). A ausência de abelhas forrageiras (idades mais avançadas) estimula o início do forrageamento de aproximadamente 10% das operárias da colméia (Elekovich & Robinson, 2005). As abelhas melíferas também são capazes de ajustar o esforço de forrageamento através da mudança do número de forrageiras de néctar. Isto deve permitir que as colônias explorem fontes efêmeras de néctar rapidamente, visto que um maior número de forrageiras irá coletar esse recurso simultaneamente, tornando a tarefa mais eficiente do que se fosse realizada através de um aumento no número de vôos individuais (Thom

et al., 2000). A atividade forrageira tem uma forte variação no verão, em termos de intensidade forrageira e otimização de coleta, sendo que, quando há pouca fonte de alimento, as abelhas permanecem no interior da colméia economizando energia (Visscher & Seeley, 1982). Além disso, quando necessário, essas abelhas podem retornar a executar certos comportamentos arrítmicos, por exemplo, as forrageiras podem voltar à fase de nutrízes, período no qual, são arrítmicas, evidenciando a plasticidade da ritmicidade (Bloch & Robinson, 2001). Entretanto, essas alterações comportamentais não são simples, pois estão acompanhadas por mudanças fisiológicas (Beshers *et al.*, 2001), e essas mudanças incluem ativação e regressão na atividade de glândulas exócrinas (Seeley, 1982). Outro fator que também é capaz de regular a atividade forrageira é a quantidade de larvas jovens na colméia (Al-Tikrity *et al.*, 1972; Eckert *et al.*, 1994; Dreller & Tarpy, 2000). Quando larvas jovens são adicionadas ou removidas das colônias, o número de forrageiras para pólen aumenta ou diminui, respectivamente. Assim, quando há uma grande quantidade de larvas jovens dentro da colônia, há também mais forrageiras de pólen, pois essas larvas produzem e liberam um feromônio que estimula o aumento de operárias forrageiras (Pankiw *et al.*, 1998). Estes pesquisadores notaram que as operárias que iniciaram o forrageamento em resposta aos extratos de hexane borrifados nas crias foram abelhas que não haviam sido observadas realizando tal comportamento anteriormente.

1.3 Comportamento Higiênico

Dentre os vários comportamentos expressos pelas abelhas *Apis mellifera*, o comportamento higiênico, caracterizado pela identificação e remoção de crias mortas, doentes, danificadas ou parasitadas do interior da colméia (Gramacho, 1995, 1999; Spivak & Reuter, 2001), tornou-se objeto de estudo de muitos pesquisadores. Um dos primeiros a descrevê-lo foi Park na década de 30

durante a realização de experimentos relacionados a mecanismos de resistência à Cria Pútrida Americana (AFB – American Foulbrood), doença causada pela bactéria *Paenibacillus larvae* (Park, 1936, 1937 e Park *et al.*, 1937 *in* Rothenbuhler, 1964). Com base nestes estudos atribuiu-se a resistência apresentada por colônias acometidas pela bactéria *Paenibacillus larvae* a fatores comportamentais e a própria resistência fisiológica das larvas. Woodrow & States (1943) *in* Rothenbuhler (1964) também verificaram esta resistência a doenças, porém atribuíram-na basicamente ao fator comportamental após constatarem a habilidade das abelhas operárias em descobrir e remover as crias atacadas pelo *P. larvae* antes que o patógeno alcance o estágio infeccioso, e assim, evitando a transmissão da doença para as crias sadias. Portanto, este comportamento passou a ser visto como uma das melhores alternativas no controle desta e de outras doenças de cria. As abelhas do gênero *Apis* são susceptíveis a doenças, podendo ser atacadas tanto nas fases de cria como na fase adulta (Gramacho e Gonçalves, 2002). As principais doenças e pragas apícolas são: a Cria Pútrida Americana, causada pelo *Paenibacillus larvae* (Rothenbuhler, 1964 a,b; Fries & Raina, 2003), a Cria Pútrida Européia, causada pelo *Melissococcus pluton*, a Cria Ensacada, causada por um vírus, a Cria Giz, causada pelo fungo *Ascosphaera apis* (Gilliam *et al.*, 1983; Stort & Gonçalves, 1994); Nosemose, causada pelo protozoário *Nosema apis* e mais recentemente por *Nosema ceranae* (Gonçalves, 2007) e a Varroatose causada pelo ácaro *Varroa destructor* (Morse & Gonçalves, 1979; De Jong & Gonçalves, 1981; Peng *et al.*, 1987; Moretto, 1993; Gramacho, 1995; Spivak, 1996 e Gonçalves, 2007). Portanto, o comportamento higiênico é de extrema importância para a manutenção da dinâmica populacional da abelha melífera, dificultando ou até mesmo impedindo o desenvolvimento de doenças, pois segundo Gonçalves (1994) a resistência a doenças em abelhas é uma característica que está diretamente relacionada com o comportamento de limpeza da colônia ou comportamento higiênico uma vez que, quanto menos foco de infecção existir na colônia mais sadias estarão as abelhas.

Entretanto, com o advento das drogas a base de sulfa e antibióticos, e a utilização destes medicamentos pelos apicultores como alternativa no combate as doenças nos anos 40, as pesquisas nessa área ficaram estagnadas até a década de 60, quando Rothenbuhler retomou os estudos de comportamento higiênico como mecanismo de resistência a AFB (Spivak & Gillian, 1993). Sendo assim, a partir de diversos cruzamentos, as primeiras linhagens de abelhas resistentes a doenças foram desenvolvidas por Rothenbuhler & Thompson (1956). Duas linhagens foram desenvolvidas, sendo uma resistente a AFB e denominada linhagem "Brown", e a outra susceptível a AFB nomeada linhagem "Van Scoy". Após a obtenção destas duas linhagens de abelhas, Rothenbuhler (1964 a) observou uma diferença no comportamento de linhagens endogâmicas. As linhagens resistentes a esta doença removiam crias mortas, enquanto as linhagens susceptíveis a doença não removiam as crias mortas das células. Após análise da geração F_1 , proveniente do cruzamento entre as linhagens "Brown" e "Van Scoy" e da resposta de retrocruzamentos de zangões filhos da rainha F_1 com rainhas "Brown", Rothenbulher (1964 b) demonstrou que a base deste comportamento é genética, sendo controlado por dois pares de genes recessivos (u =uncapping e r =removal), os quais em homozigose (uu/rr) permitem que as abelhas sejam classificadas como higiênicas. Portanto, segundo o autor, o comportamento higiênico seria de fato um importante mecanismo de resistência natural das abelhas contra as doenças. Dentro de uma colméia podem existir, portanto nove genótipos diferentes, dependendo dos acasalamentos feitos pela rainha. O trabalho de Rothenbuhler (1964 a,b) sobre o comportamento higiênico em abelhas tornou-se um marco, sendo posteriormente bastante divulgado em trabalhos de genética (Gramacho, 1995).

Moritz reanализou o modelo de dois loci descrito por Rothenbuhler e em 1988 propôs um modelo de 3 pares de genes, sendo um para a desoperculação e dois para a remoção, sugerindo que o comportamento higiênico poderia, na verdade, ser o resultado de um mecanismo genético

mais complexo do que a simples segregação mendeliana, havendo portanto, interações gênicas envolvendo casos de epistasia e herança quantitativa, freqüentes na determinação da maioria dos comportamentos. Haveria então um par de genes responsável pela desoperculação e dois pares responsáveis pela remoção das crias. Logo, as abelhas higiênicas teriam o genótipo uu, r_1r_1, r_2r_2 , com 3 pares de genes em homozigose, onde as homozigotas em 2 loci r_1 e r_2 removeriam totalmente as crias e as homozigotas em um só locus r_1 ou r_2 , removeriam parcialmente as crias mortas. No entanto, a hipótese elaborada por Moritz não foi comprovada experimentalmente (Gramacho e Gonçalves, 1998, 2000, 2002; Arathi *et al.*, 2000; Invernizzi, 2001).

Kefuss *et al.* (1996) acreditam que o comportamento higiênico seja determinado por 20 a 30 genes e consideram que este ainda não está esclarecido completamente, necessitando assim de mais investigações.

Jones & Rothenbuhler (1964), Momot & Rothenbuhler (1971) e Message (1979) consideram que, além da desoperculação e remoção, existe ainda outro passo nas observações do comportamento higiênico, que consiste na pontuação ou produção de um orifício no opérculo, etapa antecedente a desoperculação. Dessa maneira, baseado em observações experimentais detalhadas da remoção de crias infestadas com ácaros pelas abelhas carnicas (*Apis mellifera carnica*) higiênicas, Gramacho (1999) enfatizou que a primeira etapa no processo higiênico é a pontuação do opérculo de cera da célula que contém a cria infestada. Assim, com base em seus resultados experimentais, ela também propôs um modelo baseado em três pares de genes recessivos: dois que controlariam a pontuação e o comportamento de desoperculação ($u_1/u_1, u_2/u_2$) e um que controlaria a remoção (r/r). Dessa forma, a abelha higiênica seria representada pelo genótipo $u_1/u_1, u_2/u_2, r/r$.

Lapidge *et al.* (2002) verificaram através de técnicas moleculares que a base do comportamento higiênico é ainda mais complexa. Segundo os autores, possivelmente muitos genes contribuam para a expressão deste comportamento, uma vez que, durante os cruzamentos foram detectados até

sete loci quantitativos associados ao comportamento higiênico, cada um controlando apenas 9-15% da variância fenotípica deste caráter.

Recentemente, Pereira (2008) realizou experimentos, nos quais, foi possível observar que o comportamento higiênico apresenta além das etapas já conhecidas de pontuação, desoperculação e remoção da cria, outros três estágios: inspeção pré desoperculação na célula de cria, introdução das antenas nos orifícios do opérculo e inspeção da cria em estágio de remoção. Embora Pereira não tenha proposto nenhum modelo genético na determinação deste comportamento, fez importantes descobertas ao averiguar a existência de operárias especializadas em desempenhar tarefas específicas durante as etapas do comportamento higiênico, ou seja, algumas operárias realizam apenas uma das etapas descritas anteriormente, enquanto outras operárias realizam duas ou mais tarefas diferentes relacionadas ao comportamento higiênico.

Segundo Gramacho & Gonçalves (2000) as colônias que apresentam 80% ou mais de remoção de crias são consideradas higiênicas para programas de melhoramento genético, enquanto colônias que apresentam uma taxa de remoção de crias igual ou inferior a 20% são consideradas não higiênicas. Considera-se uma colônia de abelhas como uma superfamília formada por subfamílias, que seriam os descendentes de cada zangão que fecunda a rainha (Guzmán-Novoa *et al.*, 1994). Dessa maneira, uma colônia será mais higiênica quanto maior for o número de abelhas portadoras dos genes desoperculadores e removedores em homozigose. Assim, quanto maior for a resposta quanto à remoção, maior será a eficiência das abelhas em um programa de seleção. Portanto, a classificação de colônia higiênica ou não higiênica é relativa, pois uma colônia com 50 % de remoção, por exemplo, não deixa de ser higiênica, porém, pode ser classificada como não higiênica conforme a rigidez no critério de classificação.

No entanto, apesar da indiscutível importância dos trabalhos de Rothenbuhler e de seus seguidores, ainda há muito a ser estudado sobre os

mecanismos que fazem com que as abelhas identifiquem ou reconheçam as crias mortas ou doentes no interior das células, bem como aquelas infestadas com o ácaro *Varroa destructor*.

Atualmente, devido aos problemas causados por doenças das abelhas, muitos apicultores, técnicos e pesquisadores têm se interessado em selecionar colméias mais higiênicas em seus apiários, tendo em vista a progressiva resistência dos patógenos perante os antibióticos ministrados. Portanto, como as abelhas higiênicas são capazes de detectar crias afetadas durante a primeira hora depois de mortas (Palácio *et al.*, 2005), o comportamento higiênico das abelhas melíferas passou a ser considerado uma das melhores alternativas no controle de doenças sem que seja necessária a utilização de tratamentos químicos.

1.3.1 Influências genéticas e ambientais no comportamento higiênico

O comportamento das abelhas pode ser considerado como o produto de uma interação entre fatores genéticos e ambientais, sendo que o controle dele é dificilmente obtido sem que se conheçam os mecanismos genéticos que o determinam e quais fatores ambientais influem no referido comportamento (Gonçalves, 1994).

Momot & Rothenbuhler (1971) examinaram a interação da idade e do genótipo de abelhas higiênicas. Para este experimento foram utilizadas quatro colônias, duas delas foram compostas por abelhas adultas resistentes a doenças (linhagem Brown) e crias prestes a emergir susceptíveis a doenças (linhagem Van Scoy); as outras duas colônias eram compostas por abelhas adultas pertencentes a linhagem Van Scoy e as crias à linhagem Brown. Assim, durante o experimento ocorreu alteração na composição etária e genotípica das colônias, pois com o passar dos dias, as colônias formadas por abelhas Brown foram substituídas por abelhas Van Scoy, sendo que o contrário ocorreu

nas outras duas colônias. Portanto, a medida que as abelhas eram substituídas por abelhas de outro genótipo ocorriam alterações no comportamento higiênico das colônias, sendo este mais eficiente quando a maior parcela de abelhas jovens da colônia ou toda a colônia pertencia à linhagem Brown.

Arathi & Spivak (2001) também testaram o efeito da composição genotípica da colônia na expressão do comportamento higiênico. Para tal, estes autores utilizaram quatro colônias, cada uma composta por 0%, 25%, 50% ou 100% de operárias higiênicas, sendo que os resultados encontrados por estes autores evidenciam que a eficiência do comportamento higiênico depende da proporção de abelhas higiênicas que constituem a colônia, uma vez que, a colônia formada por 100% de abelhas higiênicas foi mais eficiente na realização deste comportamento em relação às outras colônias. Observaram também que as colônias com 50% e 100% de abelhas higiênicas apresentaram partição de tarefas específicas que envolvem este comportamento, ou seja, algumas abelhas realizaram a desoperculação das células com maior frequência do que a remoção das crias mortas das células e vice-versa.

Comparadas a outros polinizadores, as abelhas pertencem ao grupo que mais possui variações em suas atividades em função dos fatores ambientais, (Boyle-Makowski, 1987). Warnke (1976) ao estudar o efeito de campos elétricos no comportamento das abelhas alega que os padrões comportamentais das abelhas, embora sejam determinados geneticamente, são influenciados por estímulos externos, como intensidade luminosa, temperatura, umidade, ventos, sinais químicos, vibrações, fumaça, descargas elétricas, chuvas, etc., os quais são detectados por redes nervosas e órgãos sensoriais que se conectam com o cérebro e que estão distribuídos pelo corpo das abelhas, principalmente nas antenas (sensilas olfativas), pernas (pêlos) e olhos (omatídeos), determinando as mais complexas reações comportamentais.

Spivak & Gilliam (1993) supõem que a expressão do comportamento higiênico seja facultativa, embora ele seja determinado geneticamente. A

expressão ou não do comportamento seria dependente de condições da colônia, do favo, do alimento, entre outros.

Trump, Thompson & Rothenbuhler (1967) também chamaram a atenção para fatores ambientais que, ao lado de fatores genéticos, devem ter um papel importante nas diferenças do comportamento higiênico das abelhas.

Os resultados obtidos nos experimentos de Goode *et al* (2006) apontam a existência de múltiplos fatores envolvidos na expressão do comportamento higiênico, incluindo genético, neural, social e ambiental. Gramacho *et al*. (1999) encontraram um acréscimo significativo no comportamento higiênico acarretado pelo extravasamento do fluido corporal da pupa no interior das células e concluíram tratar-se de um importante estímulo para a realização deste comportamento.

Momot & Rothenbuhler (1971), em estudos sobre a influência do fluxo de néctar, puderam observar que, na presença deste, houve um aumento na eficiência do comportamento higiênico. De acordo com Message & Gonçalves (1984) o fluxo de néctar deve estar relacionado com a obtenção de espaço no favo para o depósito deste recurso pelas operárias. Com a presença de néctar há um aumento de postura de ovos pela rainha e, conseqüente, aumento na eficácia do comportamento higiênico. Message (1979) trabalhando com o efeito das condições ambientais em regiões distintas (Ribeirão Preto-SP e Viçosa-MG) observou que as mudanças de algumas variáveis climáticas como a temperatura e a umidade relativa do ar, afetavam a eficiência do comportamento higiênico das colméias. Essas variações comportamentais foram atribuídas a algum fator ambiental, o qual seria provavelmente climático, visto que uma mesma colônia foi testada em diferentes locais, correspondendo, portanto, ao mesmo genótipo testado em ambientes diferentes. Neste mesmo trabalho o autor comparou o comportamento higiênico durante o dia e a noite e pôde verificar que as operárias apresentam a mesma eficiência neste comportamento em ambos os períodos, porém houve uma leve tendência deste comportamento ser mais

eficiente em período diurno, talvez devido à necessidade de se obter células vazias e limpas para que sejam depositados mel e pólen, ou ainda para a oviposição da rainha.

