UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FFCLRP - DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENTOMOLOGIA

“Interferência do clima e efeito do estado nutricional de colmeias de abelhas *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) sobre a infestação e a reprodução do ácaro parasita *Varroa destructor*”

Elisa Cimitan Mendes

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

RIBEIRÃO PRETO -SP

2017

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FFCLRP - DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENTOMOLOGIA

“Interferência do clima e efeito do estado nutricional de colmeias de abelhas *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) sobre a infestação e a reprodução do ácaro parasita *Varroa destructor*”

Elisa Cimitan Mendes

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

Orientador: Prof. Dr. David De Jong

Versão corrigida

RIBEIRÃO PRETO -SP

2017

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Mendes, Elisa Cimitan

Interferência do clima e efeito do estado nutricional de colmeias de abelhas *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) sobre a infestação e a reprodução do ácaro parasita *Varroa destructor*.

Influence of climate and nutritional state of honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies (Hymenoptera: Apidae) on infestation and reproduction of the mite parasite *Varroa destructor*.

Ribeirão Preto, 2017.
84 p. : 18 il. 30 cm

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

Orientador: De Jong, David.

1. *Varroa destructor*. 2. Abelhas Africanizadas. 3. Dieta proteica. 4. Variáveis climáticas. 5. Ausência de rainha.

MENDES, E. C. **Interferência do clima e efeito do estado nutricional de colmeias de abelhas *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) sobre a infestação e a reprodução do ácaro parasita *Varroa destructor*.** 2017. Tese (Doutorado) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto – SP.

Aprovado em:___/___/_____

Comissão Julgadora:

Prof(a). Dr(a).:_____

Instituição: _____Assinatura:_____

Prof(a). Dr(a).:_____

Instituição: _____Assinatura:_____

Prof(a). Dr(a).:_____

Instituição: _____Assinatura:_____

Prof(a). Dr(a).:_____

Instituição: _____Assinatura:_____

Prof(a). Dr(a).:_____

Instituição: _____Assinatura:_____

Aos meus pais queridos,
Jurandir Martins Mendes (*in memoriam*) e Leonice Cimitan Mendes
Dedico

Agradecimentos

Ao Coordenador do Curso de Pós-Graduação em Entomologia da FFCLRP Rodrigo Augusto Santinelo Pereira e às secretárias Renata Andrade Cavallari e Vera de Lucca, pelos auxílios prestados em tudo o que precisei;

A todos os professores do Departamento, especialmente os que tive oportunidade de cursar disciplinas e realizar o estágio PAE;

Aos avaliadores anônimos dos relatórios ao longo do doutorado, aos colegas que me ajudaram na correção do texto da tese, à banca examinadora deste trabalho, muito obrigada pelas dicas e colaborações;

A todos os meus familiares, por todo o apoio: especialmente meu paizinho querido Jurandir, agora no Céu, minha mãe Leonice, minhas irmãs Flávia e Juliana, meu cunhado Vanderlei, meus sobrinhos João Victor e Juvander, minha avó Amábile;

Aos amigos do APILAB e da USP, muito obrigada por tudo e por todas as ajudas e convivências! Aline Patrícia Turcatto, Amanda Lopes, Caroline Moretti, Claudinéia Pereira Costa, Clycie Machado, Daiane Souza, Francisco Gutiérrez Hernández, Jaqueline Reginato Koser, Joyce Mayra Volpini de Almeida, Juliana Galaschi Teixeira, Luíza Mendonça, Márcia Issa, Marina, Patrícia Gomes Pinhal, Priscila Cardoso, Ramón Santana, Vanessa Bonatti, Reinanda Lima, Maria Luzia Aguilar, Sandra Viviana, Samara, Natália, Dagmara, Ulysses, Daiane, Niele e muitos outros;

Às amigas do Centro Cultural Paineiras, por todo o apoio: Bia Willemsens, Renata S., Lara Moraes, Maria Inês, Regina Gatto, Karina Carmona, Denise Campos, Karen Myiamura, Patrícia Furlan, Jaqueline Faustino e Márcia C. Mendes;

À pesquisadora Dra. Ângela Santos, que me chamou a fazer parte de seu artigo, importante para a etapa da minha qualificação do doutorado;

Aos técnicos Rogério A. Pereira (meus braços do apiário!), Luiz Roberto Aguiar e a todos do Bloco A, Vera Lucia Castelo Figueiredo, Pedro Roberto Prado, Roberto Mazzuco, obrigada pelas colaborações;

Aos Professores Tiago Francoy e Fábio do Nascimento e a Mayara Piani, pelos auxílios na parte estatística;

Às pessoas da limpeza, dona Cleusa, dona Maria... muito obrigada pelo trabalho imprescindível e tão importante, por ser de base e permitir que todos os outros trabalhos se realizem;

Ao orientador Prof. David De Jong, pelo apoio e oportunidade;

Às financiadoras CAPES e FUNPEC-RP; à Universidade de São Paulo;

A todos os que possibilitaram direta ou indiretamente para que este trabalho fosse realizado. Perdoem-me se esqueci o nome de alguém, mas muito obrigada!

As Abelhas

Composição: Vinícius de Moraes / Bacalov

A abelha-mestra
E as abelhinhas
Estão todas prontinhas
Para ir para a festa
Num zune-que-zune
Lá vão pro jardim
Brincar com a cravina
Valsar com o jasmim
Da rosa pro cravo
Do cravo pra rosa
Da rosa pro favo
E de volta pra rosa
Venham ver como dão mel
As abelhas do céu
Venham ver como dão mel
As abelhas do céu
A abelha-rainha
Está sempre cansada
Engorda a pancinha
E não faz mais nada
Num zune-que-zune
Lá vão pro jardim
Brincar com a cravina
Valsar com o jasmin
Da rosa pro cravo
Do cravo pra rosa
Da rosa pro favo
E de volta pra rosa
Venham ver como dão mel
As abelhas do céu
Venham ver como dão mel
As abelhas do céu

RESUMO

MENDES, E. C. **Interferência do clima e efeito do estado nutricional de colmeias de abelhas *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) sobre a infestação e a reprodução do ácaro parasita *Varroa destructor***. 2017. Tese (Doutorado) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto – SP.

A apicultura brasileira melhorou muito após a introdução da abelha africana em 1956 pelo geneticista Warwick Kerr e a ocorrência da sua hibridização com as abelhas europeias já presentes no país. Entre outras vantagens, esta abelha híbrida ou Africanizada é relativamente resistente às doenças e parasitas que normalmente afligem as abelhas. A apicultura depende de recursos naturais e apresenta oscilações de produção de acordo com as condições do clima e ambiente regionais. Em épocas de ausência de floradas, a reserva de alimento na colônia é insuficiente e o fornecimento de alimentação artificial às abelhas torna-se aconselhável. Vários estudos com suplementações proteicas para abelhas têm sido realizados com a finalidade de proporcionar melhor nutrição nos períodos de escassez de alimento no campo. Entretanto, há de se avaliar também os efeitos destes suplementos nas populações parasitárias das abelhas, como a do ácaro *Varroa destructor*. Este ácaro constitui uma importante praga e está presente praticamente no mundo todo. Os objetivos principais deste estudo consistiram em avaliar a dinâmica da população de *V. destructor* quanto aos graus de infestação e reprodução em colônias de abelhas Africanizadas localizadas em um apiário de Ribeirão Preto-SP, relacionando com as principais variáveis climáticas (primeira etapa) e com o fornecimento de dieta proteica complementar (segunda etapa). De agosto de 2013 a outubro de 2016, foram realizados experimentos com abelhas operárias, tanto em adultas (1ª etapa) como em crias (1ª e 2ª etapas). Para a segunda etapa, considerou-se também as variáveis de mapeamento das colônias, como as quantidades de pólen, néctar, cria aberta e cria operculada e as variáveis de sazonalidade, levando-se em conta as quatro estações do ano. Para ambas as etapas observou-se a presença ou ausência natural de rainha nas colônias e sua influência sobre a infestação e reprodução de varroas. Os resultados mostraram, quanto às variáveis climáticas, relação significativa e negativa da temperatura do ar com a infestação de varroas nas abelhas adultas. A umidade relativa do ar apresentou relação significativa e positiva com a infestação do ácaro, tanto em adultas como nas crias. Nenhuma variável climática considerada neste estudo (temperatura, umidade ou precipitação), mostrou evidência de influência sobre a reprodução dos ácaros. Houve um aumento de mais de 3% no grau de infestação de varroas nas crias de abelhas em colônias que receberam a dieta proteica adicional em comparação às colônias controle, de 7,83(±7,35)% para 10,97(±9,74)%. Entretanto, este aumento não foi significativo. Quanto à reprodução de varroas, o fornecimento da dieta proteica apresentou influência significativa sobre o aumento do número de ácaros encontrados por célula infestada, somente nos meses de setembro de 2015 e fevereiro de 2016. As variáveis de mapeamento apresentaram relação significativa com a infestação de varroas, sendo negativa quanto ao pólen ou crias abertas e positiva quanto ao néctar ou crias operculadas. Nenhuma dessas variáveis apresentaram efeitos significativos sobre a reprodução de varroas. As infestações de varroas foram maiores no outono, em seguida o verão, o inverno e a primavera. Houve diferença significativa entre os valores de infestação entre as estações, exceto entre verão e outono e entre inverno e primavera. A reprodução do ácaro foi maior no outono e em seguida o inverno, o verão e a primavera. Não houve diferença significativa na reprodução do ácaro somente entre as estações verão e primavera. A ausência de rainha influenciou significativamente no aumento da infestação de ácaros na segunda etapa dos experimentos.

Palavras-chave: 1. *Varroa destructor*. 2. Abelhas Africanizadas. 3. Dieta proteica. 4. Variáveis climáticas. 5. Ausência de rainha.

ABSTRACT

MENDES, E. C. **Influence of climate and nutritional state of honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies (Hymenoptera: Apidae) on infestation and reproduction of the mite parasite *Varroa destructor***. 2017. Tese (Doutorado) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto – SP.

Brazilian beekeeping improved considerably after the introduction of the African bee in 1956 by the geneticist Warwick Kerr and its hybridization with the European honey bees that had been introduced in the 1800s. Among other advantages, this hybrid or Africanized bee is relatively resistant to the diseases and parasites that normally affect bees. Apiculture depends on natural resources, which vary with climate and regional environment. When there is a lack of flowers in the field, food reserves in the colony can soon become insufficient. Under such conditions, it is advisable to offer artificial feed to the bees. Various studies with protein supplements have been conducted to provide improved nutrition, especially during dearth periods. However, it is important to determine how such supplements may affect bee health, including infestation with bee parasites, such as the mite *Varroa destructor*. This mite is an important pest worldwide. Our objectives were to examine the population dynamics of *V. destructor* in Africanized honey bee colonies in Brazil, as a function of climate and colony factors and of feeding with protein diets. From August 2013 to October 2016, infestations were investigated in adult bees and in honey bee brood. Maps were made of the allocations of pollen, nectar, open and sealed brood in the combs. Data was also taken concerning climate variables during the four seasons. The effect of the presence versus absence of the queen was also investigated through hive manipulations. There was a significant negative correlation of infestation on adult bees with air temperature. Relative humidity was significantly correlated with infestations of the mite on adult bees and in the brood. None of the three climate variables measured (temperature, humidity and rainfall) significantly affected mite reproduction. Brood infestation rates were increased in colonies that were fed a protein diet (10.9 versus 7.83%); however, this difference was not significant. The mean number of mites per bee brood cell was significantly greater in colonies fed a protein diet during only two months of the study, these being September 2015 and February 2016. Some of the mapping variables were significantly correlated with mite infestation. There was a negative correlation of pollen and unsealed brood area with infestation rate, while mite infestation rate was positively correlated with nectar and sealed brood areas. None of the mapping variables was significantly correlated with mite reproduction. Infestation rates were highest in autumn, followed by summer, winter and spring. Mite reproduction was highest in autumn, followed by winter, summer and spring. Mite reproduction did not differ significantly between spring and summer. Loss of the queen significantly increased infestation in the bee brood.

Key words: 1. *Varroa destructor*. 2. Africanized bees. 3. Protein diet. 4. Climate variables. 5. Queenlessness.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Propagação da abelha Africanizada *Apis mellifera* a partir de 1957 (Rio Claro-SP) até 1971 na América do Sul. Cidades à direita do mapa: localizadas em latitudes equivalentes ao Norte. 17

Figura 2: Dispersão da abelha Africanizada pelo Sul dos Estados Unidos e os respectivos anos de ocorrência.. 18

Figura 3: Esquema das relações entre nutrição, imunidade, níveis virais e os efeitos para o crescimento da colônia (a) e as mudanças nessas relações quando as abelhas estão parasitadas por ácaros Varroa (b) 22

Figura 4: Aspecto das superfícies dorsais e ventrais de fêmeas adultas de *Varroa jacobsoni* (haplótipo Java) (a e b) e *Varroa destructor* (haplótipo Coreano) (c e d). Superfícies dorsais de *V. rindere*ri (e) e *Varroa underwoodi* (f) 25

Figura 5: Ciclo de vida do ácaro *Varroa destructor* em crias de operárias de abelhas Africanizadas *Apis mellifera* 27

Figura 6: Apiário Experimental do Departamento de Genética da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP) da Universidade de São Paulo 32

Figura 7: Esquema geral das avaliações da infestação e da reprodução de ácaros *Varroa destructor* em colônias de abelhas *Apis mellifera* e as suas relações com as variáveis propostas. 34

Figura 8: Estação Climática localizada no Centro de Cana (a); mapa ilustrando as localizações da Estação Climática e do Apiário Experimental no campus da Universidade de São Paulo (USP), na cidade de Ribeirão Preto (b). 35

Figura 9: Avaliação de ácaros em abelhas adultas. Funil construído com garrafa plástica e malha metálica em seu interior para separar as abelhas operárias adultas do líquido contendo ácaros *Varroa destructor* (a); vista lateral do funil plástico e a tampa (b); todos os materiais usados para avaliar a infestação de ácaros nas abelhas adultas (becker plástico, bacia plástica, funil com abelhas na parte superior à malha metálica e água com ácaros na parte inferior, pincel e tubo de microcentrífuga para capturar e conservar as varroas) (c); detalhe da bacia com a água e detergente e os ácaros (pontos pretos) (d). 37

Figura 10: Etapas da avaliação de infestação e reprodução de *Varroa destructor* em crias de abelhas operárias *Apis mellifera*. 39

Figura 11: Pupa de abelha operária infestada com ácaros *Varroa destructor* (fêmea adulta original e alguns indivíduos da prole descendente) vistos ao microscópio estereoscópico. 40

Figura 12: Dieta proteica complementar oferecida às colônias: após ser achatada com rolo de madeira (a); armazenada no interior de uma folha de papel manteiga (b); dieta colocada em uma das colônias (c); detalhe mostrando o local em que a dieta foi posicionada, sobre os quadros (d); abelhas alimentando-se da dieta (e). 41

Figura 13: Mapeamento dos quadros das colônias para verificação das quantidades (%) de pólen, néctar, cria aberta, cria operculada e favo (células vazias): suporte de madeira com arame formando quadrantes (a); suporte com quadro e realce em um dos quadrantes (b); detalhe de um quadrante avaliado com áreas de cria operculada e de favo (células vazias) (c). 42

Figura 14: Esquema representativo de uma unidade experimental (uma colônia que recebeu dieta e uma colônia controle) referente à segunda etapa dos experimentos, com testes com introdução de dieta, em um dos quatro períodos em que foram realizados.....44

Figura 15: Infestação média (%) de *Varroa destructor* em abelhas operárias adultas de 6 colônias de *Apis mellifera* em 13 meses (médias mensais obtidas de 2 a 6 colônias) e médias mensais das variáveis climáticas Temperatura do ar (oC) e Umidade Relativa do ar (%).....47

Figura 16: Infestação mensal média (%) de *Varroa destructor* em crias de abelhas operárias de 6 colônias *Apis mellifera* em 19 meses (médias mensais obtidas de 2 a 6 colônias) e médias mensais das variáveis climáticas Temperatura (oC) e Umidade Relativa do ar (%).....48

Figura 17: Grau médio de Infestação (%) de *Varroa destructor* em crias de operárias *Apis mellifera* em diferentes sazonalidades em quatro colônias do Apiário Experimental da USP-Ribeirão Preto no período de setembro de 2015 a outubro de 2016.....57

Figura 18: Reprodução média de *Varroa destructor* em crias de operárias *Apis mellifera* em diferentes sazonalidades em quatro colônias do Apiário Experimental da USP-Ribeirão Preto no período de setembro de 2015 a outubro de 2016.....61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Médias mensais e desvios-padrão (D.P.) das variáveis climáticas Precipitação (mm), Temperatura do ar (ºC) e Umidade Relativa do ar (%) na região de Ribeirão Preto-SP no período de agosto de 2013 a setembro de 2015 36

Tabela 2: Variáveis climáticas e média de Infestação (%) do ácaro *Varroa destructor* em abelhas operárias adultas *Apis mellifera* de seis colônias, sem ou com rainha, do Apiário Experimental da USP-Ribeirão Preto, no período de setembro de 2013 a maio de 2015 46

Tabela 3: Efeito das variáveis climáticas e da variável presença ou ausência natural de rainha de abelha sobre a Infestação (%) do ácaro *Varroa destructor* em operárias adultas *Apis mellifera* de seis colônias do Apiário Experimental da USP-Ribeirão Preto avaliada avaliadas no período de setembro de 2013 a maio de 2015 47

Tabela 4: Variáveis climáticas e média de Infestação (%) do ácaro *Varroa destructor* em crias de operárias *Apis mellifera* de seis colônias, sem ou com rainha, do Apiário Experimental da USP-Ribeirão Preto avaliadas no período de setembro de 2013 a setembro de 2015 47

Tabela 5: Efeito das variáveis climáticas e da variável presença ou ausência natural de rainha de abelha sobre a Infestação (%) do ácaro *Varroa destructor* em crias de operárias *Apis mellifera* de seis colônias do Apiário Experimental da USP-Ribeirão Preto avaliad avaliadas no período de setembro de 2013 a setembro de 2015 49

Tabela 6: Variáveis climáticas e média de Reprodução (quantidade de ácaros por célula infestada) do ácaro *Varroa destructor* em crias de operárias *Apis mellifera* em sete colônias, sem ou com rainha, do Apiário Experimental da USP-Ribeirão Preto no período de agosto de 2013 a agosto de 2015 50

Tabela 7: Médias da Reprodução (± Desvio Padrão) de *Varroa destructor* em 758 células de crias de operárias de *Apis mellifera* em sete colônias, sem ou com rainha, do Apiário experimental da Universidade de São Paulo (Ribeirão Preto), avaliadas entre agosto de 2013 e agosto de 2015, sem dieta adicional proteica. 51

Tabela 8: Efeito das variáveis climáticas e da variável presença ou ausência natural de rainha na colônia sobre a Reprodução (quantidade de ácaros por célula infestada) do ácaro *Varroa destructor* em crias de operárias *Apis mellifera* de sete colônias do Apiário Experimental da USP-Ribeirão Preto avaliadas no período de agosto de 2013 a agosto de 2015. 53

Tabela 9: Variáveis de mapeamento e média de Infestação (%) do ácaro *Varroa destructor* em crias de operárias *Apis mellifera* de quatro colônias do Apiário Experimental da USP-Ribeirão Preto avaliadas no período de setembro de 2015 a outubro de 2016 54

Tabela 10: Médias de Infestação (%) de *Varroa destructor* relacionadas às variáveis presença ou ausência de dieta, presença ou ausência de rainha e às estações do ano, em crias de abelhas operárias de quatro colônias de *Apis mellifera* do Apiário Experimental da USP-Ribeirão Preto no período de setembro de 2015 a outubro de 2016 55

Tabela 11: Efeito das variáveis de mapeamento (pólen, néctar, crias operculadas e crias abertas), presença ou ausência de dieta, presença ou ausência natural de rainha e estações do ano sobre a Infestação (%) do ácaro *Varroa destructor*, em crias de operárias *Apis mellifera* de quatro colônias do Apiário Experimental da USP-Ribeirão Preto, no período de setembro de 2015 a outubro de 2016. 55

Tabela 12: Variáveis de mapeamento (%) e média de Reprodução (quantidade de ácaros por célula infestada) de *Varroa destructor* em crias de abelhas operárias *Apis mellifera* de quatro colônias do Apiário Experimental da USP-Ribeirão Preto, avaliadas no período de setembro de 2015 a outubro de 2016 58

Tabela 13: Médias de Reprodução (quantidade de ácaros por célula infestada) de *Varroa destructor* relacionadas às variáveis presença ou ausência de dieta, presença ou ausência de rainha e às estações do ano, em crias de abelhas operárias de quatro colônias de *Apis mellifera* do Apiário Experimental da USP-Ribeirão Preto, no período de setembro de 2015 a outubro de 2016 58

Tabela 14: Efeito das variáveis de mapeamento (pólen, néctar, crias operculadas e crias abertas), presença ou ausência de dieta, presença ou ausência natural de rainha e estações do ano sobre a Reprodução (quantidade de ácaros por célula infestada) de *Varroa destructor* em crias de operárias *Apis mellifera* de quatro colônias do Apiário Experimental da USP-Ribeirão Preto, no período de setembro de 2015 a outubro de 2016. 59

SUMÁRIO

1. Introdução 15

2. Objetivos 31
2.1 Objetivo geral: 31
2.2 Objetivos específicos 31

3. Materiais e Métodos 32
3.1 Localização do Apiário Experimental e visão geral dos experimentos 32
3.2 Avaliação da infestação e reprodução do ácaro *Varroa destructor* e as variáveis climáticas 34
3.2.1 As abelhas operárias adultas e a infestação do ácaro *V. destructor* 36
3.2.2 As crias de abelhas operárias e a infestação e reprodução do ácaro *V. destructor* 37
3.3 Avaliação da infestação e reprodução do ácaro *Varroa destructor* nas crias de abelhas operárias *Apis mellifera* e a introdução de dieta proteica complementar nas colônias 40
3.3.1 Dieta proteica 40
3.3.2 Mapeamentos das colônias 42
3.4 Análises estatísticas 45

4. Resultados 46
4.1 Infestação e Reprodução do ácaro *Varroa destructor* em abelhas operárias *Apis mellifera* e as variáveis climáticas 46
4.1.1 Infestação do ácaro *Varroa destructor* nas abelhas *Apis mellifera* adultas e as variáveis climáticas 46
4.1.2 Infestação do ácaro *Varroa destructor* nas crias de abelhas operárias *Apis mellifera* e as variáveis climáticas 48
4.1.3 Reprodução do ácaro *Varroa destructor* nas crias de abelhas operárias *Apis mellifera* e as variáveis climáticas 50
4.2 Infestação e Reprodução do ácaro *Varroa destructor* nas crias de abelhas operárias *Apis mellifera* e a introdução de dieta proteica complementar nas colônias 53
4.2.1 Infestação de varroas relacionada à presença ou ausência de dieta adicional e de rainha nas colônias, aos dados de mapeamentos e às estações do ano 53
4.2.2 Reprodução de varroas relacionada à presença ou ausência de dieta adicional e de rainha nas colônias, aos dados de mapeamentos e às estações do ano 57

5. Discussão 62
5.1 Sobre a infestação de varroas em abelhas adultas e a influência das variáveis climáticas 62
5.2 Sobre a infestação e a reprodução de varroas em crias de abelhas operárias e a influência das variáveis climáticas 64
5.2.1 Sobre infestação de varroas nas crias de abelhas operárias e as variáveis climáticas 64
5.2.2 Sobre reprodução de varroas nas crias de abelhas operárias e as variáveis climáticas 66
5.3 Sobre a presença ou ausência natural de rainha nas colônias em ambas as etapas de experimento 67
5.4 Sobre a infestação e reprodução do ácaro *Varroa destructor* nas crias de abelhas operárias *Apis mellifera* relacionadas à presença ou ausência de dieta adicional na colônia, aos dados de mapeamentos e às estações do ano..... 68
5.4.1 Sobre as dietas 68
5.4.2 Sobre os dados de mapeamentos de alimentos e de crias (pólen, néctar, cria operculada e cria aberta) nas colônias 70
5.4.3 Sobre as épocas do ano 72

6. Conclusões e Considerações Finais 73

Referências 77

1. Introdução

Introdução geral sobre as abelhas

As abelhas são insetos da ordem Hymenoptera presentes no planeta há aproximadamente 125 milhões de anos. Das mais de 20.000 espécies existentes, estima-se que cerca de 2.500 estejam presentes no território brasileiro, distribuídas em cinco famílias (Andrenidae, Apidae, Colletidae, Halictidae e Megachilidae) (SILVA et al. 2014). De acordo com o Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region (Catálogo das abelhas da região Neotropical), o Brasil possui 1.678 espécies. O número destas espécies são apresentadas distribuídas da seguinte forma: Andreninae (82); Apinae (913); Colletinae (104); Halictinae (251) e Megachilinae (328) (MOURE et al. 2007).