Pereira (2008) realizou testes de comportamento higiênico em colméias de observação e os avaliou quanto sua eficiência em período noturno e diurno em favos novos e velhos, tendo constatado que em favos novos o comportamento higiênico é mais eficaz, ou seja, as crias mortas são removidas com maior agilidade. Quanto ao período (diurno ou noturno) de realização do teste não foi encontrada diferença estatisticamente significativa, no entanto, diferente ao encontrado por Message (1979), Pereira observou certa tendência desse comportamento ser mais eficiente no período noturno. Message & Gonçalves (1979) pesquisando o comportamento higiênico puderam observar que este é altamente influenciado por fatores ambientais, pois, quando os testes eram realizados em épocas diferentes e, portanto, sob condições ambientais diferentes, uma mesma colônia apresentava variações na sua capacidade de limpeza. Segundo Message & Gonçalves (1976), ao analisarem seus resultados preliminares observaram uma tendência em haver maior eficácia no comportamento higiênico em períodos chuvosos do que em períodos secos. Message & Gonçalves (1984), supõem a possível existência de uma temperatura ótima para o comportamento higiênico, provavelmente entre 18°C a 25,4°C, sendo esta variável diretamente relacionada à umidade relativa do ar.

Modesto-Zampieron (1991) e Silva (1994) encontraram maior quantidade de crias removidas totalmente em períodos chuvosos. Estes autores sugeriram que, provavelmente, isso poderia ser atribuído ao fato das abelhas em épocas chuvosas, passarem maior período do tempo dentro da colméia, o que lhes possibilitaria um maior empenho nas tarefas realizadas no interior das colméias. No entanto, Souza (1993) ao analisar a atividade de vôo das abelhas através de registrador automático (apidômetro dotado de fotocélulas) observou que

as chuvas têm pouca ou nenhuma influência nas atividades internas das operárias no interior das colméias, apenas impedindo a saída das abelhas. Gramacho (1995) obteve resultados que demonstraram maior eficiência do comportamento higiênico das abelhas em dias ensolarados do que em dias tendentes a chuva e chuvosos, não existindo diferença estatística entre o comportamento higiênico das abelhas em dias tendentes a chuva quando comparados aos dias chuvosos e concluiu que as abelhas campeiras no interior da colméia impedidas de voarem devido a chuva não desempenhariam as atividades das abelhas mais novas.

Os tipos raciais de abelhas *Apis mellifera* também influenciam no desempenho do comportamento higiênico. Autores como Lengler (1976), Moretto (1988) e Gramacho (1995) avaliando o comportamento higiênico em subespécies européias e abelhas africanizadas constataram que as abelhas africanizadas realizam o comportamento higiênico com maior eficiência que as abelhas *A.m. ligustica*, *A.m. carnica* e *A.m. caucasiana*.

Por ser o comportamento higiênico uma manifestação fenotípica, ele sofre as interações não só do meio ambiente como de fatores genéticos envolvidos e, portanto ambos devem ser levados em consideração para a perfeita compreensão deste importante comportamento das abelhas (Gramacho, 1995, 1999; Gramacho e Gonçalves, 1998, 2000, 2002).

Assim, devido à extrema importância da aplicação dos conhecimentos sobre o comportamento higiênico das abelhas para estudos genéticos, como seleção de linhagens mais higiênicas, há a necessidade de se fazer um controle rígido das variáveis que interferem no comportamento higiênico, tornando-se necessário um estudo mais aprofundado sobre as causas da variabilidade deste comportamento.

Objetivos

2. OBJETIVOS

Em *Apis mellifera* é observado um sofisticado polietismo temporal, no qual operárias passam por uma série de comportamentos relacionados à idade. Dois comportamentos amplamente estudados por vários pesquisadores em todo o mundo são: o comportamento higiênico realizado por abelhas jovens e o forrageamento realizado pelas abelhas mais velhas da colônia. Entretanto, sabe-se que esta divisão de trabalho entre as operárias não é um processo rígido, ou seja, apresenta certa plasticidade, de acordo com as necessidades da colônia. O forrageamento de abelhas melíferas tem sido o foco de muitos estudos sobre plasticidade no comportamento tanto em nível individual quanto colonial. Além das variações no comportamento causadas pela necessidade colonial, estes também podem ser influenciados por estímulos externos, como: temperatura, umidade, chuva, secas, luminosidade, velocidade do vento, floradas, entre outros. Assim, duas questões tornaram-se foco deste trabalho:

A precipitação pluviométrica realmente interfere no comportamento higiênico em abelhas africanizadas?

As abelhas forrageadoras podem auxiliar na realização do comportamento higiênico?

Dessa maneira, o presente trabalho tem como objetivos específicos:

- Verificar como as precipitações pluviométricas influem no comportamento higiênico em abelhas africanizadas, levando-se em consideração as atividades de vôo registradas por sensores eletrônicos (apidômetros) antes, durante e após períodos de chuvas;

- Verificar se há atuação das abelhas forrageiras na realização do comportamento higiênico durante a noite, período no qual, existe pouca ou nenhuma coleta de recursos;
- Verificar se colônias constituídas exclusivamente por forrageadoras realizam o comportamento higiênico;
- Avaliar o efeito de variáveis climáticas como a temperatura e a umidade relativa quanto ao comportamento higiênico das abelhas.

Materiais e Métodos

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Local de estudo

Os experimentos foram realizados no Apiário Experimental do Departamento de Genética da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP (figura 1a) e em uma sala para estudos de comportamento de abelhas situada no mesmo departamento, onde foi montada uma colméia de observação. É importante ressaltar que o município de Ribeirão Preto - SP situa-se a uma altitude de 621 metros acima do nível do mar (Gonçalves, 1978) e o clima está entre o tropical e o subtropical, com verão chuvoso e inverno seco (Camargo & Mazucato, 1987). A parte experimental relacionada ao estudo das atividades de vôo registradas por sensores pertencentes a Câmara Climática foi realizada no Laboratório APILAB, situado também no Departamento de Genética no Campus da USP de Ribeirão Preto.

3.2 Espécie utilizada e condições das colônias

O estudo foi realizado com *Apis mellifera* (abelhas africanizadas) instaladas em colméias padronizadas, núcleos de fecundação modelo Langstroth com quatro quadros, sendo um deles, substituído por um alimentador interno modelo Doolittle. Para a manutenção das colônias, estas foram freqüentemente alimentadas artificialmente com xarope (50% de açúcar em água) de acordo com as necessidades de cada colônia.

3.3 Detectores de atividades de vôo das abelhas (Apidômetro)

Para o registro das atividades de vôo das abelhas foi utilizado um sistema de monitoramento de uma Câmara Climática dotada de registradores automáticos de entrada e saída (Apidômetros) e sensores de temperatura e umidade instalados nas colméias (Almeida, 2008). O equipamento foi desenvolvido pela empresa Insight Equipamentos Científicos® de Ribeirão Preto – SP, que desenvolveu inclusive um eficiente software denominado “Enxame”. Este programa de computador é um sistema de monitoramento da atividade de entrada e saída de abelhas, fornecedor de informações precisas e em tempo real. Os dados são coletados pelos apidômetros dotados de sensores de atividade situados nos tubos de entrada e saída das colméias (figura 1b). Acoplados aos tubos de entrada de cada colméia foram colocadas plataformas de pouso de diferentes cores para facilitar o reconhecimento das colônias pelas abelhas. No interior dos tubos de entrada e saída existe uma película de plástico que funciona como uma válvula, permitindo apenas a entrada e a saída de abelhas nos respectivos tubos (figura 2a).

Figura 1: (A) Apiário Experimental do Departamento de Genética da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP; **(B)** Colônia instalada em um núcleo de fecundação com tubos de entrada e saída dotados de sensores e acoplados no alvado da colméia.

Todos os dados coletados pelos apidômetros através dos sensores são enviados a uma interface (figura 2b) que os redireciona para o computador, onde são armazenados e podem ser visualizados em forma de gráficos e arquivos txt (texto sem formatação). Também foram instalados sensores de temperatura e umidade relativa (figura 2c) no interior das colméias.

Figura 2: (A) Sensores de entrada e saída instalados no alvado da colméia; (B) Interface; (C) Sensor responsável pelo registro de temperatura e umidade relativa no interior da colméia.

Na figura 3 é possível observar o padrão de atividade de vôo das abelhas africanizadas, temperatura e umidade relativa dentro da colméia, fornecidos pelo programa de monitoramento no período de 24 horas. A atividade de vôo das abelhas é altamente dependente das condições ambientais. Fatores climáticos, como: variações de temperatura, de intensidade luminosa, de umidade relativa, incidência de vento ou de chuva, modificam, modulam, ou mesmo suprimem a atividade das abelhas. Portanto, este equipamento é de extrema importância para a realização deste tipo de trabalho, pois gera gráficos precisos sobre a atividade e condições das colônias durante a realização dos experimentos.

Figura 3: Monitoramento da atividade de vôo das abelhas africanizadas (entrada e saída) e de temperatura e umidade relativa no interior da colméia e do ambiente ao longo de 24 horas. Gráfico gerado pelo programa "Enxame".

Os dados referentes às condições climáticas do meio, tais como: temperatura, umidade relativa e índice pluviométrico foram na sua maioria coletados na Estação Experimental de Ribeirão Preto, pertencente ao Instituto Agronômico da Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo, situado aproximadamente a 8 Km do local de realização dos experimentos. Na fase final da presente pesquisa foi instalada próximo ao local de realização dos experimentos e ao lado do APILAB uma Estação Climatológica Modelo Vantage Pro 2 da Davis (figura 4) responsável pela coleta de dados como a velocidade e direção do vento, quantidade de chuva (mm), pressão barométrica, temperatura e umidade relativa do ambiente externo e interno, entre outros. Estes dados são enviados para o Console via wireless onde são armazenados diariamente e 24 horas por dia (figura 5a); através de um cabo USB os dados registrados pelo Console são direcionados para o computador

onde é possível observá-los em um banco de dados ou representados graficamente (figura 5b).

Figura 4: Estação Climatológica Modelo Vantage Pro 2 instalada ao lado do Apiário Experimental da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto –USP, responsável por captar a velocidade e direção do vento, quantidade de chuva (mm), pressão barométrica, temperatura e umidade relativa do ambiente externo e interno.

Figura 5: (A) Console responsável por receber e armazenar os dados captados pela Estação Climatológica via wireless; (B) Console acoplado ao computador, responsável pelo fornecimento de informações precisas coletadas pela estação para a construção de gráficos e de um banco de dados.

3.4 Técnica utilizada para avaliação do comportamento higiênico.

Para a realização dos estudos com comportamento higiênico (CH) foram utilizadas seis colônias de abelhas africanizadas escolhidas aleatoriamente com rainhas fecundadas naturalmente e instaladas em núcleos de fecundação. Para a avaliação do comportamento higiênico em abelhas melíferas encontram-se várias técnicas descritas na literatura, dentre elas as mais utilizadas são o método de congelamento de crias, descrito por Gonçalves & Kerr (1970) e o método de perfuração de crias descrito por Newton & Ostasiewski (1986) e modificado por Gramacho & Gonçalves (1994). O trabalho realizado por estes dois últimos autores mostrou que não há diferença estatisticamente significativa entre os dois métodos de avaliação do CH, sendo, portanto as duas técnicas eficientes para estes estudos (Gonçalves & Gramacho, 2000). No entanto, para a realização do presente trabalho foi escolhido o método de perfuração de crias para avaliar o comportamento higiênico, por ser mais simples, prático e econômico. Em todos os experimentos a avaliação deste comportamento foi realizada da seguinte maneira: Quadros com crias operculadas de operárias com idade entre 10 e 14 dias foram retirados das colméias para a realização dos testes. Nestes quadros foram delimitadas duas áreas de 100 células operculadas cada, sendo uma o tratamento e a outra o controle. Na área correspondente ao tratamento, as células foram perfuradas individualmente no centro do opérculo com um alfinete entomológico nº 01 (figura 6), de modo que todas as crias fossem mortas. Após a perfuração, com o auxílio de uma folha de acetato (folha de transparência) colocada sobre os favos, foi feito um mapa das áreas de estudo para auxiliar na contagem das células; se houvessem células vazias nas áreas delimitadas, estas deveriam ser contadas para posterior ajuste nos cálculos de porcentagem. Em seguida os quadros foram devolvidos às suas respectivas colônias, onde permaneceram por 24 horas.

Após esse período, os quadros foram trazidos ao laboratório para a avaliação do comportamento higiênico. Para tal diagnóstico, registraram-se alguns dados da mesma forma que Gramacho (1995, 1999) e (Morais-Vátimo, 2008):

1. Número de células operculadas (CO)
2. Número de células pontuadas (CP)
3. Número de células desoperculadas (CD)
4. Número de células removidas parcialmente (CRP)
5. Número de células vazias (CV)

Figura 6: Perfuração das células operculadas com alfinete entomológico nº 01 (Teste de comportamento higiênico)

Para a estimativa do comportamento higiênico de cada colônia, é necessário contar, após 24 horas da perfuração, o número de células vazias das áreas de tratamento e de controle e dividir pelo número total de células existentes nas áreas correspondentes. A seguir é calculado o Fator de Correção “Z” (Moretto, 1993, Gramacho, 1995, 1999) correspondente à taxa de limpeza natural da área do controle que deve ser descontado do valor de células vazias pertencentes no tratamento, portanto, o valor do CH será o valor de células vazias do tratamento menos o valor de células vazias do controle. Caso ocorra mais de 10% de remoção no controle o teste não deve ser utilizado, sendo descartada a colônia uma vez que a remoção das crias mortas pode ter

ocorrido por alguma doença já existente na colméia ou por alguma outra causa independente da perfuração.

Após estes cálculos, os valores resultantes são transformados em porcentagem para a obtenção do desempenho na remoção total de crias mortas (CH) de cada colônia. As figuras 7a e 7b mostram testes de comportamento higiênico com diferentes desempenhos em abelhas africanizadas. Através destes testes classificamos as colônias em higiênicas quando o percentual de remoção total de crias mortas está acima de 80% e em não higiênicas quando a porcentagem de remoção apresenta valores iguais ou inferiores a 20%. Entretanto, neste trabalho não foi realizada esta seleção utilizada em programas de melhoramento genético, tendo em vista a busca por variações no comportamento higiênico propriamente dito e não apenas em colméias classificadas como higiênicas e não higiênicas.

Figura 7: (A) Teste representando colméia higiênica (100 % de remoção de crias mortas); (B) Teste representando colméia não higiênica (2.3% de remoção de crias mortas).

3.5 Avaliação da constituição etária da colônia no comportamento higiênico

Na colônia *single-cohort* abelhas jovens iniciam tarefas realizadas por abelhas mais velhas, portanto, o objetivo deste experimento foi avaliar se em colônias que são divididas em decorrência do excessivo número de abelhas originando duas colônias com constituições etárias distintas (Moretto *et. al.*, 2007), ou seja, uma colônia constituída quase que exclusivamente por abelhas jovens que ainda não saem ao campo e a outra constituída apenas por

abelhas forrageiras, se estas forrageiras executariam o comportamento higiênico comumente realizado por abelhas mais jovens.

Para a execução deste estudo, um ninho com capacidade para dez quadros foi escolhido aleatoriamente e submetido ao seguinte experimento: Um quadro contendo crias operculadas foi retirado deste ninho para a realização do teste de CH. Este quadro-teste foi devolvido a colméia e retirado 24 horas após sua realização para a averiguação percentual deste comportamento. Feito isto, a colméia foi retirada de sua localização no apiário e levada para outro suporte colocado a 8 metros de distância. No local que ela ocupava foi instalado um núcleo com três quadros contendo alimento e crias (com idade máxima de 15 dias), além de uma rainha para manter a estrutura normal de uma colônia. A transferência da colméia foi feita durante o dia, para que fosse possível a saída das forrageiras e conseqüente formação de duas colônias com constituição etária distintas. Dessa maneira, o núcleo introduzido seria constituído exclusivamente por forrageiras e a rainha nova (ou recém introduzida), enquanto o ninho transferido seria constituído principalmente por abelhas mais jovens, algumas campeiras que não haviam saído da colméia e a rainha original do ninho. Depois de realizada a divisão da colônia, introduzimos um quadro-teste em cada colméia para que estes fossem trabalhados quanto ao comportamento higiênico e assim possibilitar a avaliação da influência da constituição etária da colônia no comportamento higiênico. Para tal experimento foram realizadas três repetições.