Esses insetos estão entre os principais polinizadores da flora no mundo. Com a polinização, as abelhas garantem às plantas a formação de frutos e sementes e assim a perpetuação das espécies vegetais. Elas respondem pelo serviço ecossistêmico de polinização de mais de 50% de plantas de florestas tropicais, mais de 80% das espécies vegetais do Cerrado e de cerca de 73% das plantas cultivadas (SILVA et al. 2014).

A região Neotropical apresenta uma rica e diversa fauna de abelhas, embora ainda pouco estudada (FREITAS et al. 2009). Nessa região há registros de introdução de abelhas exóticas, como por exemplo a espécie *Bombus terrestris* no norte da Patagônia, Argentina, provavelmente vinda do Chile onde foi introduzida para fins de polinização (TORRETTA et al. 2006). Freitas et al. (2009) apontam a preocupação sobre a possível invasão dessa espécie também em outros países da América Latina, como Uruguai, Paraguai, Bolívia e sul do Brasil. Estes autores também discorrem sobre uma das mais clássicas e conhecidas introduções de espécie exótica: a da abelha *Apis mellifera* nas Américas.

As abelhas da Tribo Apini

O'Toole e Raw (1999) mencionam 7 espécies não fósseis de abelhas dentro do gênero *Apis*, o único gênero representante da Tribo Apini (Família Apidae). São elas *Apis mellifera*, *A. cerana*, *A. dorsata*, *A. laboriosa*, *A. florea*, *A. andreniformis* e *A. koschevnikovi*. Há também outras espécies dentro deste mesmo gênero, como *Apis nigrocincta*, *Apis nuluensis*, *Apis indica*, *Apis breviligula*, revisadas por Chantawannakul et al. (2016), as duas últimas mais recentemente estudadas por Lo et al. (2010).

Nas abelhas da tribo Apini, os ninhos estão expostos ou estão em cavidades como colmeias, árvores ocas e às vezes em cavidades no solo. Estes ninhos consistem principalmente em favos de células feitos de cera secretada por glândulas de cera das abelhas operárias. Os favos são verticais e são formados por duas camadas de células sub-horizontais que se abrem em direções opostas e suas bases constituem uma folha de cera vertical ao meio (MICHENER, 2007).

O alimento para as larvas é fornecido progressivamente e as células não são operculadas até ser finalizada essa alimentação. O ninho pode consistir em um único favo exposto ou em múltiplos favos geralmente em uma cavidade (dependendo da espécie). Ao contrário de outras abelhas sociais de Apidae, as células de crias de operárias e as células de armazenamento de mel ou pólen são iguais, hexagonais. As células de cria para machos são semelhantes, porém maiores. Já as células produtoras de rainhas são irregulares, não hexagonais e tendem a pender individualmente dos favos de cria de abelhas operárias (MICHENER, 2007).

A abelha *Apis mellifera* L., espécie exótica introduzida no Brasil

Apis mellifera Linnaeus (1758) encontra-se distribuída no mundo todo por intermédio da atividade humana (MICHENER, 2007). Esta abelha chegou em território brasileiro no século XIX quando colonizadores introduziram abelhas europeias no sul do País. Eram as chamadas abelhas pretas ou alemãs (subespécie *Apis mellifera mellifera*). Desde então, esta e também outras subespécies que foram sendo introduzidas, como *A. m. carnica* e *A. m. ligustica*, foram permitindo o desenvolvimento da apicultura no Brasil (FRANCOY et al. 2009; PEREIRA, 2008).

A apicultura brasileira melhorou, quanto à produção, após a introdução da abelha africana em 1956 pelo geneticista Warwick Kerr e a ocorrência da hibridização com as abelhas europeias já presentes no país. Entre outras vantagens, esta abelha híbrida apresenta relativa resistência às doenças e parasitas que normalmente afligem as abelhas europeias, que até então eram a única alternativa para os apicultores no País (DE JONG, 1996). Há duas maneiras pelas quais uma raça introduzida pode se espalhar. Uma é por agressão à raça já estabelecida ou por vantagens na competição pelos recursos ambientais como alimentos ou locais de nidificação. A outra maneira é por fluxo gênico transferido à população já estabelecida. Provavelmente ambas ocorreram no caso da africanização das raças europeias de *A. mellifera* previamente introduzidas no Brasil (MICHENER, 1975).

Estas populações polihíbridas resultantes do cruzamento entre a abelha africana *Apis mellifera scutellata* Lepeletier e as subespécies europeias passaram a ser chamadas de abelhas Africanizadas. Estas já se dispersaram por todo o País a partir da região de Rio Claro-SP e também para toda a América do Sul (exceto o Chile), a América Central e parte da América do Norte (DE JONG, 1996; MISTRO et al., 2005; MICHENER, 1975) (Figuras 1 e 2).

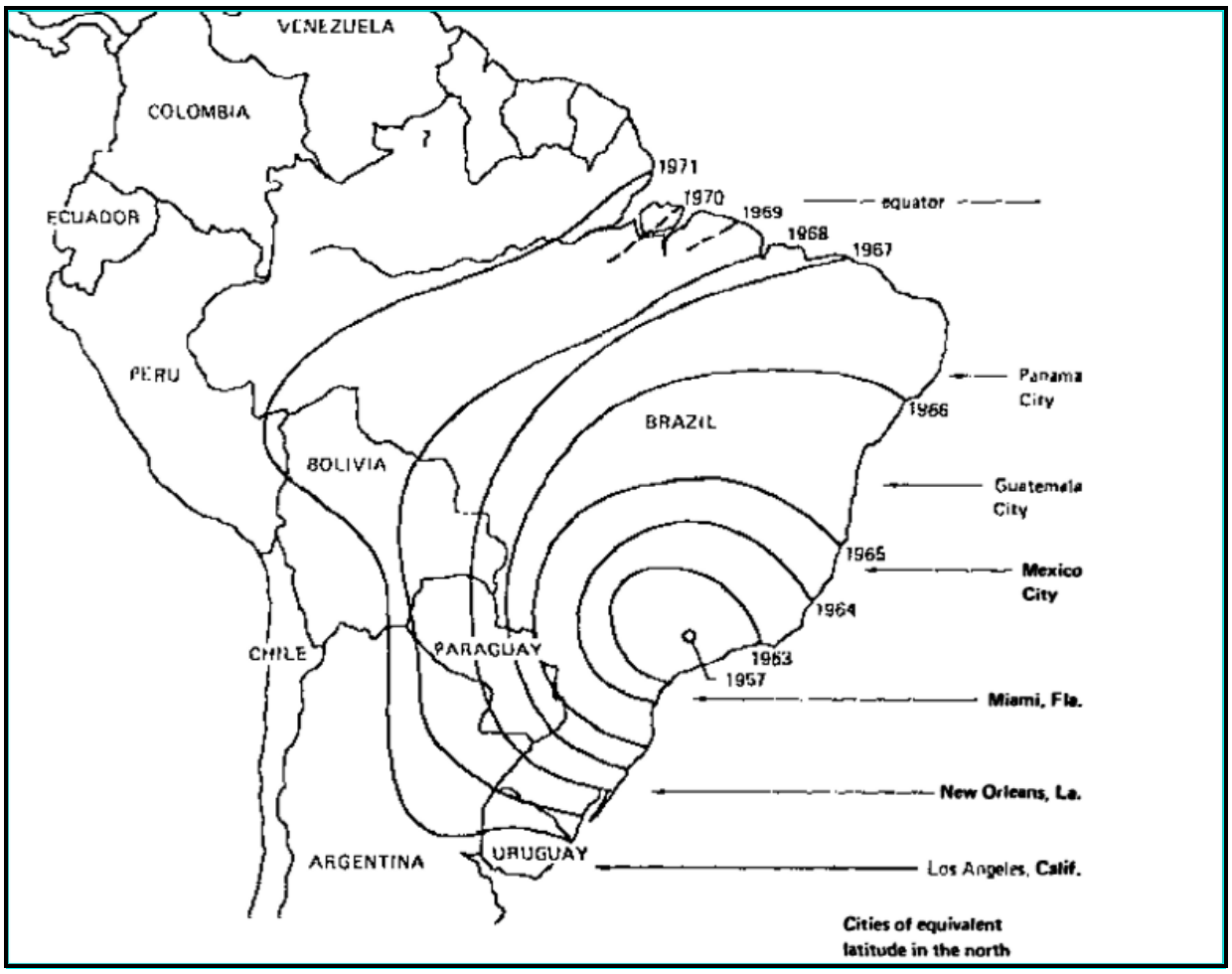


Figura 1: Propagação da abelha Africanizada *Apis mellifera* a partir de 1957 (Rio Claro-SP) até 1971 na América do Sul. Cidades à direita do mapa: localizadas em latitudes equivalentes ao Norte. Fonte: adaptação de MICHENER (1975).

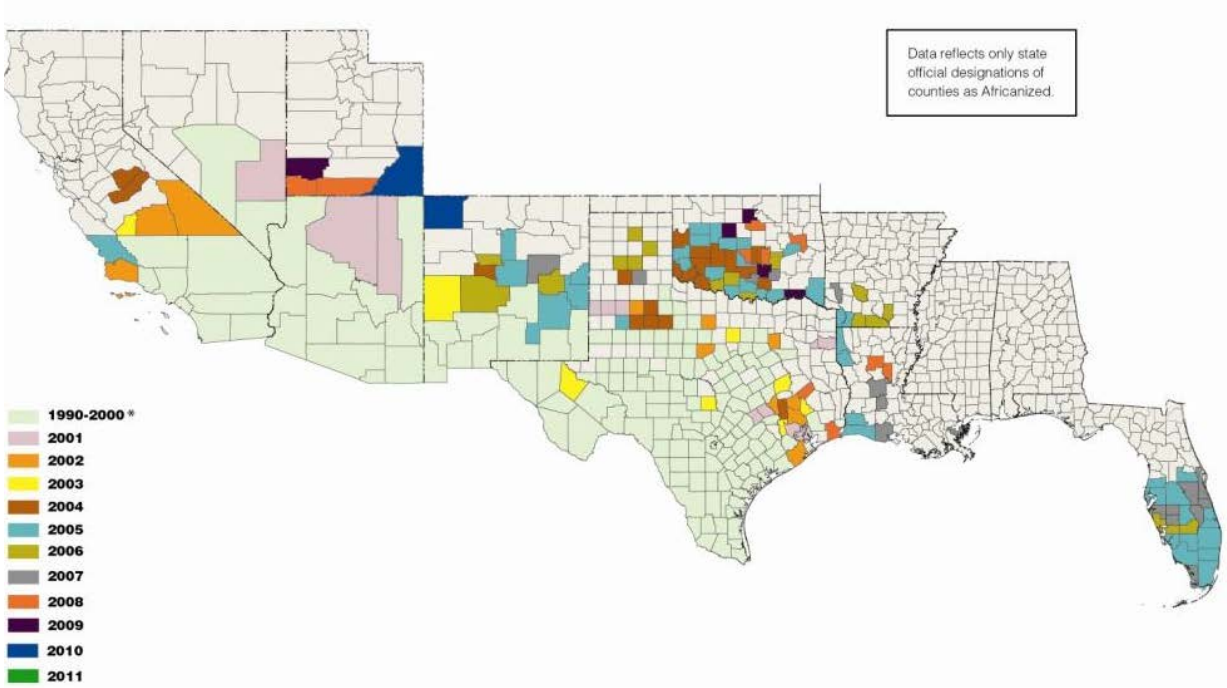


Figura 2: Dispersão da abelha Africanizada pelo Sul dos Estados Unidos e os respectivos anos de ocorrência. Fonte: USDA-ARS (https://www.ars.usda.gov/pacific-west-area/tucson-az/honey-bee-research/docs/africanized-honey-bees/page-6/)

Alguns aspectos sobre *Apis mellifera*: biologia, nutrição, doenças e os ácaros do gênero Varroa

As abelhas Africanizadas apresentam alguns aspectos aparentemente mais semelhantes aos das abelhas africanas quando comparadas aos das abelhas europeias. Podem ser citadas por exemplo algumas características como a morfometria das asas, alguns comportamentos como a maior capacidade de remoção de crias de abelhas infestadas com o ácaro varroa, o comportamento higiênico, um comportamento de grooming mais eficiente (remoção dos ácaros com as pernas e mandíbulas por meio de self-grooming ou allogrooming entre abelhas), maior comportamento de defesa ou agressividade, enxameação e mudança de local de ninho mais frequente, maior produção de mel e capacidade de forrageamento devido à melhor adaptação ao clima, entre outras (CORRÊA-MARQUES; DE JONG, 1998; DE JONG, 1996; FRANCOY et al., 2009; GUERRA JÚNIOR et al., 2000; MICHENER, 1975; MORETTO et al., 1991; MORETTO et al., 1993; SANTOS; MENDES, 2016).

Também o tempo de desenvolvimento da fase de ovo ao inseto adulto (imago) da abelha Africanizada é cerca de 24 horas menor que o tempo levado pelas abelhas europeias. De acordo com Michelette e Soares (1993), é de se esperar que haja certa variação na duração do desenvolvimento pré-imaginal das abelhas Africanizadas pois está relacionada com o grau

de hibridização ocorrido em diferentes regiões em que esta abelha se distribuiu geograficamente. Estes autores estudaram o tempo do desenvolvimento pós-embrionário das operárias das abelhas Africanizadas e verificaram que este período é aproximadamente 24h menor que o mesmo período para o desenvolvimento de operárias de *Apis mellifera carnica* (subespécie europeia). Também constataram que esse período pré-imaginal é de 18 a 24h mais longo quando comparado com o da abelha operária africana.

Nunes-Silva et al. (2006), em estudo sobre as abelhas Africanizadas e o desenvolvimento ontogenético das operárias e rainhas, observaram os seguintes resultados para as operárias: após a postura do ovo, este permanece como tal até o 3º dia; larva do 4º ao 9º dia; pré-pupa do 10º ao 11º dia; pupa do 12º ao 19º dia e emerge a abelha adulta ao 20º dia. Houve evidências de desenvolvimento da abelha operária num período de tempo mais curto (19,8 a 20,3 dias após a oviposição) com relação a abelhas de raças europeias.

Há um período de ganho e um período de perda de peso durante o desenvolvimento da abelha (ganho de peso do 4º ao 9º dia de desenvolvimento, correspondente ao estágio larval) tanto para operárias quanto para rainhas. Após o 9º dia, quando as células estão operculadas e as crias não são mais alimentadas, ocorre então a perda de peso pela falta de alimento e pelo consumo das reservas corpóreas até formar o inseto adulto (NUNES-SILVA et al. 2006).

Uma colônia de *A. mellifera* é composta de uma fêmea fértil, a rainha, e várias fêmeas estéreis, as operárias. Em algumas épocas do ano há também os machos ou zangões. A rainha possui especializações para a finalidade de postura de ovos e produção de feromônios que controlam os demais membros da colônia. As abelhas operárias também podem apresentar desenvolvimento ovariano e postura de ovos em situações como a ausência de crias de abelhas na colônia (FREE, 1977).

As operárias realizam diversas tarefas, vivem geralmente de quatro a seis semanas e suas atividades tendem a mudar conforme a idade. Iniciam com tarefas de ninho como limpeza de células antes da postura de novos ovos pela rainha, a alimentação das crias (fase nutriz) e finalizam com a coleta de néctar, pólen e água fora do ninho (fase forrageira) (FREE, 1977). As abelhas na fase de forrageamento trazem o néctar e o pólen e estes são armazenados e conservados nas células em forma de mel e "beebread" (pão da abelha) respectivamente (DE GROOT, 1953).

As larvas das abelhas são nutridas com alimentação proveniente principalmente de glândulas hipofaringeanas e mandibulares das operárias. As glândulas hipofaringeanas estão completamente desenvolvidas em abelhas com três dias de vida e estão localizadas na cabeça das operárias. Elas produzem secreções aquosas de proteínas destinadas à alimentação das

crias. Estas glândulas estão desenvolvidas nas abelhas operárias que estão na fase de nutriz e estão degeneradas quando as abelhas se tornam forrageiras. Além da idade da abelha operária, o estado das glândulas hipofaringeanas dependem também das condições da colônia e da época do ano (FREE, 1977; AL-GHAMDI et al. 2011). Brouwers (1982) demonstrou em seus experimentos com abelhas *A. mellifera*, no período de inverno, que as glândulas hipofaringeanas são bem mais ativas na síntese de proteínas quando há a presença de cria na colônia do que quando não há.

Influência da nutrição na saúde das abelhas e alimentação suplementar

A alimentação é essencial à saúde das abelhas. Para Brodschneider e Crailsheim (2010), uma nutrição adequada permite o desenvolvimento de colônias saudáveis de abelhas melíferas.

O alimento ingerido pelas abelhas é transformado em nutrientes funcionais que garantem as atividades dentro e fora da colmeia.

A hemolinfa das abelhas possui um rico conteúdo proteico que varia conforme a casta (operária ou rainha), entre machos e fêmeas e entre as fases de vida. Em um estudo realizado no Canadá por Chan et al. (2006), foram identificados um total de 324 proteínas diferentes presentes na hemolinfa de *A. melliera*, em rainha, operária, zangão e larva. Os resultados mostraram grande diferença na composição proteica da hemolinfa, principalmente entre larva e o estágio adulto, entre macho e fêmea e mesmo entre operárias e rainhas adultas. Operárias adultas apresentaram pelo menos 50 vezes mais proteína vitelogenina e profenoloxidase (relacionada à imunidade) na hemolinfa do que as larvas. As larvas, porém, continham grandes quantidades de hexamerinas. Apolipoforinas e outras muitas proteínas puderam ser identificadas pelas técnicas utilizadas pelos autores.

Sob condições naturais, o pólen garante as proteínas necessárias para as abelhas. Já em condições adversas, quando há falta de pólen, as abelhas continuam utilizando o mel em estoque nos favos, que contém praticamente carboidratos, como fonte de alimentação (FREE, 1977; HAYDAK, 1970).

Atualmente no Brasil, devido ao grande cultivo de monoculturas, houve ampla destruição das áreas verdes. Em algumas regiões, a carência de pólen tem se tornado um grande problema, pois a apicultura depende de recursos naturais e apresenta oscilações de produção de acordo com as condições do clima e ambiente regionais (CREMONEZ, 1996). Em épocas de ausência de floradas, a reserva de alimento na colônia pode ser insuficiente.

Sendo assim, é aconselhável fornecer alimentação suplementar às abelhas (AZEVEDO-BENITEZ; NOGUEIRA-COUTO, 1998). Quando as condições do ambiente são muito críticas, há pouca cria na colônia e estas podem morrer por falta de alimento, por doenças ou parasitoses ou ainda serem eliminadas pelas operárias, que consomem parte da cria como alimento.

De acordo com Coelho et al. (2008) o Brasil possui grande potencial para produtos apícolas devido à flora diversa e alta concentração de alimentos para as abelhas no período chuvoso. Entretanto, em períodos secos, há escassez de pasto apícola fazendo-se necessária uma alimentação complementar.

Alguns substitutos alimentares comumente utilizados para as abelhas consistem em uma mistura de farinha de soja, farinha de milho, levedura de cerveja entre outros ingredientes (ALMEIDA 2013; CREMONEZ et al. 1998; MA et al. 2015; MORAIS et al. 2013).

Morais et al. (2013), avaliando a hemolinfa das abelhas, testaram duas dietas proteicas artificiais ministradas a abelhas Africanizadas e europeias em período de escassez de alimento. Com esse estudo concluiu-se que, nesse período, ambas as dietas podem ser substitutas do pólen quando esta fonte de alimento diminui no ambiente e que as abelhas Africanizadas foram as que utilizaram mais eficientemente as dietas artificiais quando comparadas às abelhas europeias. Cappelari et al. (2009) também estudaram abelhas Africanizadas e europeias (*A. m. carnica*) quanto à habilidade dessas abelhas em converterem dietas artificiais e naturais em proteínas utilizáveis. As abelhas Africanizadas desenvolveram os maiores níveis de proteínas na hemolinfa em seis dias, para todas as dietas testadas.

A má nutrição consiste em um dos principais fatores que afetam a resistência às doenças. Em *A. mellifera*, o pólen, que é a principal fonte de proteína, aminoácidos e lipídios, é essencial ao desenvolvimento fisiológico da abelha adulta e geralmente reduz a sua sensibilidade aos parasitas e patógenos (ALAUX et al. 2011). Por exemplo, o aminoácido triptofano é indispensável para o desenvolvimento das abelhas jovens (DE GROOT, 1953).

Em colônias de insetos sociais, vírus e patógenos podem espalhar-se rapidamente devido ao contato próximo entre os indivíduos, aos períodos de confinamento entre eles e também devido à distribuição de comida (DEGRANDI-HOFFMAN; CHEN, 2015).

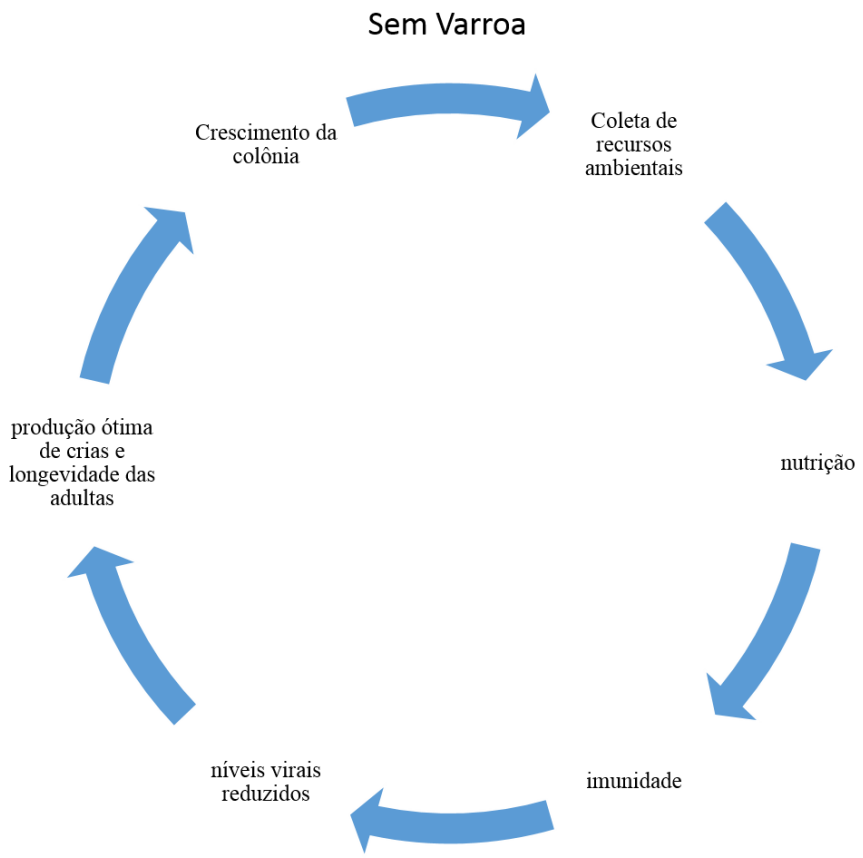
São várias as doenças e parasitoses que afligem as abelhas *A. mellifera* no mundo todo. No Brasil, algumas doenças que podem ser encontradas nas colmeias são a nosemose, o ácaro traqueal *Acarapis woodi* (DE JONG, 1997), cria ensacada, cria giz, cria pútrida americana, cria pútrida europeia (por abelhas trazidas da europa) (PEREIRA, 2008), traça de

cera (*Galleria mellonella*), a traça maior, e a *Achroia grisella* (traça menor) que geralmente atacam colmeias mais fracas em um apiário (CAMARGO et al. 2002; CORRÊA-MARQUES; DE JONG, 1998), doenças virais, algumas transmitidas pelo ácaro *Varroa destructor* (causador da varroose), como o vírus DWV (Deformed Wing Virus ou vírus da asa enrolada) (MESSAGE et al. 2011).