3.5.1 Avaliação da participação das abelhas forrageiras no comportamento higiênico

A fim de complementar o experimento descrito anteriormente e verificar se a presença de abelhas forrageiras em uma colméia constituída por abelhas de todas as faixas etárias influencia no comportamento higiênico, as seis colônias escolhidas aleatoriamente foram submetidas a testes de CH em períodos distintos, a saber:

Experimento 1: introdução do quadro-teste de CH (com as áreas referentes ao tratamento e ao controle) às 6:00 horas da manhã quando normalmente as abelhas estão no início das atividades campeiras, e retirada do quadro-teste às 16:00 horas, assim o quadro-teste permanece por 10 horas ininterruptas na colméia, em um período, no qual as campeiras estão realizando atividades extranidais; ainda na mesma colônia, um novo quadro-teste é introduzido às 18:00 horas e recolhido às 4:00 horas, período no qual, todas as campeiras estão no interior da colméia. Desta forma, os testes deste experimento estão sob ausência de 10 horas das campeiras e presença de 10 horas das campeiras, respectivamente.

Experimento 2: introdução do quadro-teste de CH às 12:00 horas quando as atividades campeiras das abelhas já se iniciaram, havendo um fluxo normal de entrada e saída de forrageiras, sendo recolhido às 22:00 horas, neste caso o quadro-teste permanece na colméia por 10 horas, das quais, por 6 horas as campeiras estão envolvidas no forrageamento e por 4 horas estão no interior da colméia. Às zero horas um novo quadro-teste é introduzido, sendo recolhido às 10:00 horas, assim o quadro-teste permanece durante 6 horas na colméia, enquanto todas as forrageiras estão em seu interior e durante 4 horas, quando as atividades forrageiras já se iniciaram, totalizando 10 horas de permanência de cada teste no interior da colméia.

Após as perfurações das células de crias de operárias os quadros são devolvidos imediatamente às colméias, sendo que, cada colméia recebe dois quadros-testes ao longo do dia. Assim, cada quadro será trabalhado por populações diferentes em tamanho e em tipo de abelhas (forrageiras, construtoras, etc.). É importante salientar que como o experimento exige a introdução de dois quadros-testes no mesmo dia, o tempo de permanência de cada quadro-teste é inferior às 24 horas utilizadas em programas de seleção. Portanto, para que as células operculadas, pontuadas, desoperculadas e removidas parcialmente remanescentes do primeiro quadro-teste introduzido não interfira no segundo quadro-teste colocado na colméia, todo o conteúdo destas células foi removido com o auxílio de uma pinça.

Foram realizadas três repetições para cada colônia testada. Apidômetros foram instalados no alvado das colméias para fornecer o padrão de atividade de vôo das abelhas e para estimar a frequência de abelhas fora da colônia durante os dois experimentos realizados.

3.5.2 Colméia de observação

No intuito de auxiliar os experimentos anteriores foi montada uma colméia de observação medindo 53 cm X 5 cm X 32 cm, confeccionada para receber um quadro de uma colméia modelo Langstroth. As paredes laterais apresentam lâminas de vidro (para possibilitar a observação) com 3 mm de espessura. Tal colméia é constituída por um quadro com crias de operárias (em estágio larval para estimular a postura pela rainha), alimento (mel e pólen), aproximadamente 3.500 abelhas operárias de várias idades e uma rainha fecundada em postura para criar um ambiente interno comparável ao das colméias em geral. Para suprir a necessidade alimentar da colônia fornecíamos xarope, quando necessário, a estas abelhas. Para alimentá-las colocávamos o

alimento dentro de um frasco de vidro que era acoplado ao orifício existente na parte superior da colméia (figura 8a).

O trânsito de forrageiras entre o ninho e o campo é permitido através de um tubo plástico transparente de aproximadamente 10 cm de comprimento e 2,5 cm de diâmetro conectado à colméia e ao orifício existente na parede da sala de observação. Um corredor de madeira especial para observação ou monitoramento do fluxo de abelhas foi conectado entre o tubo plástico e o orifício na parede (figura 8b).

O corredor é constituído de uma caixa com paredes e fundo de madeira e tampa de vidro, medindo 20 cm X 5 cm X 3 cm, dotado de quatro obstáculos ou portas móveis que obrigam as abelhas a andar em zigue-zague, facilitando ao observador a identificação de abelhas marcadas com etiquetas numerados no tórax (Morais-Vátimo, 2008).

Figura 8: (A) Colméia de observação com frasco de alimento na parte superior e conexão com o ambiente externo através do corredor de madeira; **(B)** Corredor de madeira com tampa de vidro e os 4 obstáculos inseridos entre a colméia e o orifício na parede da sala, permitindo o acesso das abelhas ao exterior e facilitando a identificação das abelhas numeradas.

3.5.2.1 Marcação das abelhas e equipamentos utilizados

Inicialmente foram escolhidas de maneira aleatória 3 colônias do Apiário Experimental do Departamento de Genética, para que estas fossem utilizadas como fornecedoras das operárias que foram introduzidas na colméia de observação.

Após a montagem da colméia de observação e adaptação da colônia iniciou-se o processo de marcação das abelhas a serem monitoradas. Assim, quadros com operárias prestes a emergir foram retirados das colméias fornecedoras, transferidos para caixas de madeiras medindo 56 cm X 9 cm X 28 cm, com paredes cobertas por uma malha de metal fina e levados para estufas mantidas com temperatura (34°C) e umidade relativa (70%) controladas até a emergência das abelhas. Durante quatro dias foram marcadas 200 abelhas recém nascidas, totalizando 800 abelhas marcadas com etiquetas plastificadas numeradas e coloridas fixadas sobre o tórax (figura 9) para identificação individual, sendo, posteriormente introduzidas na colméia de observação.

Figura 9: Abelhas Africanizadas marcadas com etiquetas coloridas e numeradas.

Estas abelhas foram introduzidas inicialmente em uma câmara adaptada na parte superior da própria colméia de observação, na qual as abelhas ficaram retidas aproximadamente por 14 horas para adaptação. Esta câmara é totalmente fechada de um lado (parte inferior da câmara) por uma tela de alumínio, porém contém dois orifícios que foram mantidos fechados durante a introdução, sendo abertos somente após o período de adaptação das abelhas, por onde as operárias poderiam entrar na colméia de observação; e o outro lado (parte superior da câmara) é fechado por uma tampa de alumínio que veda a colméia do meio externo (Figura 10a e 10b).

Esta câmara mantém as operárias recém-nascidas separadas daquelas já existentes na colméia, porém, esta separação não é completa, visto que a tela permite um contato entre as operárias mais velhas de dentro da colméia e as mais jovens que estão dentro da câmara possibilitando a trofaláxis. Esta câmara também é importante para que haja a eliminação de qualquer odor diferente ao das abelhas, como por exemplo, o cheiro da cola utilizada ou da própria mão (Pereira, 2008). Tal câmara foi criada para garantir que um maior número de abelhas sejam aceitas pela colônia.

Figura10: Vista superior da colméia de observação destacando a câmara adaptada para introdução de operárias marcadas recém nascidas; **(A)** câmara de adaptação com alimento para as recém nascidas e o orifício tampado por uma rolha, no qual, as abelhas atravessam da câmara para a colméia; **(B)** câmara com abelhas marcadas em período de adaptação.

As abelhas etiquetadas foram monitoradas diariamente no intuito de verificar quais já eram forrageiras. No momento em que este comportamento tornou-se constante entre essas abelhas, um quadro foi retirado de uma das colméias fornecedoras de operárias e dois fragmentos de favo com crias sendo, 1 controle e 1 tratamento, foram removidos deste quadro e inseridos em suportes hexagonais de metal (figura 9a, 9b e 9c), conforme metodologia utilizada por Message (1979) e Pereira (2008). O fragmento-controle foi colocado no suporte, mantido intacto, enquanto o fragmento-tratamento foi embutido no suporte e suas células com crias foram mortas pelo método de perfuração. Em seguida, os dois fragmentos, agora standardizados, foram devolvidos ao quadro de origem (figura 9d) e este introduzido na colméia de observação no final da tarde, ao redor das 18h. Para facilitar a visualização das operárias trabalhando nos fragmentos inseridos, o quadro foi introduzido de maneira a permitir a passagem de abelhas sobre o favo sem que houvesse sobreposições de duas ou mais abelhas sobre as células, devido ao pequeno espaço existente entre o vidro da colméia e o próprio favo suporte (figura 9e). Uma câmera filmadora webcam (LifeCamVX-1000) acoplada ao computador foi instalada em frente à colméia (figura 11f). As filmagens iniciaram-se às 18 horas e foram encerradas às 8 horas do dia seguinte, de maneira que todo o período noturno fosse filmado. As filmagens noturnas foram possíveis graças à iluminação gerada por uma fonte de luz fria. Para evitar distúrbios causados pela incidência luminosa nas colméias durante as filmagens, as mesmas foram cobertas com papel celofane vermelho, onde apenas a área a ser filmada foi exposta à luz, ficando o outro lado da colméia (o qual não estava sendo filmado) coberto com um papel cartão preto. O objetivo deste experimento foi verificar se as abelhas que já iniciaram a atividade forrageira realizariam durante a noite (período, no qual existe pouca ou nenhuma coleta de recursos) o comportamento higiênico comumente realizado por abelhas jovens.

Figura 11: (A) Vista superior dos fragmentos inseridos nos suportes hexagonais de metal; (B) Vista lateral dos fragmentos inseridos nos suportes hexagonais de metal; (C) Quadro utilizado para a retirada dos dois fragmentos (1 controle e 1 tratamento); (D) Quadro com os fragmentos controle e tratamento já inseridos no suporte de metal; (E) Fragmentos standardizados introduzidos no quadro de maneira a evitar a passagem sobreposta de abelhas sobre os favos com a finalidade de facilitar a identificação das abelhas etiquetadas durante as filmagens; (F) Quadro com os dois fragmentos introduzidos na colméia de observação sendo filmados por uma webcam (LifeCamVX-1000).

3.6 Avaliação do comportamento higiênico em abelhas africanizadas antes, durante e depois de precipitações pluviométricas.

Embora o comportamento higiênico seja geneticamente determinado, sabe-se que assim como outros comportamentos realizados pelas abelhas podem ser influenciados por estímulos externos, como: temperatura, umidade, chuva, luminosidade, velocidade do vento, entre outros (Roubik 1989, Gramacho, 1995; Bugalho *et al.*, 2008). Dessa forma, o objetivo deste experimento foi verificar como um destes estímulos, a precipitação pluviométrica, interfere no comportamento higiênico em abelhas africanizadas. Os testes de CH foram realizados em 6 colônias escolhidas de forma aleatória, e submetidas a três grupos de experimentos, a saber:

Experimento 1: testes de CH realizados dois dias anteriores as precipitações. Para a realização desses testes tomamos por base informações sobre a previsão das condições climáticas da região. Uma vez prevista a possibilidade de chuvas iniciávamos os testes. Em caso de não confirmação os testes eram descartados até que fosse possível obter dados de CH exatamente dois dias anteriores a precipitação;

Experimento 2: testes de CH realizados durante o dia chuvoso;

Experimento 3: testes de CH feitos dois dias após o término das precipitações.

Além das comparações entre as médias de comportamento higiênico obtidas nos três experimentos, foram realizados também estudos de correlação entre as variáveis climáticas e dados comportamentais. Para cada grupo de testes foram realizadas sete repetições.

3.7 Análise estatística

Os resultados foram analisados com o auxílio do Software Sigma Stat for Windows Versão 3.10. Primeiramente os dados foram analisados quanto à normalidade de sua distribuição. Quando as comparações foram feitas entre somente dois grupos de medidas, o teste utilizado foi *Paired t - test*. Quando foram comparados 3 ou mais grupos de medidas com distribuição normal, estes foram analisados de acordo com o teste *One Way Repeated Measures ANOVA* e, quando os dados não passaram no teste de normalidade foi utilizado o teste *One Way Repeated Measures ANOVA on Ranks*. Foi realizado ainda o teste de *Correlação de Spearman* para as tentativas de correlacionarmos as variáveis climáticas (temperatura e umidade relativa) com os dados de comportamento higiênico.

Resultados

4. RESULTADOS

4.1 Avaliação do comportamento higiênico das abelhas africanizadas relacionado às atividades forrageiras

Para avaliarmos a possível influência das abelhas forrageiras no comportamento higiênico realizamos três distintos experimentos. O primeiro foi elaborado para verificar a influência da constituição etária no comportamento higiênico, o segundo foi realizado para averiguar se há alteração no comportamento higiênico quando este é realizado na presença e na ausência das forrageiras e o terceiro foi feito no intuito de visualizar se as forrageiras podem atuar efetivamente no comportamento higiênico.

4.1.1 Influência da constituição etária da colônia no comportamento higiênico

É comum apicultores realizarem a divisão de suas colônias quando estas estão com número excedente de abelhas em uma determinada colméia. Quando esta divisão é realizada, normalmente formam-se duas colônias com distintas constituições etárias, sendo uma formada em sua maioria por abelhas jovens e a outra colônia formada por abelhas forrageiras. Portanto, o objetivo deste experimento é avaliar se o comportamento higiênico comumente realizado por abelhas mais jovens poderia ser realizado em colônias constituídas apenas por abelhas forrageiras, as quais são mais velhas. Para tal, primeiramente foi realizado um teste de comportamento higiênico em uma colméia padrão, ou seja, formada por abelhas de todas as idades. Feito isto, a colônia foi dividida e um quadro-teste foi colocado em cada colônia recém formada. Os resultados de três repetições deste experimento podem ser vistos na figura 12.

Figura 12: Porcentagem de células vazias (CH) resultantes de três repetições (A,B e C) em colméias com distintas constituições etárias, ou seja, na colméia formada por abelhas de todas as idades (colméia padrão), na colméia constituída por abelhas forrageiras e na colméia formada por abelhas jovens.

Em todas as repetições a colônia padrão obteve um índice de CH intermediário ao das outras duas colônias, enquanto a colônia constituída por abelhas jovens obteve o maior índice de CH em todos os testes e a colônia formada por abelhas forrageiras apresentou o menor índice de CH em todas as repetições, no entanto, mesmo o CH sendo menos eficiente na colônia constituída por forrageiras foi possível constatar que semelhante ao que acontece em colméias *single cohort*, estas colônias constituídas por abelhas mais velhas têm a capacidade de remanejar as atividades executadas por elas evidenciando que as operárias buscam a reorganização de tarefas no interior da colméia acarretado pelo déficit de operárias de outras idades no interior da colméia. Estes dados apresentaram distribuição normal ($\alpha = 0,05$) e, portanto, foram submetidos ao teste One Way Repeated Measures ANOVA e todos possuem diferença estatisticamente significativa ($P = 0,003$).

4.1.2 Efeito da presença das abelhas forrageiras na colméia durante a realização do comportamento higiênico

Este experimento tem como objetivo avaliar a influência da presença de abelhas forrageiras no comportamento higiênico e para auxiliar este trabalho utilizamos como recurso um apidômetro instalado no alvado da colméia. Este equipamento registrou o fluxo de entrada e saída das abelhas durante o experimento e nos possibilitou definir os horários de realização dos testes.

Na figura 13 podemos observar o fluxo padrão de entrada e saída das abelhas forrageiras. Este gráfico foi gerado na planilha do Microsoft Excel a partir dos dados em txt fornecidos pelo apidômetro. Com auxílio deste programa podemos construir gráficos precisos sobre a atividade de vôo destas abelhas.

Figura 13: Padrão de atividade de voo das abelhas africanizadas (entrada e saída) da colônia 37 no período de 48 horas (10 e 11 de setembro de 2007).

De modo geral, com o auxílio deste gráfico pudemos definir que as atividades forrageiras iniciam-se em média às 6:00 horas e findam-se por volta das 18:00 horas, ou seja, no período de 24 horas as abelhas africanizadas forrageiam por 12 horas durante o dia e permanecem no interior da colméia por 12 horas durante a noite. Os resultados dos testes de comportamento higiênico foram obtidos em diferentes horários do dia, portanto, sob diferentes quantidades e tipos de abelhas.