Em geral, a presença do ácaro *Varroa destructor* na colônia é capaz de debilitar o seu estado de saúde. Estudos revelaram que a infestação do ácaro *V. destructor* durante o desenvolvimento pupal da abelha pode ter efeito na capacidade imunológica da pupa parasitada e mesmo da abelha adulta (GENERSCH, 2010).

DeGrandi-Hoffman e Chen (2015) mostram a relação entre nutrição, imunidade e infecções virais quando não há parasitismo e quando ocorre o parasitismo com o ácaro *V. destructor* (Figura 3).

a



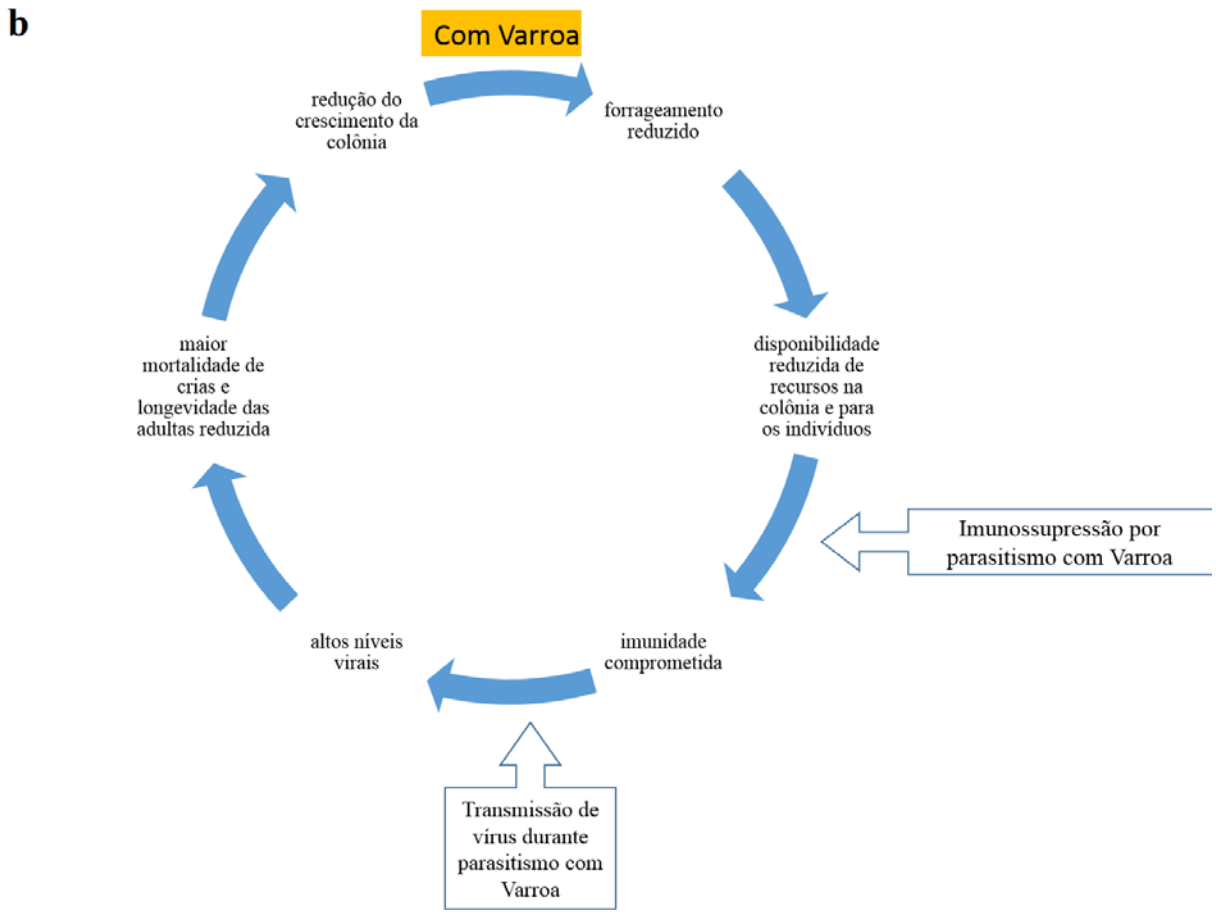


Figura 3: Esquema das relações entre nutrição, imunidade, níveis virais e os efeitos para o crescimento da colônia (a) e as mudanças nessas relações quando as abelhas estão parasitadas por ácaros Varroa (b). Fonte: adaptado de DeGrandi-Hoffman e Chen (2015).

O trabalho de Alaux et al. (2011) foi realizado na França com uma população híbrida entre *A. m. ligustica e A. m. mellifera* e avaliou a alimentação das abelhas e sua influência sobre o parasita *V. destructor*. Estes autores, utilizando em sua pesquisa ferramentas de nutrigenômica, puderam verificar diferenças no transcriptoma de abelhas alimentadas com pólen e açúcar e abelhas alimentadas somente à base de açúcar. Também verificaram o efeito dessas duas dietas em abelhas com e sem o parasita *V. destructor*. Em seus resultados concluem que os nutrientes contidos no pólen são capazes de ativar vias metabólicas e apresentam uma influência positiva nos genes que afetam a longevidade da abelha (como os que codificam os antioxidantes vitelogenina e superóxido dismutase) e também na produção de alguns peptídeos antimicrobianos. Apesar disso, o parasitismo causado pelo ácaro Varroa provocou o desenvolvimento de populações virais e uma diminuição do metabolismo na abelha, especificamente o de proteínas, que é essencial à saúde apícola. Esse efeito prejudicial do ácaro não pode ser revertido pela ingestão de pólen e esse parasita foi considerado de alta virulência para a população de abelhas estudada.

Annoscia et al. (2015) avaliaram recentemente o comportamento de abelhas adultas que foram infestadas com o ácaro *V. destructor* na sua fase pupal e verificaram, por exemplo, que houve maior proporção de abelhas inativas dentro do ninho entre as que foram infestadas. Verificaram também que o parasitismo causado por este ácaro pode impedir que as abelhas atingidas desenvolvam suas atividades normais dentro do ninho quando adultas, ficando menos pendentes do cuidado das larvas e de outras tarefas dentro do ninho.

Colônias com pólen de diversas origens botânicas mostraram-se com baixos níveis de infecções virais transmitidas pelo ácaro *V. destructor* no Uruguai, o que sugere que a nutrição adequada das colmeias é importante para a manutenção da saúde das abelhas (ANTÚNEZ et al. 2015).

Bacha Júnior et al. (2009), utilizando ferramentas de georreferenciamento, identificaram que as abelhas em apiários diferentes mas com área que ocorre sobreposição de forrageamento, apresentaram infestação de *V. destructor* três vezes maior (em abelhas adultas) quando comparadas com abelhas de apiários sem essa sobreposição.

O ácaro *V. destructor* é um ectoparasita obrigatório de grande importância que infesta abelhas *A. mellifera*. A sua sobrevivência fora da colmeia dura de algumas horas a alguns dias e é dependente da temperatura e da umidade relativa do ar (HERNÁNDEZ; CASTAÑO, 1993).

Estes ácaros podem contribuir para a perda de colônias em muitos países, como os Estados Unidos (VANENGELSDORP et al. 2010) e países da Europa (POHORECKA et al. 2014).

Entre as características encontradas nas abelhas no Brasil, está o fato de que todas as colmeias estão infestadas com o ácaro parasita *Varroa destructor* (DE JONG et al. 1982a).

V. destructor, antes um ácaro relativamente pouco conhecido presente nas abelhas asiáticas, surgiu como o principal problema para a apicultura mundial desde os anos 60 (De Jong et al., 1982a). Originalmente este ácaro era chamado de *V. jacobsoni*, mas pesquisas realizadas por Anderson e Trueman (2000), sobre os ácaros em abelhas na Ásia, demonstraram que havia várias espécies de varroas e a espécie que ataca *A. mellifera* era outra, que foi nomeada *V. destructor*. Este ácaro possui um tamanho bem pequeno porém visível a olho nu. Uma fêmea adulta possui cerca de 1.100 µm de comprimento e 1.600 µm de largura (DE JONG, 1997).

O gênero *Varroa* (Acari: Varroidae) é representado por quatro espécies de ácaros, sendo todos ectoparasitas obrigatórios (*V. jacobsoni*, *V. underwoodi*, *V. rindereri* e *V. destructor)* que se alimentam da hemolinfa de abelhas sociais pertencentes ao gênero *Apis*,

que nidificam em cavidades, (*A. mellifera* e *A. cerana*) (ANDERSON; TRUEMAN, 2000) (Figura 4). Recentemente introduziu-se uma discussão na comunidade científica sobre a alimentação do ácaro *Varroa destructor* através do trabalho realizado por Ramsey e VanEngelsdorp (SIMONE-FINSTROM, 2016). Estes autores defendem que a alimentação primária do ácaro é constituída do corpo gorduroso das pupas de *A. mellifera* e não primariamente a hemolinfa.

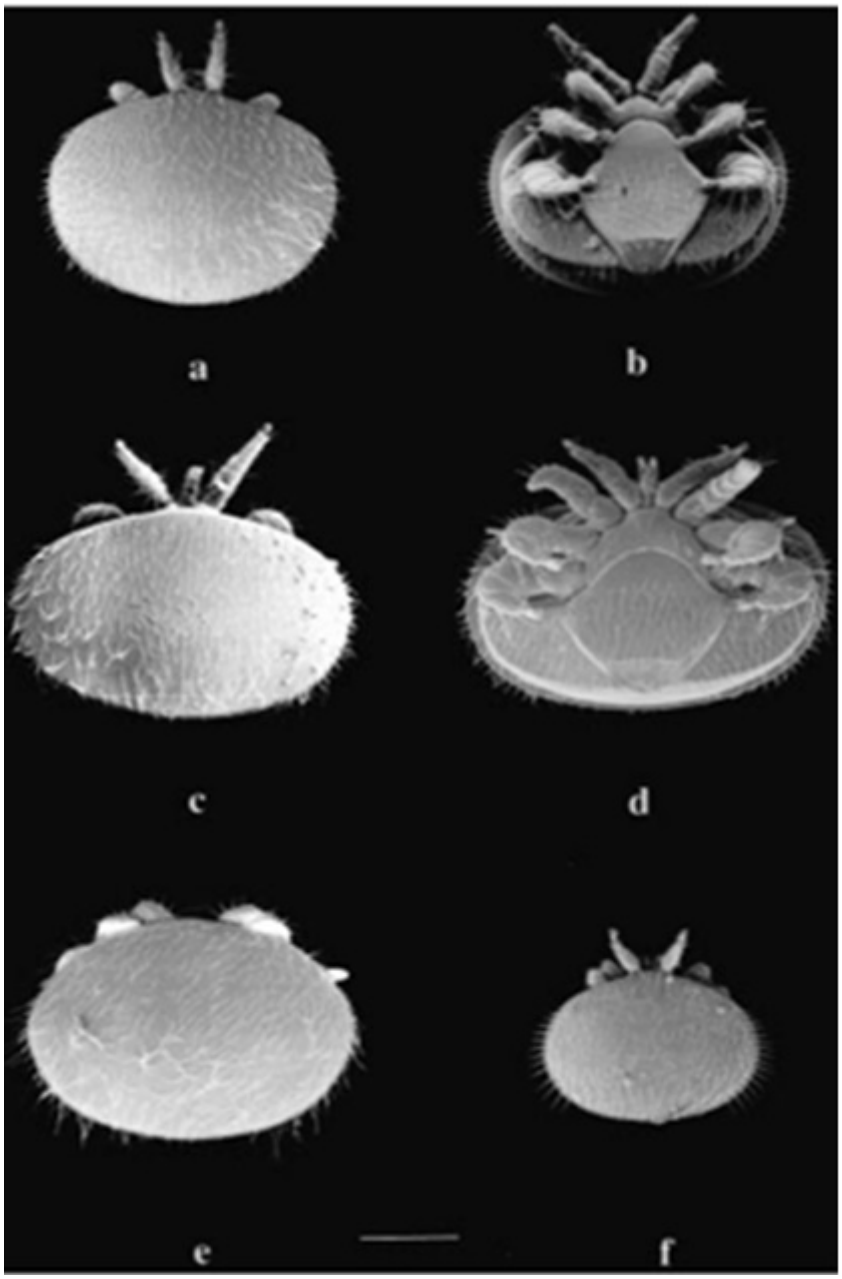


Figura 4: Aspecto das superfícies dorsais e ventrais de fêmeas adultas de *Varroa jacobsoni* (haplótipo Java) (a e b) e *Varroa destructor* (haplótipo Coreano) (c e d). Superfícies dorsais de *V. rindereri* (e) e *Varroa underwoodi* (f). Barra = aproximadamente 500 µm. Fonte: Adaptação de Anderson e Trueman (2000).