Neste experimento as colônias foram submetidas a testes de comportamento higiênico em horários distintos, sendo que, todos os quadros-testes permaneceram 10 horas na colméia. Os quadros-testes introduzidos às 12:00 horas permaneceram por 6 horas durante o dia, enquanto as campeiras estão forrageando e 4 horas durante a noite, quando as campeiras estão no interior da colméia, como evidenciado na figura 13. Quando introduzidos às

0:00 horas os quadros-testes permaneceram por 6 horas durante a noite e 4 horas durante o dia. O resultado do primeiro teste está representado na figura 14.

Dentre as seis colônias testadas sob diferentes horários do dia verificamos que três delas (36, 37 e 74) removeram maior número de crias mortas quando os quadros-testes permaneceram por 6 horas no período noturno e o oposto foi observado na colônia 109 (figura 14), no entanto, nas colônias 35 e 108 não houve remoção das crias mortas em nenhum dos períodos avaliados. Assim, para que fosse possível compará-las avaliamos a quantidade de células operculadas, ou seja, aquelas que o processo de remoção da cria (CH) ainda não se iniciou e a quantidade de células desoperculadas, ou seja, células nas quais o processo de remoção (CH) já foi iniciado.

Figura 14: Porcentagem de células vazias dos testes de comportamento higiênico realizados em diferentes períodos do dia (12h às 22h e 24h às 10h de 18 a 19 de setembro de 2007).

Analisando estas duas colônias podemos verificar que a maior porcentagem de células operculadas são encontradas nos testes que permaneceram a maior parte do tempo durante o dia (figura 15). Se observarmos a figura 16 podemos constatar que a maior porcentagem de células desoperculadas foram encontradas nos testes em que o período de permanência foi maior durante a noite.

Figura 15: Porcentagem de células operculadas resultantes dos testes de comportamento higiênico realizados em diferentes períodos do dia (12h às 22h e 24h às 10h de 18 a 19 de setembro de 2007).

Figura 16: Porcentagem de células desoperculadas resultantes dos testes de comportamento higiênico realizados em diferentes períodos do dia (12h às 22h e 24h às 10h de 18 a 19 de setembro de 2007).

Na segunda repetição, as colônias 36, 37 e 74 foram mais eficientes na remoção total de crias mortas quando os quadros-testes permaneceram por 6 horas no período noturno, enquanto, a colônia 109 apresentou idêntico desempenho em ambos os horários e as colônias 35 e 108 não removeram nenhuma cria morta (figura 17).

Figura 17: Porcentagem de células vazias dos testes de comportamento higiênico realizados em diferentes períodos do dia (12h às 22h e 24h às 10h de 02 a 03 de outubro de 2007).

Entretanto, quando analisamos minuciosamente os processos que envolvem o comportamento higiênico verificamos que essas colônias que apresentaram a mesma porcentagem de células vazias (CH) diferem com relação às células operculadas e desoperculadas. Essas três colônias deixaram mais células operculadas nos testes que permaneceram por 6 horas durante o dia (Figura 18). Já, as mesmas colônias quando submetidas aos testes que permaneceram por 6 horas no período noturno apresentaram maior número de células desoperculadas, ou seja, um estágio intermediário do comportamento higiênico (Figura 19).

Figura 18: Porcentagem de células operculadas resultantes dos testes de comportamento higiênico realizados em diferentes períodos do dia (12h às 22h e 24h às 10h de 02 a 03 de outubro de 2007).

Figura 19: Porcentagem de células desoperculadas resultantes dos testes de comportamento higiênico realizados em diferentes períodos do dia (12h às 22h e 24h às 10h de 02 a 03 de outubro de 2007).

Na terceira repetição observamos que o comportamento higiênico foi mais eficaz em quase todas as colônias quando o quadro-teste permaneceu 6 horas durante a noite e apenas a colônia 74 apresentou CH mais eficiente quando o quadro-teste permaneceu 6 horas durante o dia (Figura 20).

Figura 20: Porcentagem de células vazias dos testes de comportamento higiênico realizados em diferentes períodos do dia (12h às 22h e 24h às 10h de 19 a 20 de julho de 2008).

Os dados resultantes destas três repetições foram analisados estatisticamente e apresentaram distribuição normal ($\alpha = 0,05$), portanto, para a comparação dos resultados de CH em períodos distintos (12h-22h / 24h-10h) foi utilizado o *Paired t - test*. A média de células vazias dos testes introduzidos às 12:00 horas e seu respectivo desvio padrão foram de $10,82 \pm 16,37$. Os testes introduzidos às 0:00 horas obtiveram a seguinte média e desvio padrão: $14,17 \pm 17,19$ (figura 10).

De acordo com as médias de células vazias resultantes de testes em distintos horários é possível verificar que o CH foi mais eficiente quando permaneceu a maior parte do experimento durante a noite nas três repetições. Os períodos de realização dos testes de CH apresentaram diferença estatisticamente significativa ($P=0,047$).

As mesmas colônias foram utilizadas em mais três repetições, no entanto, nestas repetições os quadros-testes foram introduzidos em suas respectivas colméias às 6:00 horas e retirados às 16:00 horas permanecendo, portanto 10 horas durante o dia e substituídos por quadros-testes introduzidos às 18:00 horas e removidos às 04:00 horas, ou seja, estes quadros-testes permaneceram 10 horas durante a noite no interior das colméias. Dentre as seis colônias testadas em distintos horários três delas (36, 74 e 108) demonstraram ser mais eficientes na remoção de crias mortas durante a noite do que o dia. Enquanto as colônias 35 e 37 foram mais eficientes durante o dia e a colônia 109 não removeu nenhuma cria morta em nenhum dos dois horários nos quais foi testada (Figura 21).

Figura 21: Porcentagem de células vazias dos testes de comportamento higiênico realizados em diferentes períodos do dia (18h às 4h e 6h às 16h de 10 a 11 de setembro de 2007).

Para que fosse possível avaliar a colônia 109 quanto ao CH em diferentes períodos foi necessário uma observação detalhada do que ocorreu nas células com as crias que foram perfuradas, portanto, averiguamos em qual período restou maior quantidade de células operculadas, ou seja, aquelas nas quais o processo de remoção não se iniciou e em qual período ocorreu a maior desoperculação de células caracterizando o estágio intermediário do CH.

De acordo com a figura 22a e 22b podemos constatar que na colônia 109 a maior quantidade de células operculadas foram deixadas no período diurno, enquanto a maior quantidade de células desoperculadas foi observada nos quadros-testes que permaneceram na colméia durante a noite.

Figura 22: (A) Porcentagem de células operculadas resultantes dos testes de comportamento higiênico realizados em diferentes períodos do dia (18h às 4h e 6h às 16h de 10 a 11 de setembro de 2007); (B) Porcentagem de células desoperculadas resultantes dos testes de comportamento higiênico realizados em diferentes períodos do dia (18h às 4h e 6h às 16h de 10 a 11 de setembro de 2007).

Na segunda repetição, ao contrário do que foi observado até o momento, as colônias 36, 37, 108, 109 e 110 apresentaram o melhor desempenho no CH quando realizado durante o dia e apenas a colônia 74 foi mais eficiente na remoção durante a noite (Figura 23).

Figura 23: Porcentagem de células vazias dos testes de comportamento higiênico realizados em diferentes períodos do dia (18h às 4h e 6h às 16h de 14 a 15 de maio de 2008).

Avaliando os resultados da terceira repetição notamos que três colônias (36, 108 e 110) realizaram o CH higiênico de forma mais eficiente durante a noite, enquanto as outras três colônias (37, 74 e 109) foram mais eficientes durante o dia (Figura 24).

Figura 24: Porcentagem de células vazias dos testes de comportamento higiênico realizados em diferentes períodos do dia (18h às 4h e 6h às 16h de 21 a 22 de maio de 2008).

Os dados resultantes de três repetições realizadas em diferentes horários (18h-4h/6h-16h) apresentaram distribuição normal ($\alpha = 0,05$), portanto, foi utilizado o *Paired t-test* para comparação dos resultados obtidos. A média de células vazias dos testes introduzidos às 18:00 horas e seu desvio padrão foi de $28,56 \pm 20,73$. Para os testes introduzidos às 6:00 horas os valores foram de $23,90 \pm 21,49$. Embora não haja diferença estatisticamente significativa ($P = 0,254$), a média de células vazias resultantes dos testes de CH foi maior quando estes, permaneceram na colméia durante a noite.

4.1.2.1 Avaliação da participação de abelhas forrageiras no comportamento higiênico com o auxílio de colméias de observação

Na tentativa de verificar se abelhas forrageiras têm a capacidade de auxiliar as abelhas mais jovens na execução do comportamento higiênico este experimento foi realizado com 800 abelhas marcadas com etiquetas coloridas e numeradas instaladas em colméias de observação. Fragmentos de favos com crias mortas pelo método de perfuração foram introduzidos em uma colméia de observação após as 18:00h, período no qual as atividades forrageiras praticamente cessaram e a maior parte destas abelhas já estão na colméia, uma webcam foi instalada em frente à colméia e capturou imagens durante toda a noite.

Após vinte dias da marcação realizamos a contagem das abelhas e verificamos que cerca de 200 abelhas marcadas sobreviveram até o período de filmagens, sendo que, apenas 75 abelhas foram observadas coletando pólen e, portanto, certamente abelhas forrageiras. As filmagens foram realizadas durante três noites consecutivas totalizando 42 horas de observação. Quando analisamos os vídeos verificamos que na primeira noite apenas 6 abelhas marcadas realizaram o CH, na segunda noite foram vistas 4 abelhas envolvidas neste comportamento e na terceira noite de filmagens observamos 8 abelhas marcadas realizando o CH (Figura 25).

Figura 25: Número de abelhas marcadas que foram observadas durante as três filmagens realizando o comportamento higiênico (CH) no período noturno.

Ao todo foram observadas 18 abelhas marcadas realizando alguma das etapas do comportamento higiênico, no entanto, nenhuma das 75 abelhas observadas forrageando anteriormente foi vista realizando o comportamento higiênico durante a noite.

Figura 26: Número de abelhas marcadas que sobreviveram até o período de filmagens, número de abelhas marcadas que foram observadas forrageando, número de abelhas marcadas que foram observadas realizando o CH no período noturno, das quais nenhuma foi observada forrageando anteriormente.

4.2 Comportamento higiênico de abelhas africanizadas em função das precipitações pluviométricas, temperatura e umidade relativa

Para avaliar a influência das precipitações pluviométricas no comportamento higiênico das abelhas africanizadas foram realizados testes de CH no período de julho de 2005 a fevereiro de 2008. Durante este período algumas colônias foram substituídas em decorrência do processo natural enxameatório das abelhas ou por enfraquecimento das colônias. A seguir apresentaremos todas as tendências dos resultados obtidos em 6 repetições do experimento. Os testes estatísticos foram aplicados após a obtenção de todos os dados.

No primeiro teste sob distintas condições climáticas verificamos que dentre as cinco colônias analisadas, três delas (156, 165 e 278) apresentaram um índice de remoção de crias mortas mais elevado em dias chuvosos, enquanto as colônias 271 e 281 alcançaram o melhor desempenho no teste realizado após a chuva (Figura 27).

Figura 27: Quantidade de células vazias (%) resultantes dos testes de comportamento higiênico realizados em diferentes condições climáticas, nos dias 16, 18 e 21 de julho de 2005.

Entretanto, quando comparamos as médias das colônias, verificamos que o comportamento higiênico foi mais eficiente quando realizado no dia chuvoso (Tabela 1).

Tabela 1: Dados climáticos correspondentes aos três períodos de realização dos testes de comportamento higiênico (CH) e suas respectivas médias.

	Antes da chuva	Durante a chuva	Depois da chuva
T° Máx/Mín	28.4 / 13.8 °C	18.8 / 13 °C	26.3 / 13.3 °C
Umidade Relativa (%)	72	98	87
Chuva (mm)	0	28.1	0
Média do CH (%)	29.64	38.24	25.38

Analisando os dados do segundo teste de comportamento higiênico, podemos verificar que a remoção de crias mortas pelas abelhas ocorreu de forma distinta nas três situações (Figura 28). Com exceção da colônia 156, todas as outras colônias apresentaram um índice de remoção maior em dias chuvosos quando comparados aos dois dias antecedentes à chuva. No entanto, não há exceções quando comparados os testes realizados durante a chuva com aqueles feitos dois dias após a precipitação pluviométrica, pois todos os testes feitos no período chuvoso indicam maior eficiência na remoção das crias mortas.

Figura 28: Quantidade de células vazias (%) resultantes dos testes de comportamento higiênico realizados em diferentes condições climáticas, nos dias 30 de novembro, 02 e 05 de dezembro de 2005.

Os dados sobre temperatura, umidade, índice pluviométrico e média de crias mortas removidas totalmente durante a realização dos testes são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2: Dados climáticos correspondentes aos três períodos de realização dos testes de comportamento higiênico (CH) e suas respectivas médias.

	Antes da chuva	Durante a chuva	Depois da chuva
T° Máx/Mín	22 / 20 °C	25 / 18 °C	27 / 20 °C
Umidade Relativa (%)	94	85	80
Chuva (mm)	0	47.4	0
Média do CH (%)	87.96	92.56	76.88

No terceiro teste realizado sob distintas condições climáticas verificamos que das cinco colônias analisadas quatro delas (9, 89, 156 e 278) apresentaram um índice de remoção de crias mortas mais elevado em dias chuvosos e

apenas a colônia 55 realizou a limpeza com maior eficiência no teste realizado após a chuva (Figura 29).

Figura 29: Quantidade de células vazias (%) resultantes dos testes de comportamento higiênico realizados em diferentes condições climáticas nos dias 16, 19 e 22 de dezembro de 2005.

No entanto, quando comparamos a média das colônias verificamos que o comportamento higiênico foi mais eficiente quando o teste foi realizado no dia antecedente a chuva (Tabela 3). Por tratar-se da média, este resultado pode ser atribuído à baixa eficácia na limpeza apresentada pela colônia 55 durante a chuva (Figura 29).

Tabela 3: Dados climáticos correspondentes aos três períodos de realização dos testes de comportamento higiênico (CH) e suas respectivas médias.

	Antes da chuva	Durante a chuva	Depois da chuva
T° Máx/Mín	29.6/18.8 °C	30.6/19.2 °C	26.2/19.8 °C
Umidade Relativa (%)	87	88	89
Chuva (mm)	0	7.4	0
Média do CH (%)	69.10	67.82	64.72

Dentre as seis colônias analisadas na quarta repetição verificamos que quatro delas (37, 72, 108, 109) apresentaram pouca ou nenhuma variação na eficiência do comportamento higiênico quando realizado nas três distintas situações. Com relação à colônia 35, esta apresentou maior índice de remoção de crias mortas no teste antecedente à chuva (Figura 30).

Figura 30: Quantidade de células vazias (%) resultantes dos testes de comportamento higiênico realizados em diferentes condições climáticas nos dias 07, 11 e 14 de maio de 2007.

Entretanto, ao compararmos as médias das colônias verificamos não haver diferença entre os testes realizados antes da chuva e no dia chuvoso. Ambos menos eficientes em relação aos testes realizados após a chuva (Tabela 4).

Tabela 4: Dados climáticos correspondentes aos três períodos de realização dos testes de comportamento higiênico (CH) e suas respectivas médias.

	Antes da chuva	Durante a chuva	Depois da chuva
T° Máx/Mín	31/15 °C	25.1/19.3 °C	26.7/13.3 °C
Umidade Relativa (%)	100	62	65
Chuva (mm)	0	1.3	0
Média do CH (%)	86.50	86.44	88.34

De acordo com os dados do quinto teste podemos verificar, com exceção da colônia 74, na qual o comportamento higiênico foi mais eficaz no dia chuvoso, todas as outras colônias (35, 37, 72 e 108) obtiveram maior eficiência nos testes realizados no dia anterior e posterior a chuva (Figura 31).

Figura 31: Quantidade de células vazias (%) resultantes dos testes de comportamento higiênico realizados em distintas condições climáticas nos dias 22, 24 e 26 de julho de 2007.

Os dados sobre temperatura, umidade, índice pluviométrico e a média de CH referentes a quinta repetição do experimento são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5: Dados climáticos correspondentes aos três períodos de realização dos testes de comportamento higiênico (CH) e suas respectivas médias.