A espécie *V. destructor* foi detectada infestando seu novo hospedeiro *Apis mellifera* no século XX devido à introdução dessa abelha na Ásia onde *Apis cerana* é nativa (DE JONG, 1997). Atualmente, este ácaro apresenta-se praticamente cosmopolita (ROSENKRANZ et al. 2010). Como o ácaro varroa e a abelha *Apis mellifera* não co-evoluíram por longo período de tempo, não há uma adaptação na relação parasita hospedeiro, resultando que a varroa pode frequentemente matar o seu hospedeiro (LE CONTE et al. 2010).

A infestação do ácaro varroa em toda a América do Sul parece ter se originado no Paraguai, através da introdução de abelhas do Japão (DE JONG et al., 1982a). No Brasil, o ácaro *Varroa destructor* foi detectado em 1978, porém ainda não foram registrados casos de mortalidade de colônias de abelhas. Nas abelhas Africanizadas, a taxa de infestação pelo ácaro varroa é baixa, causando poucos danos à apicultura brasileira (CARNEIRO et al. 2007; DE JONG, 1997; DE JONG et al. 2016). A tolerância das abelhas Africanizadas ao ácaro pode ser atribuída, ao menos em parte, à resistência dessas abelhas. Há baixa fertilidade do parasita em células de crias de operárias. Também o comportamento de grooming e o comportamento higiênico das abelhas Africanizadas são fatores importantes para manter níveis baixos de infestação do ácaro nas colônias (CALDERÓN et al. 2010). Em pesquisas com abelhas Africanizadas no México, foi verificado que os ácaros não apresentam infertilidade como ocorre em infestações nas abelhas Africanizadas do Brasil. Os autores defendem a hipótese de que isso se dê por causa da existência de linhagens diferentes do ácaro nos dois países (México e Brasil) (VANDAME et al. 2000).

Dentre os dezoito haplótipos de *V. destructor* detectados em *A. cerana*, apenas dois podem se reproduzir em *A. mellifera*, tanto em células operculadas de zangãos como de operárias. Foi feita uma análise de 3 isolados do ácaro *V. destructor* do Brasil nos anos de 1989, 1993 e 1997. Foram constatados os haplótipos Japonês/Tailandês e Russo/Coreano, os dois únicos que se tornaram parasitas da espécie *A. mellifera* no mundo todo, sendo o segundo haplótipo encontrado o menos comum (ANDERSON; TRUEMAN, 2000). Originalmente havia no Brasil somente o tipo Japonês, mas agora predomina o tipo Coreano, que coincide com uma maior taxa de reprodução do ácaro e infestações maiores, causando preocupação, principalmente nas regiões mais frias do país (DE JONG et al. 2016).

Os ácaros atacam as abelhas tanto na fase de cria quanto na fase adulta (DE JONG, 1981). De Jong et al. (1982b) verificaram a perda de peso das abelhas devido à infestação de varroas. As abelhas adultas infestadas emergiram com 6,3 a 25% menos peso que as abelhas sem infestação, havendo assim uma relação inversamente proporcional entre o número de ácaros numa célula com cria de abelha e o seu peso ao emergir. Este ácaro parece estar

altamente especializado à sobrevivência e à reprodução em seu hospedeiro com rápido desenvolvimento da prole no pouco tempo em que a célula de cria permanece operculada (DE JONG, 1997). As fêmeas de *V. destructor* entram em células de crias desoperculadas com larvas no quinto instar (Figura 5). A postura de ovos, o desenvolvimento dos estágios ninfais e a reprodução dos ácaros ocorrem durante o período de 11 ou 15 dias em que as células de operárias e de zangãos, respectivamente, permanecem operculadas, período do último estágio larval ao inseto adulto. A fêmea original e as fêmeas adultas da prole do ácaro saem da célula juntamente com a abelha adulta recém-emergida. Elas permanecem na abelha e podem se alimentar de hemolinfa até entrarem em outra célula que contenha larva para começar um novo ciclo reprodutivo (DE JONG, 1981). Os autores Bowen-Walker e Gunn (2001), usando técnicas com substâncias radioativas, calcularam a quantidade de alimento consumido por uma fêmea adulta do ácaro varroa sugando uma abelha adulta e foi de 0,67 µL de hemolinfa a cada 24h.

Figura 5: Ciclo de vida do ácaro *Varroa destructor* em crias de operárias de abelhas Africanizadas *Apis mellifera*. Fonte: adaptação de http://www.coloss.org/beebook/II/virus/1/1.

Boot et al. (1995) verificaram o período de permanência do ácaro *V. destructor* na abelha adulta de no máximo 23 dias e que as variações de tempo nesta fase forética não influenciaram nas taxas de infestação nas crias das abelhas.

As varroas captam voláteis da abelha através do seu aparato quimio-sensorial e são capazes de distinguir as abelhas nutrizes e as forrageiras, preferindo permanecer mais nas primeiras do que nas segundas (DE JONG, 1997; ELIASH et al. 2014).

Para De Jong (1981), analisando a infestação de ácaros em células de operárias, o período gasto por uma fêmea de varroa em uma abelha adulta antes de iniciar um novo ciclo reprodutivo, entrando em célula com cria de abelha, provavelmente depende em parte da

idade da varroa e da disponibilidade de larvas de abelhas em idade apropriada. No entanto, estímulos ambientais também podem desempenhar um papel parcial e as evidências dos experimentos realizados por este pesquisador sugerem que células de rainha ou alguns fatores associados com a construção dessas células constituem tais estímulos. O ácaro *V. destructor* geralmente não se reproduz em células de rainha. As varroas são capazes de distinguir os tipos de crias e preferem infestar células de zangão em primeiro lugar, depois células de operárias (DE JONG, 1997).

O número de ciclos reprodutivos de um ácaro, ou seja, o número de vezes que uma varroa entra na célula de cria para se reproduzir é de 2 a 3 vezes, de acordo com o estudo realizado por Martin e Kemp (1997), baseando-se em observações do crescimento populacional de ácaros em colmeias manipuladas.

Devido ao aumento nas populações de varroa quando há a produção de crias, o esperado para os climas tropicais, onde as crias estão presentes durante o ano todo, seria que os efeitos do parasita fossem ainda mais devastadores (CALDERÓN et al. 2012). Embora a infestação de varroa esteja presente em colmeias brasileiras (PEGORARO et al. 2000; GARRIDO et al. 2003) e a sua infestação pareça estar aumentando, ainda é considerada de baixa relevância quando comparada aos países da Europa e América do Norte, onde há alta infestação com grandes perdas de colônias (NEUMANN; CARRECK, 2010).

Como regra geral, a população de ácaros cresceria mais rapidamente quanto mais quente fosse o clima. Há também outros relatos de que o ácaro varroa mantém baixas populações em climas tropicais, inclusive sem a necessidade de tratamento acaricida. (DE JONG et al. 2016).

Na Costa Rica, apesar de possuir um clima tropical, ocorrem perdas de colmeias e redução na produção de mel de *A. mellifera* como consequência da introdução de *V. destructor* (CALDERÓN et al. 2012). Provavelmente as varroas presentes nas abelhas Africanizadas da Costa Rica são do haplótipo Coreano, como sugere o estudo realizado por Anderson e Trueman (2000).

Também o clima do local das colmeias tem influência na infestação de varroa. No Brasil, as abelhas Africanizadas apresentam maior grau de infestação de varroas nas condições climáticas da região sul, com clima subtropical úmido e temperatura média anual entre 13º C e 18º C, diferentemente da região de Ribeirão Preto-SP com clima tropical e temperatura média anual de 21º C (MORETTO et al. 1991). A taxa de infestação também varia de acordo com a estação do ano, sendo mais alta durante o inverno no Brasil.

Carneiro et al. (2014) verificaram taxas maiores de infestação do ácaro varroa nas crias de abelhas, na estação de inverno, em colmeias localizadas em Blumenau-SC (região Sul do Brasil).

Kraus e Velthuis (1997) avaliaram a questão da umidade e sua influência sobre a reprodução do ácaro *V. destructor*. Estes pesquisadores verificaram que os climas tropicais, na maioria das vezes caracterizados por alta umidade relativa do ar, podem influenciar negativamente na reprodução do ácaro varroa. As fêmeas foram muito sensíveis a altos níveis de umidade relativa e quase nenhuma vez se reproduziram quando a umidade foi acima de 80%. Ao contrário, se reproduziram bem em níveis mais baixos de umidade. Os autores defendem que é muito provável e frequente que os valores de umidade relativa sejam iguais dentro do ninho e no ambiente externo e este fato poderia manter em baixos níveis as populações de varroas em climas tropicais.

Os pesquisadores Currie e Tahmasbi (2008) analisaram o comportamento de grooming de abelhas do Canadá em defesa contra o ácaro *V. destructor* relacionado com variáveis ambientais. As abelhas foram colocadas em gaiolas e tiveram influência de diferentes temperaturas e umidades controladas em laboratório. Os resultados mostraram que a eficácia relativa dos grupos com alto e baixo comportamento de grooming foram afetados por estas variáveis do ambiente. A maior diferença entre os grupos foi observada a 25 ºC e o grooming foi levemente maior em umidade mais baixa do que em umidade mais alta.

Corrêa-Marques et al. (2000) sugerem que a simples contagem de ácaros danificados pode não ser um bom modo para medir a tolerância da colmeia contra *V. destructor*. No estudo desenvolvido por estes autores não foi encontrada correlação entre a porcentagem de ácaros danificados e os níveis de infestação nas crias e nas abelhas adultas. Apesar disso, colônias com baixa infestação das crias apresentaram grandes proporções de ácaros fêmeas adultas jovens danificadas (fêmeas de pigmentação leve).

Bowen-Walker e Gunn (2001), investigaram alguns efeitos físicos e fisiológicos em abelhas infestadas com o ácaro *Varroa destructor*. Houve uma correlação negativa entre o número crescente de ácaros infestando cada célula e o peso e a quantidade de água da abelha parasitada. Para cada ácaro, a pupa em desenvolvimento perderia 3% de água corpórea e diminuiria seu peso. As abelhas parasitadas também emergiram com menores concentrações de proteínas na cabeça e no abdomen e baixas concentrações de carboidratos abdominais. Já os lipídios não tiveram concentrações detectavelmente afetadas pela infestação do ácaro.

De acordo com Moretto et al. (1997), a dinâmica da população de varroas depende das condições da colônia. Foi encontrada uma relação positiva entre quantidade de pólen

disponível nas colônias de abelhas e variáveis biológicas dos ácaros, tais como a porcentagem de fêmeas férteis (fêmeas que deixam descendentes), o número de deutoninfas e fêmeas adultas novas (jovens) (taxa de reprodução efetiva) e o número total de descendentes (taxa de reprodução total). Também foi demonstrado que as fêmeas férteis de varroa reproduziam mais durante os meses em que havia maior quantidade de pólen disponível. No entanto, a quantidade de mel estocado na colmeia não influenciou a taxa de reprodução do ácaro. Em outra evidência que nutrição pode afetar as infestações com o ácaro *V. destructor* é que a infestação na cria da abelha aumenta quando a colmeia fica sem a rainha (DE JONG, 1981). As abelhas terão que viver mais tempo para resistirem até que uma nova rainha possa repopular a colmeia. Sendo assim, há a possibilidade de que a varroa reaja a um estímulo de alimentação reforçada das larvas. Quando a fêmea da varroa inicia a sua reprodução, ela submerge dentro da comida da quinta fase larval da abelha (DE JONG, 1997). Este comportamento pode ser utilizado para testar possíveis atrativos para capturar e possivelmente controlar este ácaro (JUNQUEIRA et al. 2004).