	Antes da chuva	Durante a chuva	Depois da chuva
T° Máx/Mín	31.3/10.6 °C	25.8/19.2 °C	20.7/11.2 °C
Umidade Relativa (%)	45	95	85
Chuva (mm)	0	10.4	0
Média do CH (%)	69.80	59.64	68.34

Na sexta repetição do experimento podemos verificar que duas colônias (108 e 109) foram mais eficientes na remoção de crias mortas (CH) no dia chuvoso, duas colônias (36 e 74) apresentaram maior índice de remoção após a chuva e somente as operárias da colônia 37 removeram maior número de crias mortas no dia anterior à chuva (Figura 32). O primeiro teste deste experimento iniciou-se no dia 17 de janeiro, dia referente ao período antecedente à chuva, o segundo teste foi realizado no dia 20 de janeiro, período no qual choveu 44 mm (Tabela 6) e o terceiro teste foi feito somente no dia 11 de fevereiro, ou seja, 22 dias após o dia chuvoso. Isto ocorreu porque na região de realização dos experimentos o verão é chuvoso e não houve dois dias de pausa na precipitação durante todo este período. Como a chuva cessou apenas no dia 20 aguardamos mais dois dias para a realização do terceiro teste.

Tabela 6: Dados climáticos correspondentes aos três períodos de realização dos testes de comportamento higiênico (CH) e suas respectivas médias.

	Antes da chuva	Durante a chuva	Depois da chuva
T° Máx/Mín	29.7/20.6 °C	26.2/21.1 °C	31.7/21.5 °C
Umidade Relativa (%)	95	97	92
Chuva (mm)	0	44	0
Média do CH (%)	78.64	88.84	91.94

Figura 32: Quantidade de células vazias (%) resultantes dos testes de comportamento higiênico realizados em distintas condições climáticas nos dias 17, 20 de janeiro e 11 de fevereiro de 2007.

Avaliando todos os dados obtidos nas seis repetições deste experimento podemos observar a existência de variações de um teste para outro, de uma estação para outra, de uma colônia para outra e inclusive variações em uma mesma colônia. No entanto, na tentativa de avaliar mais amplamente a influência das condições climáticas e em especial das precipitações pluviométricas no comportamento higiênico de todas as colônias em três

situações (antes, durante e após a chuva), agrupamos os dados dos testes realizados em dois grupos (Primavera-Verão e Outono-Inverno) de acordo com as estações do ano e seus respectivos regimes de chuvas. Portanto, reunimos três repetições no grupo Primavera-Verão (22 de setembro a 19 de março), período no qual as temperaturas e a umidade são mais elevadas e as chuvas mais intensas, e três repetições no grupo Outono-Inverno (20 de março a 21 de setembro), no qual as temperaturas são mais amenas, a umidade é menor e as chuvas são escassas. As médias de cada grupo submetido a testes antes, durante e depois da chuva estão apresentadas na figura 33.

Figura 33: Média de células vazias (%) resultantes dos testes de comportamento higiénico referentes a dois dias antes, durante e dois dias depois da chuva nos grupos Primavera-Verão e Outono-Inverno.

Após a formação destes dois grupos realizamos os testes estatísticos para cada um deles. Os resultados de comportamento higiénico referentes ao grupo Primavera-Verão não apresentaram distribuição normal, portanto foi utilizado o

teste não paramétrico Repeated Measures ANOVA on Ranks. Foi encontrada diferença estatisticamente significativa ($P= 0,009$) nos testes de CH realizados durante a chuva quando comparados aos testes realizados antes e depois da chuva, os quais foram mais eficientes em dias chuvosos, no entanto quando comparamos os testes realizados antes da chuva com aqueles feitos após a chuva não existe diferença estatisticamente significativa. Os dados referentes ao grupo Outono-Inverno também não apresentaram distribuição normal e, portanto, foi necessário avaliar os dados através do mesmo teste não paramétrico utilizado anteriormente. No entanto, para este grupo nenhuma diferença estatisticamente significativa foi encontrada entre os tratamentos ($P= 0,754$).

Quando observamos as médias das seis repetições obtidas através dos testes de CH realizados antes, durante e depois da chuva notamos que embora não haja diferença estatisticamente significativa ($P=0,098$) existe em nosso experimento uma tendência do comportamento higiênico ser mais eficiente durante a chuva (Figura 34).

Figura 34: Média das médias de todas as repetições dos testes de CH realizados antes da chuva, durante a chuva e após a chuva.

Na tabela 8 é possível observar as médias do CH das seis repetições em três distintas condições climáticas e as médias das médias de cada tratamento e seus respectivos desvios padrões.

Tabela 8: Médias do comportamento higiênico (%) para cada tratamento em seis repetições.

Tratamentos			
Repetição	Antes da chuva	Durante a chuva	Depois da chuva
1	29.64	38.24	25.38
2	87.96	92.56	76.88
3	69.10	67.82	64.72
4	86.50	86.44	88.34
5	69.80	59.64	68.34
6	78.64	88.84	91.94
Média das médias e desvio padrão de cada tratamento	70.27 ± 21,44	72.26 ± 21,09	69.27 ± 24,01

Analizando a variação na eficiência do comportamento higiênico apresentada nos testes realizados nas três diferentes situações pudemos observar que a média de variação dos testes realizados antes da chuva para o dia chuvoso e deste para os testes realizados após a chuva são respectivamente de 2% e 3%, sendo o comportamento higiênico ligeiramente mais eficiente no dia chuvoso, enquanto a média de variação encontrada dos testes realizados antes da chuva com relação aos feitos depois da chuva foi de 1%.

Para sabermos se estas variações no comportamento higiênico em distintas condições climáticas ou simplesmente de um teste para o outro não é aleatória realizamos testes de CH em dias ensolarados com intervalo de dois dias, exatamente como foi feito no experimento de avaliação da influência das condições climáticas e em especial pelas precipitações pluviométricas no CH. As médias do CH resultantes destes testes podem ser visualizadas na figura 35. Estes dados passaram no teste de normalidade, portanto foram avaliados pelo One Way Repeated Measures ANOVA e nenhuma diferença estatisticamente significativa foi encontrada ($P= 0,769$). Portanto, avaliando

nossos resultados podemos inferir que as alterações encontradas no comportamento higiênico das abelhas durante a realização do experimento na primavera e no verão foram causadas possivelmente por variáveis climáticas das estações.

Figura 35: Média de células vazias (%) das seis colônias avaliadas quanto ao comportamento higiênico em dias ensolarados com intervalo de dois dias entre um teste e outro.

Para avaliar a influência das variáveis climáticas como temperatura, umidade relativa e índice pluviométrico (mm) no comportamento higiênico utilizamos os dados coletados durante a realização dos experimentos e os submetemos ao teste de Correlação de Spearman. Todos os dados analisados de CH e das condições climáticas são referentes aos dias chuvosos. Na figura 36 é possível observar os gráficos de cada variável estudada.

Figura 36: (A) Médias do CH (%) resultantes dos testes realizados em dias chuvosos e as temperaturas registradas nos dias de cada repetição do experimento; (B) Médias do CH (%) resultantes dos testes realizados em dias chuvosos e os milímetros de chuva registrados nos dias de cada repetição do experimento; (C) Médias do CH (%) resultantes dos testes realizados em dias chuvosos e a umidade relativa do ambiente registrada nos dias de cada repetição do experimento.

A variável climática temperatura não apresentou nenhuma diferença estatisticamente significativa ($P > 0,05$), entretanto, a variável índice pluviométrico apresentou correlação positiva ($r = 0,574$; $P = 0,0241$) quando os testes foram realizados no verão e na primavera, estações nas quais as chuvas foram mais intensas, já no outono e no inverno, estações caracterizadas pelos baixos índices pluviométricos, esta variável apresentou correlação negativa ($r = -0,597$; $P = 0,0183$) com o comportamento higiênico. A umidade relativa mostrou-se um fator inversamente proporcional em relação ao CH, ou seja, enquanto uma variável tende a aumentar a outra tende a diminuir (Figura 36C). O teste de correlação entre o CH e a umidade apresentou diferença estatística significativa ($r = -0,453$; $P = 0,0051$).

Durante a realização do experimento todas as colônias foram monitoradas quanto à atividade de vôo das abelhas e através deste monitoramento foi possível observar que durante chuvas fracas e passageiras as abelhas continuam a sair da colméia e apenas em chuvas fortes e prolongadas, com precipitação de 10,4 mm ou mais, as abelhas diminuem a atividade de saída, no entanto, em nenhum período observado durante o experimento as abelhas cessaram completamente esta atividade (Figuras 35 e 36).

Figura 35: (A) Gráfico gerado pelo Microsoft Excel da atividade de entrada e saída de abelhas da colônia 108 no dia 20 de janeiro de 2008, no qual, ocorreu precipitação de 44 mm (período da tarde); **(B)** Gráfico fornecido pelo sistema de monitoramento da atividade de entrada e saída de abelhas da mesma colônia no mesmo dia.

Figura 36: (A) Gráfico gerado pelo Microsoft Excel da atividade de entrada e saída de abelhas da colônia 108 no dia 24 de julho de 2007, no qual, ocorreu precipitação de 10.4 mm (período da manhã); **(B)** Gráfico fornecido pelo sistema de monitoramento da atividade de entrada e saída de abelhas da mesma colônia no mesmo dia.

Discussão

5. DISCUSSÃO

5.1 Influência das abelhas forrageiras e do período do dia no comportamento higiênico

Conforme estudos que vêm sendo desenvolvidos no laboratório de pesquisas com abelhas (APILAB-USP) em Ribeirão Preto, em especial sobre as atividades de vôo das abelhas africanizadas, graças ao uso de registradores automáticos (apidômetros), foi constatado que essas atividades são realizadas normalmente em dois períodos distintos: “período de forrageamento” em que as abelhas realizam atividades externas e quando a colméia apresenta mais de 40% de suas operárias em atividades no campo e “período de repouso” ou de “atividades internas” em que praticamente todas as abelhas da colônia se encontram dentro da colméia (Buriolla & Gonçalves, 1989; Souza & Gonçalves, 1994 e Almeida *et al*, 2006). Esses dois períodos de atividades de vôo das abelhas estão diretamente relacionados com o nascer e pôr do sol, de tal forma que o primeiro período ocorre normalmente durante o dia, entre 6:00 horas da manhã e 18:00 horas nas nossas condições climáticas subtropicais e de acordo com a estação do ano e o segundo período ocorre aproximadamente das 18:00 horas as 6:00 horas do dia seguinte. Nesse último período todas as atividades da colônia ocorrem dentro da colméia. Portanto, nos dois períodos distintos a frequência de abelhas (população) e o tipo de abelhas (nutrizes, forrageiras etc.) dentro das colméias são diferentes. Sabe-se que na típica sociedade das abelhas *Apis mellifera* existe o polietismo etário, no qual as operárias jovens são responsáveis por tarefas, como cuidado com as crias e construção de células, a limpeza e a guarda da colônia ficam a cargo de indivíduos ligeiramente mais velhos e o forrageamento é tarefa das operárias mais velhas da colônia (Nowogroszki, 1984). Segundo Seeley (1982) o polietismo etário mostra elevada correlação entre a idade das operárias e suas respectivas tarefas sendo, portanto, as forrageadoras abelhas de 20 a 28 dias.

Invernizzi e Corbella (1999) utilizando uma colméia de observação e abelhas marcadas encontraram que as idades médias das abelhas que realizam as atividades de desoperculação e remoção são de 11,7 e 11,4 dias respectivamente. Pereira (2008) verificou que abelhas de 2 a 14 dias realizam a desoperculação e remoção, enquanto Morais-Vátimo (2008) observou abelhas com até 19 dias realizando essas atividades. Todos os autores sugerem que ambas atividades são desenvolvidas pelas mesmas abelhas como parte de um único comportamento, o comportamento higiênico. Com o aumento da idade das operárias, há uma transição relativamente constante de tarefas realizadas dentro do ninho para tarefas executadas fora do ninho, entretanto, não necessariamente as abelhas seguem esse padrão de atividade, podendo assumir uma extraordinária plasticidade em seu repertório comportamental, ou seja, as operárias podem acelerar, retardar ou até mesmo reverter suas atividades em resposta às mudanças nas condições da colônia. Esta plasticidade nas atividades é uma característica importante de adaptação das colônias de *Apis* ao ambiente (Brillet *et al*, 2002). Em colméia *single-cohort* constituída inteiramente por abelhas de mesma idade foi observado que, devido à falta de operárias mais velhas, as abelhas mesmo jovens (três dias) iniciam o comportamento de forrageamento (Morais-Vátimo, 2008). A ausência de abelhas forrageiras (idades mais avançadas) estimula o início do forrageamento de aproximadamente 10% das operárias da colméia (Elekovich & Roberts, 2005). Quando apicultores realizam a divisão da colméia, de modo geral, formam-se duas colônias com distintas constituições etárias, sendo uma formada em sua maioria por abelhas jovens e a outra colônia formada por abelhas forrageiras. Neste trabalho um dos objetivos foi avaliar se o comportamento higiênico comumente realizado por abelhas mais jovens que ainda não saem para coletar poderia ser realizado em colônias constituídas apenas por abelhas mais velhas, as quais já são forrageiras.

Em todas as repetições do nosso experimento observamos que a colônia constituída por abelhas jovens obteve o maior índice de CH em todos os testes

e a colônia formada por abelhas forrageiras apresentou o menor índice de CH em todas as repetições, enquanto a colônia padrão (constituída por abelhas de todas as idades) obteve um índice de CH intermediário ao das outras duas colônias (Figura 12), no entanto, mesmo o CH sendo menos eficiente na colônia constituída por forrageiras foi possível constatar que semelhante ao que acontece em colméias *single cohort*, estas colônias constituídas por abelhas mais velhas (forrageiras) têm a capacidade de remanejar as atividades executadas por elas evidenciando que as operárias buscam a reorganização de tarefas acarretada pelo déficit de operárias de outras idades no interior da colméia. Outros pontos importantes observados através deste experimento é que ao menos na ausência de abelhas jovens as abelhas forrageiras realizam o comportamento higiênico, tornando evidente a plasticidade que existe na divisão de trabalho entre as operárias. Além disso, o melhor desempenho demonstrado pela colônia constituída por abelhas jovens pode ser atribuído a maior dedicação destas abelhas a atividade de limpeza (CH) uma vez que a coleta de recursos está extremamente reduzida pela falta de forrageiras e conseqüentemente as abelhas mais jovens não despendem tempo em tarefas como recepção e armazenamento de néctar, empacotamento de pólen, alimentação de abelhas forrageiras via trofaláxis, etc.

Com este experimento foi possível observar que as forrageiras podem realizar o comportamento higiênico comumente realizado por abelhas mais jovens na ausência destas, entretanto, não esclarece se o observado pode ocorrer em uma colméia padrão, ou seja, se em colônias formadas por abelhas de todas as idades as forrageiras podem auxiliar no comportamento higiênico. Para tentar esclarecer esta dúvida realizamos dois distintos tipos de experimentos, no primeiro as colônias foram submetidas a testes de CH em diferentes períodos do dia, sendo, portanto, cada quadro-teste trabalhado por populações diferentes em tamanho e tipo de abelhas e, no segundo, as abelhas foram marcadas com etiquetas coloridas e numeradas, sendo

filmadas após 20 dias na tentativa de observarmos se as abelhas forrageiras realizam atividades relacionadas ao comportamento higiênico dentro das colméias, principalmente durante a noite.

Nos testes do primeiro tipo de experimento realizados em diferentes períodos do dia (12h às 22h/24h às 10h) e (6h às 16h/ 18h às 4h) notamos que em decorrência do reduzido tempo de permanência dos quadros-testes no interior das colméias, apenas 10 horas, a porcentagem de remoção de crias mortas é baixa e em alguns casos não encontramos crias removidas totalmente. Portanto para que fosse possível uma melhor avaliação do desempenho no CH destas colônias observamos a quantidade de células operculadas, ou seja, nas quais o CH ainda não foi manifestado e a quantidade de células desoperculadas, o que caracteriza um estágio intermediário do comportamento higiênico que precede a remoção. No experimento realizado das 12h às 22h (6 horas durante o dia e 4 horas durante a noite) e das 24h às 10h (6 horas durante a noite e 4 horas durante o dia) observamos que nas três repetições a porcentagem média de células vazias (CH) foi mais elevada nos quadros-testes que permaneceram 6 horas durante a noite, ou seja, o CH foi estatisticamente mais eficiente quando os testes permaneceram a maior parte do tempo no interior das colméias no período noturno ($P=0,047$). As mesmas colônias quando submetidas aos testes de CH realizados das 18h às 4h (10 horas durante a noite) e das 6h às 16h (10 horas durante o dia) não apresentaram diferença estatística quanto ao horário no qual o comportamento higiênico foi mais eficiente ($P= 0,254$), no entanto, observamos uma tendência deste comportamento ser mais eficaz quando os quadros-testes permaneceram na colméia no período noturno. Estas alterações encontradas no CH realizados em distintos períodos podem estar associadas a vários fatores, um deles, pode ser o auxílio das abelhas campeiras no comportamento higiênico, uma vez que durante a noite a coleta de recursos é extremamente reduzida e a maioria destas abelhas encontram-se no interior da colméia. De acordo com Thom *et al.* (2000) o forrageamento é realizado por

menos de 50% das operárias, portanto, esta parcela de abelhas envolvidas nesta atividade durante o dia poderiam realizar outras tarefas como por exemplo o CH durante a noite, período no qual não estão coletando. Uma característica muito importante da sociedade das abelhas, na qual embasamos nossa hipótese, é a plasticidade encontrada na divisão de tarefas (Seeley, 1982; Southwick, 1988; Robinson, 1992; Beshers *et al.*, 2001). Pois através desta plasticidade as operárias podem reverter um determinado comportamento de acordo com as necessidades da colônia (Bloch & Robinson, 2001). Podemos justificar esta hipótese com os resultados encontrados por Thompson (1964) que observou abelhas com menos de 27 dias realizando o comportamento higiênico na presença ou não do fluxo de néctar, entretanto, observou que abelhas com mais de 27 dias removiam todas as crias mortas somente durante o fluxo de néctar, ou seja, período no qual, as abelhas necessitam de células vazias para armazenar o alimento. Esse tipo de comportamento evidencia a capacidade que as abelhas mais velhas têm em reverter a atividade que estão executando para auxiliar em tarefas com necessidade imediata para a colônia. Outro importante trabalho, no qual podemos associar ao nosso objetivo é o de Momot & Rothenbuhler (1971), pois estes autores realizaram um estudo em colméias de observação com distintas constituições genótípicas, uma formada por forrageiras higiênicas e abelhas recém nascidas não higiênicas e a outra colônia com composição oposta. Com este experimento eles concluíram que abelhas forrageiras higiênicas removem as crias mortas induzidas por um fluxo de néctar, as abelhas jovens higiênicas removem as crias mortas com ou sem entrada de néctar, enquanto as abelhas não higiênicas, tanto jovens quanto forrageiras, não realizam o comportamento higiênico com eficiência nem mesmo quando há um intenso fluxo de néctar. Assim, os autores supracitados notaram um melhor desempenho no CH no período diurno quando há intenso fluxo de néctar. Entretanto, para nosso trabalho nos detemos ao fato encontrado, que é a capacidade de reversão de tarefas pelas forrageiras e dessa maneira supomos

que a remoção de crias mortas, ou seja, o comportamento higiênico foi mais eficiente no período noturno e nos testes que permaneceram a maior parte do tempo (6 horas) durante a noite devido ao auxílio das abelhas forrageiras no CH, já que a coleta de recursos não existe ou é reduzida no período noturno.

Nossos resultados também podem estar relacionados aos encontrados por Pereira (2008), pois embora este autor não tenha encontrado diferença estatística significativa quanto ao período (diurno ou noturno) em que as abelhas realizam o comportamento higiênico com mais eficiência, podemos notar em seus dados que as abelhas higiênicas removeram o maior número de crias mortas no período noturno tanto em favos novos quanto velhos. Entretanto, diferente do observado neste trabalho Message (1979) realizou experimentos com os quais evidenciou uma tendência das abelhas africanizadas serem mais eficientes no CH durante o dia, embora também não tenha encontrado nenhuma diferença estatisticamente significativa.

No entanto, mesmo observando em nosso experimento que o comportamento higiênico foi realizado com maior eficiência no período noturno, sugerindo uma maior atividade das abelhas forrageiras no CH, isto poderia ser confirmado somente após a observação de uma campeira auxiliando em alguma das etapas do referido comportamento. Para atingirmos este objetivo realizamos o segundo tipo de experimento utilizando uma colméia de observação instalada no laboratório e abelhas marcadas com etiquetas coloridas e numeradas na tentativa de visualizarmos se há ou não a participação efetiva das abelhas campeiras no comportamento higiênico.

Abelhas bastante velhas já foram observadas realizando o CH. Arathi & Spivak (2001) registraram uma abelha com 56 dias de idade realizando o comportamento de remoção, Pereira (2008) observou abelhas com até 42 dias realizando o CH. Já Thakur *et al.* (1997) alegam que não ocorre a participação de operárias com mais de 14 dias de idade nos comportamentos de

desoperculação e remoção de crias infestadas com ácaro. Entretanto, estes autores não verificaram se estas abelhas mesmo sendo velhas tornaram-se abelhas forrageiras. Assim sendo, neste experimento marcamos abelhas recém nascidas com etiquetas coloridas e numeradas que possibilitaram sua identificação e observamos o comportamento destas abelhas. Segundo Winston & Punnett (1982) a idade das abelhas que executam a atividade forrageira, em clima tropical, varia entre 18 e 30 dias. Seeley (1982) verificou que a idade das campeiras variou de 10 a 27 dias e de acordo com Winston (2003) este comportamento é realizado por abelhas com idade entre 10 a 40 dias. Em nosso experimento 20 dias após a marcação de abelhas recém nascidas iniciamos as observações para verificarmos quais abelhas haviam tornado-se forrageiras. Inserimos no quadro-teste um fragmento de favo com crias mortas e o filmamos durante a noite. Porém, mesmo com as evidências de que a divisão de trabalho apresenta certa plasticidade e que abelhas forrageiras já foram observadas realizando o CH na presença de intenso fluxo de néctar e do CH ter sido mais eficiente durante a noite em nossos experimentos não observamos nas três repetições nenhuma abelha forrageira realizando o comportamento higiênico no período noturno.

Contudo, não podemos descartar a possibilidade destas abelhas auxiliarem no CH. Mas, como não observamos as forrageiras realizando efetivamente o CH podemos atribuir o melhor desempenho na remoção de crias mortas durante a noite ao possível desvio de função de outras abelhas responsáveis pela recepção e armazenamento de néctar, exposição do néctar para evaporar a umidade e empacotamento de pólen. De acordo com Winston (2003) estas atividades relacionadas à manipulação do alimento ocorrem quando elas apresentam 11 a 16 dias de idade. A trofaláxis entre a campeira e a receptora demora alguns segundos e a operária campeira divide, normalmente, sua carga entre duas ou três receptoras. Quando a operária recebe o néctar, geralmente, ela se desloca para um local não congestionado do ninho e expõe o néctar ao ar para evaporar a umidade e

após 20 minutos aproximadamente a operária deposita o néctar parcialmente evaporado em um alvéolo. As operárias do ninho também manipulam o pólen, depois que ele é depositado nos alvéolos pelas campeiras. As porções soltas de pólen são umedecidas com mel regurgitado e saliva sendo armazenados no fundo dos alvéolos e compactados com as mandíbulas das operárias (Parker, 1926 *in* Winston, 2003). Portanto estas tarefas demandam tempo por parte das operárias que as realizam durante o dia quando há coleta de alimento, todavia, durante a noite estas atividades praticamente não existem e estas abelhas podem estar engajadas em outras tarefas como o comportamento higiênico, o que justificaria o melhor índice de remoção de crias mortas no período noturno encontrado em nossos experimentos.

5.2 Influência das precipitações pluviométricas, da temperatura e umidade relativa no comportamento higiênico

O comportamento higiênico é uma característica muito utilizada para seleção em programas de melhoramento genético de abelhas, entretanto, o controle de qualquer comportamento é extremamente difícil sem que se saibam os mecanismos genéticos que os determinam e quais fatores ambientais influenciam em determinado comportamento. Southwick & Moritz (1987) demonstraram que, eliminando as variações genéticas, as condições climáticas influenciam cerca de 92,4% na variação do comportamento defensivo das abelhas do gênero *Apis*, principalmente, no que diz respeito à elevação da temperatura, umidade relativa e velocidade do vento. Assim, este capítulo possui como objetivo verificar como a temperatura, a umidade relativa do ambiente e em especial a precipitação pluviométrica influencia no comportamento higiênico realizado pelas abelhas africanizadas.

Pesquisas com esta temática já foram realizadas anteriormente, no entanto, não se estabeleceu uma metodologia clara no sentido de apurar as razões dessa diferença no comportamento higiênico. Message & Gonçalves

(1976) e Gramacho (1995) avaliaram o comportamento higiênico em dias chuvosos e ensolarados, entretanto, os autores realizaram os testes de CH em distintas condições climáticas com até um mês de intervalo entre os testes. De acordo com Spivak & Gilliam (1993) embora o comportamento higiênico seja determinado geneticamente, sua expressão ou não é dependente das condições da colônia, do favo, do alimento, entre outros. Além disso, testes realizados com grandes intervalos estão sujeitos a alterações acarretadas pela composição genotípica das operárias, já que uma colônia de abelhas *A. mellifera* é constituída de várias subfamílias de operárias devido à poliandria. Rainhas cruzam com uma média de sete a 17 machos e os espermatozóides desses diferentes machos ficam armazenados em pacotes dentro da espermateca da rainha (Martinho & Gonçalves, 1979; Page, 1986), portanto, as operárias originadas da fecundação dos óvulos por espermatozóides de um mesmo pacote são mais semelhantes que operárias originadas pela fecundação por espermatozóides de outros pacotes de sêmen, o que provocaria uma diferença na frequência genotípica dos genes responsáveis pelo comportamento higiênico e, conseqüentemente, variações na expressão fenotípica deste comportamento (Giray & Robinson, 1994). Dessa maneira, testes de CH realizados com vários dias de intervalo estão sujeitos a alterações em sua eficácia ocasionadas por outras variáveis além das que estão sendo analisadas. Assim, na tentativa de minimizar a influência de outras variáveis no CH realizamos testes referentes a dois dias antes da chuva, no dia chuvoso e dois dias após a chuva, pois com o intervalo de apenas dois dias entre os testes, as condições das colônias, a disponibilidade de alimento e a frequência genotípica da colônia não sofrem grandes modificações, o que possibilita analisar a influência das variáveis climáticas, como a temperatura, umidade relativa e índice pluviométrico nas três distintas situações.

Message & Gonçalves (1979) realizaram testes de CH em oito colméias em épocas diferentes e notaram uma variação relativamente cíclica do comportamento higiênico, levando-os a supor uma forte influência ambiental.

Dessa maneira, os testes de CH deste experimento foram reunidos para a análise em dois grupos, Primavera-Verão e Outono-Inverno, para facilitar a avaliação das variações no CH de acordo com as características das estações climáticas. Através da análise dos resultados podemos verificar que os testes de CH foram estatisticamente mais eficientes em dias chuvosos do que em dias anteriores e posteriores à chuva, durante a primavera e o verão, entretanto no outono e no inverno as precipitações pluviométricas não influenciaram no comportamento higiênico (Figura 33). Estes resultados podem estar associados aos encontrados por Kolmes (1985), pois este pesquisador mostrou que as operárias, durante as estações com fraco fluxo de néctar e de pólen, executam menos tarefas associadas com a coleta e armazenamento do que as operárias em estações com intenso fluxo de alimento, ou seja, durante as estações de grande disponibilidade de recursos como a primavera e o verão as operárias estão envolvidas em tarefas como o forrageamento, recepção de néctar e empacotamento de pólen nos dias ensolarados, entretanto, nos dias chuvosos a atividade de coleta é reduzida e conseqüentemente todas as outras atividades a ela relacionadas, o que explicaria o fato do CH ser mais eficiente durante o dia de chuva nestas estações. Já no outono e no inverno, o comportamento higiênico não apresentou diferença estatística com relação aos testes realizados antes, durante e depois da chuva, pois nestas estações o fluxo de alimento é menor, ou seja, independente se o dia está ensolarado ou chuvoso, a coleta de alimento já é reduzida, ou seja, provavelmente as operárias responsáveis pelas tarefas relacionadas a coleta de recursos já estavam envolvidas em outras atividades dentro da colméia, como por exemplo no comportamento higiênico. Portanto, a diferença entre essas condições climáticas não foi tão discrepante a ponto de tornar-se estatisticamente significativa. Todavia quando analisamos a média de todos os testes realizados nas quatro estações (Figura 34) é possível observar que embora não tenha sido encontrada nenhuma diferença estatística significativa

existe uma tendência do comportamento higiênico ser mais eficaz em dias chuvosos do que em dias antecedentes e posteriores a chuva.

Nossos resultados confirmam os encontrados por Message & Gonçalves (1976), pois estes autores observaram que as condições climáticas interferem no comportamento higiênico das abelhas, de tal forma que a remoção das crias mortas é realizada mais intensamente nos períodos chuvosos. Já Gramacho (1995), diferentemente dos autores citados anteriormente, encontrou maior eficiência no comportamento higiênico em dias ensolarados do que em dias tendentes a chuva e chuvosos, inferindo que a precipitação pluviométrica não interfere positivamente no comportamento higiênico, uma vez que, segundo a autora, a presença de abelhas campeiras no interior da colméia não significa que estas irão desempenhar as atividades realizadas por abelhas mais jovens. Podemos relacionar nossos dados aos encontrados por Modesto-Zampieron (1991) e Silva (1994) que constataram maior quantidade de crias mortas removidas totalmente em períodos chuvosos. Estes autores, ao contrário de Gramacho (1995) sugeriram que, provavelmente, isto é devido ao fato das abelhas forrageiras passarem a maior parte do tempo dentro da colméia em dias chuvosos, o que possibilitaria maior empenho nas tarefas no interior da colméia, como por exemplo, a limpeza. Entretanto Souza (1993) ao analisar a atividade de saída das abelhas com auxílio de um registrador automático observou que as chuvas têm pouca ou nenhuma influência nas tarefas internas das operárias, apenas impedindo a saída das abelhas. Boch, 1956 in Roubik, 1989 observou que em tempestades, as forrageiras cessam a coleta em fontes localizadas a 6 Km de suas colméias, no entanto, continuam a coletar em fontes localizadas a 100m de distância até a chegada da chuva. Já chuvas, nas quais o céu escurece, estimulam o rápido retorno das abelhas para seus ninhos, enquanto muitas abelhas são observadas forrageando em períodos de chuva, nos quais o Sol aparece (Linsley, 1958; Morse, 1982 in Roubik, 1989). Muitos pesquisadores sugerem que as abelhas *Apis mellifera* (africanizadas) continuam forrageando durante a chuva quando há presença

de luz solar (Portugal-Araújo, 1971 in Roubik, 1989). Conforme observado em nossos experimentos de monitoramento da atividade de vôo das abelhas em dias ensolarados e chuvosos verificamos que durante chuvas fracas e passageiras as abelhas continuaram a sair da colméia e apenas em chuvas fortes e prolongadas, com precipitação de 10.4 mm ou mais, as abelhas diminuíram a atividade de vôo, no entanto, esta informação trata-se de um registro de atividade de entrada e saída de abelhas da colméia, pois não foram realizadas observações durante a chuva para verificar se tais abelhas coletaram algum recurso ou se apenas saíam da colméia por um tubo e entravam pelo outro sem que forrageassem. Contudo, independente da atividade forrageira é possível observar através deste monitoramento que as abelhas realmente reduzem a saída durante chuvas fortes e que em nenhum período observado durante o experimento as abelhas cessaram completamente a atividade de vôo. De acordo com Winston (2003) análises da relação entre vento, chuva e intensidade de forrageamento mostraram diminuição do forrageamento com ventos fortes e chuva intensa. O efeito do vento é provavelmente similar ao efeito da chuva, pois motivam as abelhas a selecionarem os recursos mais próximos de suas colméias. Através deste trabalho também constatamos uma correlação positiva ($r=0,574$; $P=0,024$) entre a remoção de crias mortas (CH) e o índice pluviométrico durante a primavera e o verão, ou seja, quanto maior a pluviometria, maior a remoção de crias mortas e menor a atividade de forrageamento, o que reforça a hipótese de que as campeiras e outras operárias envolvidas na recepção e armazenamento de alimento poderiam auxiliar no CH, já que durante a chuva a coleta de recursos é reduzida. Baseamos nossas conclusões de acordo com Visscher & Seeley (1982), pesquisadores que verificaram que o forrageamento tem uma forte variação no verão, em termos de intensidade forrageira e otimização de coleta, sendo que, quando há pouca fonte de alimento, as abelhas permanecem no interior da colméia economizando energia. Além disso, quando necessário, essas abelhas podem retornar a executar certos