Os resultados deste trabalho podem contribuir nos estudos sobre manejo da apicultura e diminuir os danos causados pelo ácaro varroa, auxiliar na redução de possíveis perdas de produção e fornecer dados relevantes que poderão auxiliar em pesquisas posteriores.

2. Objetivos

2.1 Objetivo geral:

Verificar se as variáveis climáticas e o estado nutricional das colmeias afetam a infestação e a reprodução do ácaro parasita *V. destructor*.

2.2 Objetivos específicos:

- Avaliar a infestação do ácaro *V. destructor* em abelhas operárias adultas de colmeias de *A. mellifera* e relacionar os resultados com algumas variáveis climáticas;
- Avaliar a infestação e a reprodução do ácaro *V. destructor* em crias de abelhas operárias de colmeias de *A. mellifera* e relacionar os resultados com algumas variáveis climáticas;
- Relacionar a infestação e a reprodução do ácaro *V. destructor* em colmeias de *A. mellifera* com a presença ou a ausência natural da abelha rainha na colônia;
- Avaliar a infestação e a reprodução do ácaro *V. destructor* em colmeias de abelhas *A. mellifera* sem e com alimentação proteica adicional (dieta), relacionando com dados de mapeamentos e as estações do ano.

3. Materiais e Métodos

3.1 Localização do Apiário Experimental e visão geral dos experimentos

O estudo foi realizado com abelhas Africanizadas (*A. mellifera*) do Apiário Experimental do Departamento de Genética da Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, campus de Ribeirão Preto-SP (Figura 6). A localização geográfica encontra-se a 21º 10’ de Latitude Sul e 47º 48’ de Longitude Oeste e a 545m de altitude. Foram utilizadas colmeias padronizadas do tipo Langstroth (com 9 quadros contendo crias e/ou alimentos e 1 alimentador interno) localizadas em área aberta, o que permitiu coletas de alimentos realizadas pelas abelhas nos arredores do Apiário. Para todas as colmeias foi fornecido xarope de sacarose a 50% (p/p) uma vez por semana ao longo de todos os períodos de experimentos. Todas as colônias utilizadas já se encontravam naturalmente infestadas com o ácaro parasita *V. destructor*.

Figura 6: Apiário Experimental do Departamento de Genética da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP) da Universidade de São Paulo

Os experimentos foram realizados em duas etapas principais. Na primeira etapa foram coletados dados de infestação e reprodução do ácaro varroa em abelhas operárias, tanto em

adultas como nas crias em desenvolvimento no interior das colmeias e estes dados foram comparados com as variáveis climáticas.

A primeira etapa ocorreu entre agosto do ano de 2013 até setembro do ano 2015, sendo que a avaliação das abelhas adultas ocorreu entre setembro de 2013 e maio de 2015 e a das crias entre setembro de 2013 e setembro de 2015 (análise das infestações do ácaro) e entre agosto de 2013 e agosto de 2015 (análise das reproduções do ácaro).

A segunda etapa dos experimentos iniciou-se a partir do segundo semestre de 2015, de setembro de 2015 a outubro de 2016, onde continuaram sendo realizadas as avaliações das infestações e reproduções do ácaro, mas somente nas crias de abelhas, com a adição de dieta proteica em algumas colônias por períodos determinados. Estes dados de infestação e reprodução em colmeias melhor alimentadas (com fornecimento da dieta) ou não (colmeias controle) foram comparados em diferentes épocas do ano. Também para esta segunda etapa foram consideradas as variáveis de mapeamentos das colônias (pólen, néctar, crias abertas e crias operculadas).

Em ambas as etapas de experimentos, levou-se em consideração a presença ou ausência natural de rainha nas colônias, devido à morte da mesma ou por enxameação da colônia. A ausência da rainha foi evidenciada principalmente pela presença de realeiras em alguns favos das colônias.

Para a primeira etapa foram utilizadas 7 colônias (números 1 a 7), porém não todas ao mesmo tempo, para a relação com as variáveis climáticas. A colônia 7 substituiu a colônia 5 quando esta foi perdida em dezembro de 2014. A colônia 5 permaneceu um período mais longo que o habitual sem a rainha e duas tentativas de recuperação foram realizadas. Primeiro foi colocado um quadro contendo crias abertas, porém as operárias não produziram realeiras. Em seguida foi realizada a introdução de uma rainha nova na colônia, mas esta não foi aceita e a colônia extinguiu-se. As colônias 1 e 2 também foram perdidas em determinado momento dos experimentos, em maio de 2015, e não puderam ser substituídas.

Para a segunda etapa foram utilizadas 5 colônias, de números 3, 4, 6, 7 e 8. A colônia 8 substituiu a colônia 7 que foi perdida em janeiro de 2016.

As dietas foram introduzidas em 4 períodos diferentes ao longo do experimento em 2 das colônias (números 3 e 4) e as outras colônias (números 6, 7 e 8) foram avaliadas como controle.

Um resumo esquemático das variáveis envolvidas nas duas etapas dos experimentos realizados pode ser observado na figura 7:

Figura 7: Esquema geral das avaliações da infestação e da reprodução de ácaros *Varroa destructor* em colônias de abelhas *Apis mellifera* e as suas relações com as variáveis propostas.

3.2 Avaliação da infestação e reprodução do ácaro Varroa destructor e as variáveis climáticas

Os dados das variáveis climáticas dos anos de 2013 a 2015 foram obtidos junto ao Instituto Agronômico de Campinas (IAC), através da Estação Climática localizada na cidade de Ribeirão Preto. Esta estação encontra-se no Centro de Cana a cerca de 4 quilômetros de distância da Universidade de São Paulo (campus de Ribeirão Preto) onde está o Apiário Experimental utilizado neste estudo (Figura 8).

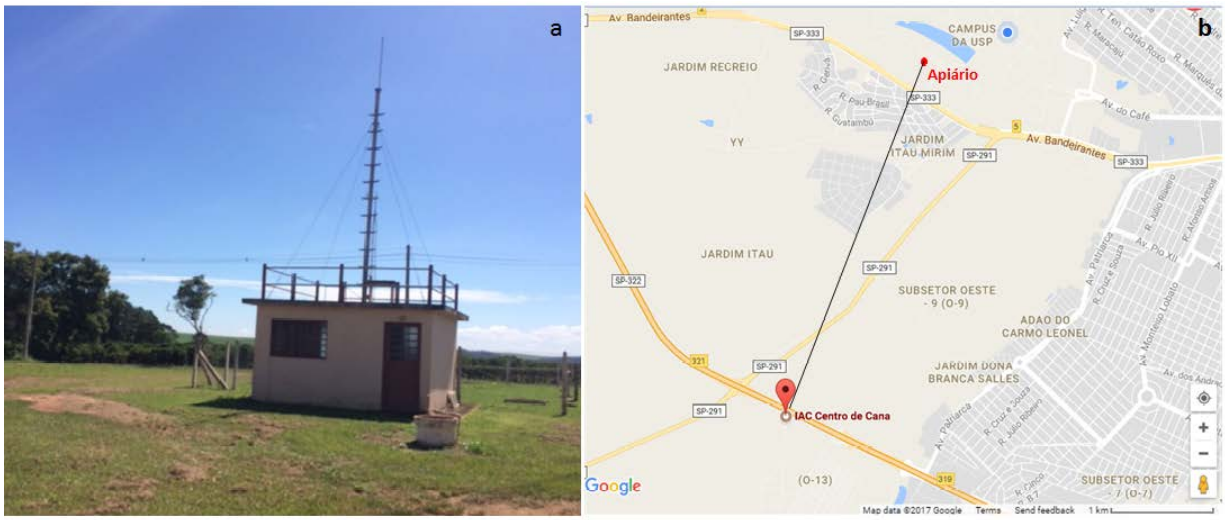


Foto: Márcia C. Mendes

Figura 8: Estação Climática localizada no Centro de Cana (a); mapa ilustrando as localizações da Estação Climática e do Apiário Experimental no campus da Universidade de São Paulo (USP), na cidade de Ribeirão Preto (b).

As três variáveis climáticas consideradas neste estudo foram Precipitação Pluviométrica (mm), Temperatura do ar (ºC) e Umidade Relativa do ar (%). Os dados climáticos foram fornecidos pelo IAC em arquivo digital com os valores diários em calendário de dias julianos para cada ano. A partir destes dados foram então calculados os valores médios mensais dessas variáveis para a análise da relação com os dados de infestação e reprodução do ácaro *V. destructor* referentes aos meses em que ocorreram as avaliações. Para os valores da Temperatura e da Umidade foi calculada a média entre as médias mínima e máxima mensais dessas variáveis. Para a Precipitação foi calculada a média diária de cada mês (Tabela 1).

Tabela 1: Médias mensais e desvios-padrão (D.P.) das variáveis climáticas Precipitação (mm), Temperatura do ar (ºC) e Umidade Relativa do ar (%) na região de Ribeirão Preto-SP no período de agosto de 2013 a setembro de 2015

Mês/Ano	Precipitação (mm)	Temperatura (ºC)	Umidade Relativa (%)
Agosto/13	0.02(±0.14)	20.3(±3.67)	50.95(±10.0)
Setembro/13	3.1(±7.11)	22.3(±3.63)	58.7(±16.89)
Dezembro/13	10.9(±19.9)	25.1(±1.62)	68.1(±6.98)
Janeiro/14	3.4(±5.24)	25.5(±1.28)	63.55(±8.09)
Fevereiro/14	2.1(±4.45)	25.5(±1.73)	59.4(±10.39)
Março/14	2.4(±7.24)	24.7(±1.39)	67.0(±6.57)
Abril/14	1.5(±4.72)	24.2(±1.90)	68.5(±9.21)
Maio/14	1.0(±3.93)	20.3(±0.99)	75.8(±3.66)
Junho/14	1.0(±0.34)	20.1(±2.52)	64.7(±10.0)
Julho/14	0.0 (0.0)	21.0(±2.13)	57.6(±7.10)
Agosto/14	1.0(±3.19)	19.6(±2.75)	58.1(±14.08)
Setembro/14	0.6(±2.87)	22.3(±1.91)	48.1(±9.80)
Dezembro/14	6.3(±12.41)	24.8(±2.0)	66.7(±10.31)
Fevereiro/15	8.5(±12.84)	24.8(±1.63)	69.3(±8.0)
Abril/15	1.0(±4.86)	23.3(±1.79)	68.6(±6.69)
Maio/15	3.0(±8.74)	20.4(±2.29)	70.1(±8.88)
Junho/15	0.9(±2.99)	20.1(±1.84)	65.4(±9.25)
Julho/15	0.4(±1.59)	20.2(±2.32)	62.3(±12.64)
Agosto/15	0.1(±0.55)	21.8(±1.92)	49.0(±8.22)
Setembro/15	3.1(±7.15)	24.1(±3.62)	56.8(±19.41)

3.2.1 As abelhas operárias adultas e a infestação do ácaro V. destructor

As abelhas adultas infestadas com varroas foram avaliadas segundo Stort et al. (1981) para a obtenção da porcentagem de infestação da colônia. Foram feitas avaliações mensais durante um período que variou entre setembro de 2013 a maio de 2015 em 6 colônias do Apiário Experimental. Cerca de 300 a 500 abelhas foram coletadas de cada colônia com um bastão de madeira para dentro de um frasco (becker de plástico ou vidro) contendo cerca de 150 mL de álcool etílico hidratado a 70% ou solução de água com algumas gostas de detergente de uso doméstico. Após esta etapa as abelhas foram agitadas no frasco por três minutos para o desprendimento das varroas. Em seguida o conteúdo foi coado numa bacia através da parte anterior de uma garrafa plástica cortada ao meio e com tampa, formando um funil. No interior do funil foi introduzida uma malha metálica para separar as abelhas dos ácaros (Figura 9). Esse procedimento de agitação separando os ácaros das abelhas foi repetido cerca de cinco vezes até a verificação da ausência de varroas no álcool ou água e detergente após coar as abelhas. Os ácaros foram capturados com um pincel e conservados em álcool 70% em tubos de microcentrífuga identificados de acordo com a colônia e data. O cálculo em

porcentagem da infestação de varroas em abelhas adultas para cada colônia foi realizado pela seguinte fórmula:

$$\text{Grau de infestação das abelhas adultas} = \frac{\text{nº de varroas adultas}}{\text{nº de abelhas adultas}} \times 100$$

Figura 9: Avaliação de ácaros em abelhas adultas: (a) funil construído com garrafa plástica e malha metálica em seu interior para separar as abelhas operárias adultas do líquido contendo ácaros *Varroa destructor*; (b) vista lateral do funil plástico e a tampa; (c) todos os materiais usados para avaliar a infestação de ácaros nas abelhas adultas (becker plástico, bacia plástica, funil com abelhas na parte superior à malha metálica e água com ácaros na parte inferior, pincel e tubo de microcentrífuga para capturar e conservar as varroas); (d) detalhe da bacia com a água e detergente e os ácaros (pontos pretos).