comportamentos arrítmicos, por exemplo, as forrageiras podem voltar à fase de nutrízes, período no qual, são arrítmicas, evidenciando a plasticidade da divisão de trabalho e da ritmicidade (Bloch & Robinson, 2001). No entanto, durante o outono e o inverno verificamos uma correlação negativa ($r = -0,597$; $P = 0,018$) entre o CH e a precipitação pluviométrica. Sabe-se que as abelhas do gênero *Apis* conservam o calor através de aglomeração de indivíduos, produzem calor por contração muscular, controlam a temperatura através da ventilação, etc (Budel, 1968; Heran, 1968 in Seeley, 2006), comportamentos estes que são realizados quando há necessidade de manter a temperatura ideal da colméia. Portanto, dias chuvosos durante o outono e o inverno, quando as temperaturas são mais baixas do que nas outras estações, seria responsável pela concentração de esforços das operárias nestas atividades de necessidade imediata, tornando a importância da realização do CH secundária nesta situação. Já a variável climática umidade relativa do ambiente comportou-se como um fator inversamente proporcional em relação ao CH, ou seja, quanto maior a umidade relativa do meio menor a expressão do CH, sendo que esta correlação entre o CH e a umidade apresentou diferença estatística significativa ($P = 0,0051$). Segundo Message (1979) a amplitude de variação da umidade relativa em Ribeirão Preto-SP apresentou correlação negativa significativa, mostrando que o aumento na amplitude de variação da umidade leva a uma redução no comportamento higiênico, embora não tenha encontrado nenhuma correlação entre as duas variáveis propriamente ditas. Contudo, diferente do verificado em nosso trabalho Modesto-Zampieron (1991) observou uma correlação positiva significativa entre o número de células pontuadas pelas abelhas cordovão e o aumento da umidade relativa. Boch, 1956 in Roubik, 1989 inferiu que há possibilidade de detecção da umidade e pressão barométrica pelas abelhas que as permitem pressentir o clima úmido e as rajadas de ventos algum tempo antes da chegada da chuva. Esta informação nos levaria a conclusão de que o comportamento higiênico seria mais eficiente com o aumento da umidade,

uma vez que estas abelhas diminuiriam a atividade forrageira em função da chuva já prevista. No entanto, sabe-se que as abelhas africanizadas mantêm a umidade relativa da colméia em aproximadamente 70%, ou seja, com o aumento da umidade relativa as operárias possivelmente estão envolvidas na ventilação do ninho, comportamento este executado com vários propósitos, entre eles a evaporação da umidade do interior da colméia, resfriamento da colméia, a evaporação da umidade do mel e a redução do nível de gás carbônico dentro da colméia (Winston, 2003). Este comportamento pode ser verificado em qualquer região da colméia, embora, possam ser vistas operárias de qualquer idade a ventilar, esta atividade é executada primordialmente pelas operárias mais velhas (Morais-Vátimo, 2008), fato este que justificaria a correlação negativa entre o CH e a umidade relativa.

Vários estudos mostram relações de fatores que interferem na atividade de vôo em abelhas eussociais. A atividade de operárias *Apis florea*, por exemplo, correlaciona-se positivamente com a temperatura do ar e com a intensidade luminosa e, negativamente, com a umidade relativa (Sihag & Abrol, 1986 in Almeida, 2008). No caso dos insetos sociais, o controle da temperatura no ambiente do ninho é condição essencial para a sobrevivência da colônia, porque os processos biológicos podem ser modificados e, ou alterados por variações da temperatura. Abelhas sociais necessitam e têm a capacidade de controlar o micro-clima do ninho. May (1979) define termorregulação como a capacidade que um organismo tem de controlar, manter e normalizar suas condições internas através da temperatura, de resposta comportamental ou fisiológica ativa ao seu ambiente natural. Este potencial termorregulador parece surgir cedo na vida das operárias, pois estas abelhas são capazes de gerar calor apenas alguns dias depois de nascerem. As abelhas também precisam manter a temperatura torácica acima de 27°C, aproximadamente, para voar (Heinrich, 1974). Com a temperatura abaixo deste valor, os músculos de vôo não conseguem gerar a frequência mínima de batimento de asas para produzir a força de arrancada necessária para se

lançarem em vôo (Josephson, 1981). A ação de aquecimento pré-vôo definiu, evidentemente, o estágio para a evolução do aquecimento do ninho, uma vez que os mecanismos para aquecer os músculos de vôo e aquecer o ninho são os mesmos (Esch, 1960 in Seeley, 2006).

Free & Simpson (1963), estudando o metabolismo respiratório em colônias de abelhas *Apis mellifera* expostas a baixas temperaturas, verificaram que no inverno a colônia controlava a temperatura através de variações na produção de calor por agrupamento de abelhas. Inversamente, outra estratégia termorreguladora é adotada pelas operárias, quando a temperatura ambiente é alta. Elas espalham a água transportada no papo sobre todas as células da colônia e, com a subsequente evaporação, há uma diminuição da temperatura interna da colônia (Lindauer, 1955 in Almeida, 2008).

Nelson & Jay (1967) verificaram que a atividade de vôo das operárias está relacionada com a temperatura e que, no verão, esta relação é maior do que no inverno, atribuindo estas mudanças às diferenças fisiológicas estacionais. Morais *et al* (2007) utilizando uma colméia instalada em uma câmara climática observaram que o aumento da temperatura causa alterações no comportamento higiênico. Estes autores constataram que a colônia utilizada removeu 100% das crias mortas a 34°C (temperatura interna), 63% das crias mortas foram removidas a 38°C e a 40°C nenhuma cria morta foi removida da colméia indicando que à medida que a temperatura aumenta o comportamento higiênico tende a ser menos eficiente, o que poderia ser explicado pelo deslocamento de abelhas engajadas na tarefa de limpeza para realizarem a termorregulação e coleta de água em função das necessidades da colônia. Todavia, após analisarmos a variável temperatura com o auxílio do teste de Correlação de Spearman, não encontramos nenhuma diferença estatisticamente significativa quanto a sua influência no comportamento higiênico. Podemos relacionar nossos dados aos encontrados por Message & Gonçalves (1984), pois avaliaram a influência da temperatura no comportamento higiênico e notaram que durante a realização do

experimento em Ribeirão Preto-SP esta variável apresentou correlação negativa com o CH, entretanto, quando realizado em Viçosa-MG, apresentou correlação positiva. Estes autores sugeriram, portanto, a existência de uma temperatura ótima para o comportamento higiênico, provavelmente entre 18°C a 25,4°C, sendo esta variável diretamente relacionada à umidade relativa do ar. Como a maioria dos nossos dados foram coletados em dias que se encontram nessa faixa de temperatura não foi possível observar a influência de temperaturas mais baixas ou mais altas no comportamento higiênico, portanto, quanto a esta variável sugerimos que mais testes sejam realizados na tentativa de esclarecer como o comportamento higiênico é afetado pela variável temperatura.

Conclusões

6. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos através da realização deste trabalho nos permitem fazer as seguintes conclusões e considerações:

- ❖ Semelhante ao observado em colméias *single cohort*, as colônias constituídas somente por abelhas forrageiras apresentam a capacidade de remanejar as atividades executadas, evidenciando que as operárias buscam a reorganização de tarefas acarretada pelo déficit de operárias de outras idades na colméia;
- ❖ Abelhas forrageiras podem, se necessário, realizar o comportamento higiênico comumente expresso por abelhas mais jovens na ausência destas;
- ❖ Colônias constituídas por abelhas jovens apresentam melhor desempenho na realização do comportamento higiênico do que colônias constituídas por abelhas de todas as idades. Atribuímos isto a maior dedicação destas abelhas a atividade de limpeza (CH), uma vez que a coleta de recursos está extremamente reduzida devido à ausência de forrageiras e as abelhas mais jovens não despendem tempo em tarefas como recepção e armazenamento de néctar, empacotamento de pólen e alimentação de abelhas forrageiras via trofaláxis;
- ❖ Os testes de CH realizados das 12h às 22h (6 horas durante o dia e 4 horas durante a noite) e das 24h às 10h (6 horas durante a noite e 4 horas durante o dia) apresentaram diferença estatística, sendo o CH mais eficiente quando os quadros-testes permaneceram a maior parte do tempo (6 horas) no período noturno;

- ❖ Os testes de CH realizados das 6h às 16h (10 horas durante o dia) e das 18h às 4h (10 horas durante a noite) embora não tenham apresentado diferença estatística apontam uma tendência do CH ser mais eficiente durante a noite;
- ❖ Nenhuma forrageira foi observada realizando o CH durante a noite, período no qual praticamente todas estas abelhas estão no interior da colméia, entretanto, não podemos descartar a possibilidade das forrageiras auxiliarem no referido comportamento;
- ❖ Através dos testes de CH em diferentes horários, observamos que submetê-los apenas a um dos períodos do dia (diurno ou noturno) influencia o desempenho das operárias na remoção das crias mortas, sendo prejudicado pela redução na permanência do teste na colméia. Assim, para que seja avaliada a capacidade de limpeza de uma colônia confirmamos que o período de 24 horas é o ideal;
- ❖ O comportamento higiênico foi estatisticamente mais eficiente em dias chuvosos do que em dias anteriores e posteriores a chuva durante a primavera e o verão;
- ❖ O comportamento higiênico não apresentou diferença estatística entre os testes realizados antes, durante e depois da chuva quando realizados no outono e no inverno;
- ❖ O índice pluviométrico apresentou correlação positiva com o CH durante a primavera e o verão, estações nas quais as chuvas foram mais intensas;

- ❖ O índice pluviométrico apresentou correlação negativa com o CH durante o outono e o inverno, estações caracterizadas pela baixa pluviometria;
- ❖ A umidade relativa comportou-se como um fator inversamente proporcional em relação ao CH em todas as estações, ou seja, enquanto uma variável tende a aumentar a outra tende a diminuir;
- ❖ A temperatura não apresentou diferença estatisticamente significativa em nenhum dos tratamentos. No entanto, como no presente trabalho não foram registradas temperaturas extremas, sugere-se mais pesquisas para se verificar o efeito dessa variável climática no comportamento higiênico das abelhas africanizadas.

Bibliografia

7. BIBLIOGRAFIA

- Almeida, G.F. 2008. Fatores que interferem no comportamento enxameatório de abelhas africanizadas. Tese apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, 120 p.
- Almeida, G.F., Grassi, M.L., Gramacho, K.P. & Gonçalves, L.S. 2006. Indução a enxameação por temperatura em abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.) com auxílio de registradores automáticos (apidômetros) de atividade de vôo. Anais do VII Encontro sobre Abelhas, Ribeirão Preto – SP, 526-532 p.
- Al-Tikrity, W. S., Benton, A. W., Hiliman, R. C. & Clarke W. W. 1972. The relationship between the amount of unsealed brood in honey bee colonies and their pollen collection. *Journal of Apicultural Research* 11: 9-12.
- Anderson, C. & Ratnieks, F.L.W. 1999. Task partitioning in foraging: general principles, efficiency and information reliability of queueing delays. *Information Processing in Social Insects*. Birkhäuser Verlag, Berlin, 31-50 p.
- Arathi, H. S., Burns, I. & Spivak, M. 2000. Ethology of hygienic behaviour in the honey bee *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae): Behavioural repertoire of hygienic bees. *Ethology* 106: 365-379.
- Arathi, H.S. & Spivak, M. 2001. Influence of colony genotypic composition on the performance of hygienic behaviour in the honeybee, *Apis mellifera* L. *Animal Behaviour* 62: 57-66.
- Beshers, S.N. & Fewell, J.H. 2001. Models of division of labor in social insects. *Annual Review of Entomology* 46: 413-440.

- Bloch, G. & Robinson, G.E. 2001. Reversal of honeybee behavioural rhythms. *Nature* 26: 1048.
- Boyle-Makonski, R.M.D. 1987. The importance of native pollinators in cultivated orchards: Their abundance and activities in relation to weather conditions. *Proceedings of the Entomological Society of Ontario* 118: 125-141.
- Brillet, C., Robinson, G.E., Bues, R. & Le Conte, Y. 2002. Racial differences in division of labor in colonies of the honey bee (*Apis mellifera*). *Ethology* 108 : 115-126.
- Bugalho, V.A., Grassi, M.L., Morais, M.M. & Gonçalves, L.S. 2008. Influência dos períodos chuvosos no comportamento higiênico realizado pelas abelhas africanizadas *Apis mellifera* L. Anais do XVII Congresso Brasileiro de Apicultura e III de Meliponicultura, Belo Horizonte –MG.
- Buriolla, A.H. & Gonçalves, L.S. 1989. Use of the eletronic register – Apidometer to determine the foraging activity of honeybees in different climatic conditions. Anais do XXXII Congresso Internacional de Apicultura – Apimondia, Rio de Janeiro - RJ, 47-48 p.
- Calderone, N. W. 1998. Proximate mechanisms of age polyethism in the honey bee, *Apis mellifera* L. *Apidologie* 29: 127-158.
- Calderone, N.W. & Johnson, B.R. 2002. The within-nest behaviour of honeybee pollen foragers in colonies with a high or low need for pollen. *Animal Behaviour* 63: 749-758.
- Camargo, J.M.F. & Mazucato, M. 1987. Inventário da apifauna e flora apícola de Ribeirão Preto – SP – Brasil. *Dusenía* 14: 55-87.

- De Jong, D. 1998. Resistência das abelhas africanizadas contra doenças e parasitas. *Anais do III Encontro sobre Abelhas, Ribeirão Preto - SP*, 46-52 p.
- De Jong, D. & Gonçalves, L.S. 1981. The varroa problem in Brazil. *American Bee Journal* 121: 186-189.
- Dreller, C. & Tarpy, D. R. 2000. Perception of the pollen need by foragers in a honeybee colony. *Animal Behavior* 59: 91-96.
- Eckert, C. D., Winston, M. L. & Ydenberg, R. C. 1994. The relationship between population size, amount of brood, and individual foraging behaviour in the honey bee, *Apis mellifera* L. *Oecologia* 97: 248-255.
- Elekonich, M. M. & Roberts, S. P. 2005. Honey bees as a model for understanding mechanisms of life history transitions. *Comparative Biochemistry and Physiology* 141: 362-371.
- Fewell, J.H. & Winston, M.L. 1992. Colony state and regulation of pollen foraging in the honey bee, *Apis mellifera* L. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 30: 387-393.
- Francoy, T.M. 2007. Variabilidade genético-morfológica em populações Neotropicais de *Apis mellifera*. Tese apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, 163p.
- Free, J.B & Simpson, J. 1963. The respiratory metabolism of honeybee colonies at low temperatures. *Entomologica Experimentalis et Applicata* 6: 234-238.

- Fries, I. & Raina, S. 2003. American Foulbrood and African Honey Bees (Hymenoptera, Apidae). *Journal of Economic Entomology* 96: 1641-1646.
- Frisch, B. & Koeniger, N. 1994. Social synchronization of the activity rhythms of honeybees within a colony. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 35: 91-98.
- Gilliam, M., Taber, S. I. & Richardson, G. V. 1983. Hygienic behaviour of honey bees in relation to chalkbrood disease. *Apidologie* 14: 29-39.
- Giray, T. & Robinson, G.E. 1994. Effects of intracolony variability in behavioral development on plasticity of division of labor in honey bee colonies. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 35: 13-20.
- Gonçalves, L.S. 1974. The introduction of the African Bees (*Apis mellifera adansonii*) into Brazil and some comments on their spread in South America. *American Bee Journal* 114: 414-419.
- Gonçalves, N.M. 1978. Estudo de materiais superficiais da região de Ribeirão Preto -SP, e suas relações com elementos morfológicos da paisagem. Dissertação apresentada ao Instituto de Geociências da Universidade de São Paulo, 177 p.
- Gonçalves, L.S. 1994. A influência do comportamento das abelhas africanizadas na população, capacidade de defesa e resistência a doenças. Anais do I Encontro sobre abelhas, Ribeirão Preto - SP, 69-79 p.
- Gonçalves, L.S. 2007. Impressões sobre o Congresso Internacional da Apimondia 2007 em Melbourne-Australia. *Mensagem Doce* 94: 2-6.

- Gonçalves, L.S. & Kerr, W.E. 1970. Genética, Seleção e Melhoramento. Noções sobre genética e melhoramento em abelhas. Anais do I Congresso Brasileiro de Apicultura, Florianópolis – SC, 8-36 p.
- Goode, K., Huber, Z., Mesce, K.A. & Spivak, M. 2006. Hygienic Behavior of the honey bee (*Apis mellifera*) is independent of sucrose responsiveness and foraging ontogeny. *Hormones and Behavior* 49: 391-397.
- Gramacho, K.P. 1995. Estudo do comportamento higiênico em *Apis mellifera* como subsídio a programas de seleção e melhoramento genético em abelhas. Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, 108p.
- Gramacho, K.P. 1999. Fatores que interferem no Comportamento Higiênico das abelhas *Apis mellifera*. Tese apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, 225p.
- Gramacho, K. P. & Gonçalves, L.S. 1994. Estudo comparativo dos métodos de congelamento e perfuração de crias para a avaliação do comportamento higiênico em abelhas africanizadas. Anais do IV Congresso latinoiberoamericano de Apicultura, Argentina, 45 p.
- Gramacho, K.P. & Gonçalves, L.S. 1998. O comportamento higiênico e sua aplicação no melhoramento de abelhas *Apis mellifera* L. Anais do XII Congresso Brasileiro de Apicultura, Salvador - BA, 82-87 p.
- Gramacho, K.P. & Gonçalves, L.S. 2000. Fatores que interferem nas atividades de abelhas *Apis mellifera* relacionadas ao comportamento higiênico. Anais do IV Encontro sobre Abelhas, Ribeirão Preto – SP, 58-65 p.

- Gramacho, K.P. & Gonçalves, L.S. 2002. Fatores que interferem no comportamento higiênico de abelhas. Anais do XIV Congresso Brasileiro de Apicultura, Campo Grande – MS, 170-178 p.
- Guzmán-Novoa, E., Page, R. E. & Gary, N. E. 1994. Behavioral and Life-History Components of Division of Labor in Honey Bees (*Apis mellifera* L.). *Behavioral Ecology and Sociobiology* 34: 409-417.
- Henrich, B. 1974. Thermoregulation in endothermic insects. *Science* 185: 747-756.
- Invernizzi, C. 2001. Resistencia a la enfermedad de cria yesificada por colonias de *Apis mellifera* con eficiente comportamiento higiénico (Hymenoptera: Apidae). *Iheringia, Série Zoologia* 91: 109-114.
- Invernizzi, C. & Corbella, E. 1999. Edad de las obreras que realizan comportamiento higienico y otros comportamientos en las abejas *Apis mellifera*. *Revista de Etologia* 1: 79-87.
- Jeanne, R.L. 1986. The evolution of the organization of work in social insects. *Italian Journal of Zoology* 20: 119-133.
- Jones, R. L. & Rothenbuhler, W.C. 1964. Behaviour genetics of nest cleaning in honeybees. II. Responses of two inbred lines to various amounts of cyanide-Killed brood. *Animal Behaviour* 12: 584-588.
- Josephson, R.K. 1981. Temperature and the mechanical performance of insect muscle. Insect Thermoregulation. B. Heinrich, ed. Wiley, New York. 20-44 p.

- Kefuss, J. & Taber, S. 1996. A practical method to test for disease resistance in honey bee. *American Bee Journal* 136: 31-32.
- Kerr, W.E. 1957. Introdução de abelhas africanas no Brasil. *Brasil Apícola* 3: 211-213.
- Kerr, W.E. 1967. The history of the introduction of africanized bees to Brazil. *South African Bee Journal* 39: 3-5.
- Kolmes, S.A. 1985. An ergonomic study of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Journal of the Kansas Entomological Society* 58: 413-421.
- Lengler, S. 1976. Comparação da abelha italiana com a abelha africanizada quanto a resistência à doenças de cria. Anais do IV Congresso Brasileiro de Apicultura, Curitiba – PR, 199-203 p.
- Lapidge, K.L., Oldroyd, B.P. & Spivak, M. 2002. Seven suggestive quantitative trait loci influence hygienic behavior of honey bees. *Naturwissenschaften* 89: 565 – 568.
- Lindauer, M. 1953. Division of labour in the honey bee colony. *Bee World* 34: 63-73.
- Lobo, J.A. & Krieger, H. 1992. Maximum-likelihood estimates of gene frequencies and racial admixture in *Apis mellifera* L. (Africanized honeybees). *Heredity* 68: 441-448.
- Marques M.D., Golombek D. & Moreno C. 1997. Adaptação temporal. In: Cronobiologia: Princípios e Aplicações. São Paulo, Edusp. 45-85 p.

Martinho, M.R. & Gonçalves, L.S. 1979. Migração de espermatozóides para a espermoteca e competição de subespécies de *Apis mellifera* L. Anais do Simpósio Internacional de Apicultura de Clima Quente. Florianópolis – SC, 139-143 p.

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

Message, D. 1979. Efeito das condições ambientais no comportamento higiênico em abelhas africanizadas *Apis mellifera*. Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, 136p.

Message, D. & Gonçalves, L.S. 1976. Estudo da Resistência Comportamental à Cria Pútrida Européia em *Apis mellifera adansonii* (africanizadas). Anais do IV Congresso Brasileiro de Apicultura. Curitiba – PR, 185-195 p.

Message, D. & Gonçalves, L.S. 1979. Efeito de diferentes condições ambientais no comportamento higiênico em abelhas *Apis mellifera* (africanizadas). Anais do Simpósio Internacional de Apicultura de Clima Quente. Florianópolis - SC, 218-229 p.

Message, D. & Gonçalves, L.S. 1984. Efeito das condições climáticas e da colônia no comportamento higiênico em abelhas *Apis mellifera* (Africanizadas). Anais do V Congresso Brasileiro de Apicultura e III Congresso Iberoamericano de Apicultura, Viçosa - MG, 140-147 p.

Michener, C.D. 1961. Social polymorphism in Hymenoptera. *Royal Entomological Society* 43-56 p.

Michener, C.D. 1974. The Social Behaviour of the Bees: a comparative study. Harvard University Press, Cambridge – MA, 404p.

Modesto-Zampieron, S.L.M, 1991. Estudo de alguns parâmetros comportamentais e morfológicos em *Apis mellifera* africanizada (Hymenoptera: Apidae) cordovão e selvagens. Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, 201p.

Momot, J.P. & Rothenbuhler, W.C. 1971. Behavior genetics of nest cleaning in honeybees. VI Interactions of age and genotype of bees, and nectar flow. *Journal of Apiculture Research* 10: 11-21.

Moore, D. 2001. Honey bee circadian clocks: behavioral control from individual workers to whole-colony rhythms. *Journal of Insect Physiology* 47: 843-857.

Moore, D., Siegfried, D., Wilson, R. & Rankin, M.A. 1989. The influence of time of day on the foraging behavior of the honeybee, *Apis mellifera*. *Journal of Biological Rhythms* 4: 305-325.

Moore, D., Angel, J.E., Cheeseman, I.M., Fahrbach, S.E. & Robinson, G.E. 1998. Timekeeping in the honey bee colony: integration of circadian rhythms and division of labor. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 43: 147-160.

Morse, A. & Gonçalves, L. S. 1979. Varroa disease, a threat to world beekeeping. *Gleanings in Bee Culture* 107:179-202.

Morais-Vátimo, M.M. 2008. Aspectos da divisão de trabalho e da captação de luz em linhagens higiênicas e não higiênicas de abelhas africanizadas *Apis*

mellifera L. Tese apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, 123p.

Morais-Vátimo, M.M., Pereira, R.A., Almeida, G.F. & Gonçalves, L.S. 2007. Effect on the induced temperature for a climatic chamber in the hygienic behaviour of Africanized honey bees. In: XL Apimondia International Apicultural Congress, Melbourne, Australia.

Moretto, G. 1993. Estudo de algumas variáveis relacionadas a um mecanismo de defesa de operárias de *Apis mellifera* à Varroatose e à taxa de reprodução do ácaro *Varroa jacobsoni*. Tese apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, 115p.

Moretto, G. 1988. Efeito de diferentes regiões climáticas brasileiras e de tipos raciais de abelhas *Apis mellifera* na dinâmica de populações do ácaro *Varroa jacobsoni*. Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto –USP, 105p.

Moretto, G., Strappazon, R. & Bittencourt, D. 2007. Substituição artificial de rainhas pelo método de divisão vertical de colônias de abelhas (*Apis mellifera*). Mensagem Doce 93: 3-6.

Moritz, R.F.A. 1988. A reevaluation of the two-locus model for hygienic behavior in honeybees (*Apis mellifera* L.) *Journal of Heredity* 79: 257-262.

Nelson, E.V. & Jay, S.C. 1967. Flight activity of honeybee in a flight and rearing room. I- The influence of flight intensity. *Journal Apiculture Research* 6: 179-183.

- Newton D.C. & Ostasiewski N.J. 1986. A simplified bioassay for behavioral resistance to American Foulbrood in honey bees (*Apis mellifera* L.) *American Bee Journal* 126: 278-281.
- Nogueira-Neto, P. 1972. Notas sobre a história da apicultura brasileira. *Manual de Apicultura: Agronômica Ceres*, 17-32 p.
- Nowogrodzki, R. 1984. Division of labour in the honeybee colony. *Bee World* 65: 109-116.
- Nunes-Silva, P., Gonçalves, L.S., Franco, T.M. & De Jong, D. 2006. Rate of growth and development time of Africanized Honey bee (*Apis mellifera*) queens and workers during ontogenetic development. *Brazilian Journal Morphological Science* 23: 325-332.
- Page, R.E. 1986. Sperm utilization in social insects. *Annual Review of Entomology* 31: 117-171.
- Page, R.E. & Erber, J. 2002. Levels of behavioral organization and evolution of division of labor. *Naturwissenschaften* 89: 91-106.
- Palácio, M.A., Figini, E., Ruffinengo, S.R., Rodriguez, E.M., Del Hoyo, M.L. & Bedascarrasbure, E. 2000. Changes in a population of *Apis mellifera* L. selected for hygienic behaviour and its relation to brood disease tolerance. *Apidologie* 31: 471-478.
- Palácio, M.A., Flores, J.M., Figini, E., Ruffinengo, S.R., Escande, A., Bedascarrasbure, E., Rodriguez, E. & Gonçalves, L.S. 2005. Evaluation of the time of uncapping and removing dead brood from cells by hygienic and non-hygienic honey bees. *Genetics and Molecular Research* 4: 105-114.

- Pankiw, T; Page, R. E. & Fondrk, M. K. 1998. Brood pheromone stimulates pollen foraging in honey bees (*Apis mellifera*). *Behavioral Ecology and Sociobiology* 44: 193-198.
- Peng, Y.S., Fang, Y., Xu, S., Ge, L. & Nasr, M. E. 1987. The resistance mechanism of the Asian honey bee, *Apis cerana* Fabr., to an ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* Oudemans. *Journal of Invertebrate Pathology* 49: 54-60.
- Pereira, R.A. 2008. Monitoramento das atividades individuais de abelhas africanizadas relacionadas ao comportamento higiênico. Tese apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, 121p.
- Ratnieks, F.L.W. & Anderson, C. 1999. Task partitioning in insect societies. *Insectes Sociaux* 46: 95-108.
- Robinson, G.E. 1992. Regulation of division of labor in insect colonies. *Annual Review of Entomology* 37: 637-665.
- Robinson, G. E. & Page Jr., R. E. 1989. Genetic basis for division of labor in an insect society. *The Genetics of Social Evolution*. Westview Press, Boulder, 61-80 p.
- Rothenbuhler, W. C. 1964 a. Behaviour genetics of nest cleaning in honey bees. I. Responses of four inbred lines to disease-killed brood. *Animal Behaviour* 12: 578-584.
- Rothenbuhler, W. C. 1964 b. Behaviour genetics of nest cleaning in honey bees. IV. Responses of F₁ and backcross generations to disease-killed brood. *American Zoologist* 4:111-123.

- Rothenbuhler, W. C. & Thompson, V. C. 1956. Resistance to American Foulbrood in Honey Bees. I. Differential Survival of Larvae of Different Genetic Lines. *Journal of Economic Entomology* 49: 470-475.
- Roubik, S.W. 1989. Ecology and natural history of tropical bees. Cambridge University Press, NY, 514 p.
- Seeley, T.E. 1982. Adaptive significance of the age polyethism schedule in honey bee colonies. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 11: 287-293.
- Seeley, T.E. 2006. Ecologia da Abelha. Paixão Editores Ltda. Porto Alegre – RS, Brasil, 256p.
- Silva, M.L.B. 1994. Estudo de fatores genéticos e ambientais na resistência ao ácaro ectoparasita *Varroa jacobsoni* pelas abelhas (*Apis mellifera*) africanizadas. Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista – Jaboticabal, 89p.
- Souza, J.L.F. de, 1993. Influência do aumento da temperatura e da luminosidade interna nas atividades de vôo de abelhas *Apis mellifera scutellata* (africanizadas) e sua relação com o comportamento enxameatório através do uso do registrador automático de atividade de vôo das abelhas: Apidômetro. Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, 201p.
- Souza, J.L.F.de & Gonçalves, L.S. 1994. Influência de aumento da temperatura à colméia sobre as atividades de saída de operárias de abelhas africanizadas *Apis mellifera scutellata*. Anais do IV Congresso Ibero-latinoamericano de Apicultura e I Forum Expo-Comercial Internacional de Apicultura. Córdoba, Argentina, 11-14 p.

- Spivak, M. 1996. Honey bee hygienic behaviour and defense against *Varroa jacobsoni*, *Apidologie* 27: 245-260.
- Spivak, M. & Gilliam, M. 1993. Facultative expression of hygienic behaviour of honey bees in relation to disease resistance. *Journal Apiculture Research* 32: 147-157.
- Spivak, M. & Reuter, G. S. 2001. Resistance to American foulbrood disease by honey bee colonies *Apis mellifera* bred for hygienic behavior. *Apidologie* 32: 555-565.
- Southwick, E.E. 1988. Bee research digest genetics and age polyethism in honeybees. *American Bee Journal* 128: 750-752.
- Southwick, E.E. & Moritz, R.F.A. 1987. Social synchronization of circadian rhythms of metabolism in honeybees *Apis mellifera*. *Physiological Entomology* 12: 209-212.
- Stort, 1979. Estudo genético de caracteres morfológicos e suas relações com o comportamento de defesa de abelhas do gênero *Apis*. Tese de livre docência apresentada ao Instituto de Biociências de Rio Claro da Universidade Estadual Paulista, 179 p.
- Stort, A.C. & Gonçalves, L.S. 1994. A africanização das abelhas *Apis mellifera* nas Américas – I. Venenos Animais: Uma visão integrada, Rio de Janeiro, Publicações Científicas, Cap. 3, 33-47 p.
- Thakur, R.K., Bienefeld, K. & Keller, R. 1997. Varroa defense behavior in *A. mellifera carnica*. *American Bee Journal* 137: 143-148.

- Thom, C., Seeley, T.D. & Tautz, J. 2000. A scientific note on the dynamics of labor devoted to nectar foraging in a honey bee colony: number of foragers versus individual foraging activity. *Apidologie* 31: 737-738.
- Thompson, V.C. 1964. Behaviour genetics of nest cleaning in honey bees. III. Effect of age of bees of a resistant line on their response to disease-killed brood. *Journal Apiculture Research* 3: 25-30.
- Trump, R. F., Thompson, V.C. & Rothenbuhler, W.C. 1967. Behaviour genetics of nest cleaning in honey bees. V. Effect of previous experience and composition of mixed colonies on response to disease-Killed brood. *Journal Apiculture Research* 6: 127-131.
- Visscher, P. K. & Seeley, T. D. 1982. Foraging strategy of honeybee colonies in a temperate deciduous forest. *Ecology* 63:1790-1801.
- Warnke, U. 1976. Effects of electric changes on honeybees. *Bee World* 57: 50-56.
- Wilson, E.O. 1971. The insect societies. Harvard University Press, Cambridge, MA, 548 p.
- Winston, M.L. 2003. A biologia da abelha. Livraria e Editora Magister. Porto Alegre - RS, 276p.
- Winston, M. & Punnett, E.N. 1982. Factors determining temporal division of labor in bees. *Canadian Journal of Zoology* 60: 2947-2952.