3.2.2 As crias de abelhas operárias e a infestação e reprodução do ácaro V. destructor

Para avaliar o grau de infestação de varroas nas crias das abelhas foi utilizado um quadro de cada colônia contendo pupas em estágios mais avançados de vida, entre o 14º e o 19º dia de desenvolvimento (idade determinada pela pigmentação dos olhos e do corpo da pupa da abelha Africanizada, de acordo com o trabalho de Nunes-Silva et al. 2006).

Em cada avaliação, 100 células de operárias de um único quadro de cria foram desoperculadas com o auxílio de uma pinça entomológica, as pupas foram retiradas e foi verificada a presença ou não de varroas nas células (avaliação da infestação) (Figura 10). Os resultados obtidos foram contabilizados e transformados em porcentagem para avaliar o grau de infestação nas crias.

$$\text{Grau de infestação das crias de abelhas} = \frac{\text{nº de células infestadas com varroa}}{\text{nº de células de cria avaliadas}} \times 100$$

Para verificar a reprodução dos ácaros nas crias das abelhas operárias, as famílias de varroas encontradas foram identificadas, bem como a idade das pupas encontradas em cada célula infestada. Cada família encontrada dentro da célula de cria foi retirada com a cabeça de um alfinete entomológico molhado em mel para facilitar a captura. Os ácaros foram então contados e identificados quanto à fase de desenvolvimento (ovo, protoninfa, deutoninfa, fêmea jovem ou fêmea adulta) e quanto ao sexo (macho ou fêmea), baseando-se no trabalho de Rozenkranz et al. (2010). Para a identificação destas fases de vida foi utilizado um microscópio estereoscópico (marca Zeiss - Stemi 2000-C). Após os procedimentos descritos, cada família de varroa encontrada em cada célula foi conservada em tubos de microcentrífuga (1,5 mL) contendo álcool etílico a 70% (Figuras 10 e 11).

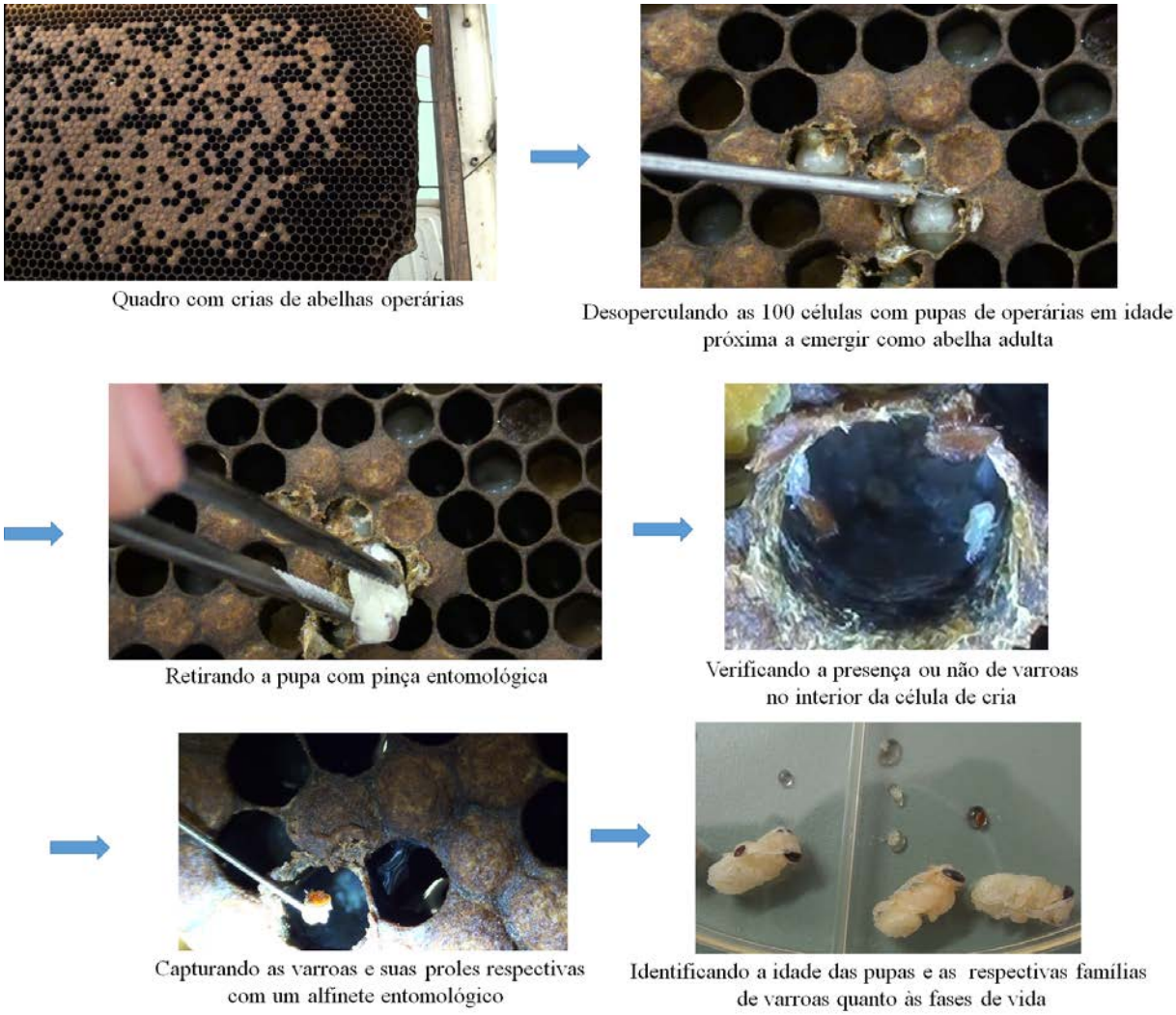


Figura 10: Etapas da avaliação de infestação e reprodução de *Varroa destructor* em crias de abelhas operárias *Apis mellifera*.

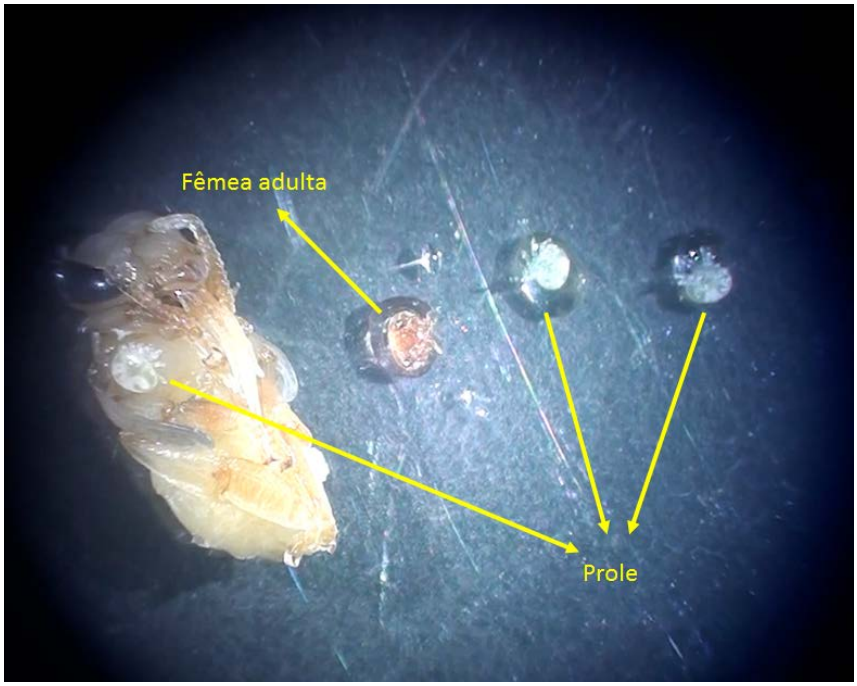


Figura 11: Pupa de abelha operária infestada com ácaros *Varroa destructor* (fêmea adulta original e alguns indivíduos da prole descendente) vistos ao microscópio estereoscópico.

3.3 Avaliação da infestação e reprodução do ácaro Varroa destructor nas crias de abelhas operárias Apis mellifera e a introdução de dieta proteica complementar nas colônias

O período desta segunda etapa de experimentos ocorreu entre setembro de 2015 e outubro de 2016.

3.3.1 Dieta proteica

A dieta complementar proteica utilizada foi desenvolvida por Almeida (2013) e foi fornecida às colmeias em alguns períodos para o aumento do seu estado nutricional, especialmente nos meses de baixa oferta de alimento no campo. Uma quantidade de 100g da dieta proteica utilizada contém: 20g de levedura de cerveja ou levedura de cana; 16,7g de farinha de soja; 43,3g de fubá (em substituição ao farelo de arroz, devido à dificuldade de se encontrar esse componente para compra) e 20g de sacarose. Estes ingredientes foram misturados com xarope de sacarose a 70% (p/p – açúcar em água fervente) até se tornar uma massa úmida e homogênea. Porções de 250g aproximadamente foram colocadas em papel manteiga dobrado ao meio, achatadas com um rolo de madeira e assim ficaram prontas para fornecer às colônias. As porções foram armazenadas em freezer a -20 ˚C e foram sendo

fornecidas às colmeias três vezes na semana (Figura 12). Os ingredientes foram adquiridos comercialmente e a dieta foi preparada em quantidade 20 vezes maior para poder alimentar as colônias durante os experimentos.

Figura 12: Dieta proteica complementar oferecida às colônias: após ser achatada com rolo de madeira (a); armazenada no interior de uma folha de papel manteiga (b); dieta colocada em uma das colônias (c); detalhe mostrando o local em que a dieta foi posicionada, sobre os quadros (d); abelhas alimentando-se da dieta (e).

3.3.2 Mapeamentos das colônias

Para melhor acompanhar os experimentos com e sem o fornecimento de dieta complementar proteica às colmeias, foram realizados alguns procedimentos concomitantes como o mapeamento das colônias, segundo metodologia adaptada de Al-Tikrity (1971) e Machado (2013). O mapeamento das quantidades de alimento (pólen e néctar), crias (abertas e operculadas) e favo vazio em cada colônia foram contabilizadas em porcentagem (%). Para esta avaliação foi utilizado um suporte de madeira com arames (Figura 13) para colocar os quadros das colônias a serem avaliados com auxílio de uma lanterna comum. Os arames estão presentes nos dois lados do suporte, dividindo a área em quadrantes. Há 36 quadrantes de áreas proporcionais em cada lado, o que permite a contabilização de cada variável mapeada em cada quadrante. Foram avaliados os dois lados de cada quadro das colônias (lados A e B) totalizando 18 lados avaliados em cada colônia, pois estas possuíam nove quadros cada uma. Esta avaliação ocorreu a cada 14 dias durante o período de experimento em colônias com e sem dieta, além das avaliações de infestação e reprodução dos ácaros em dias consecutivos.

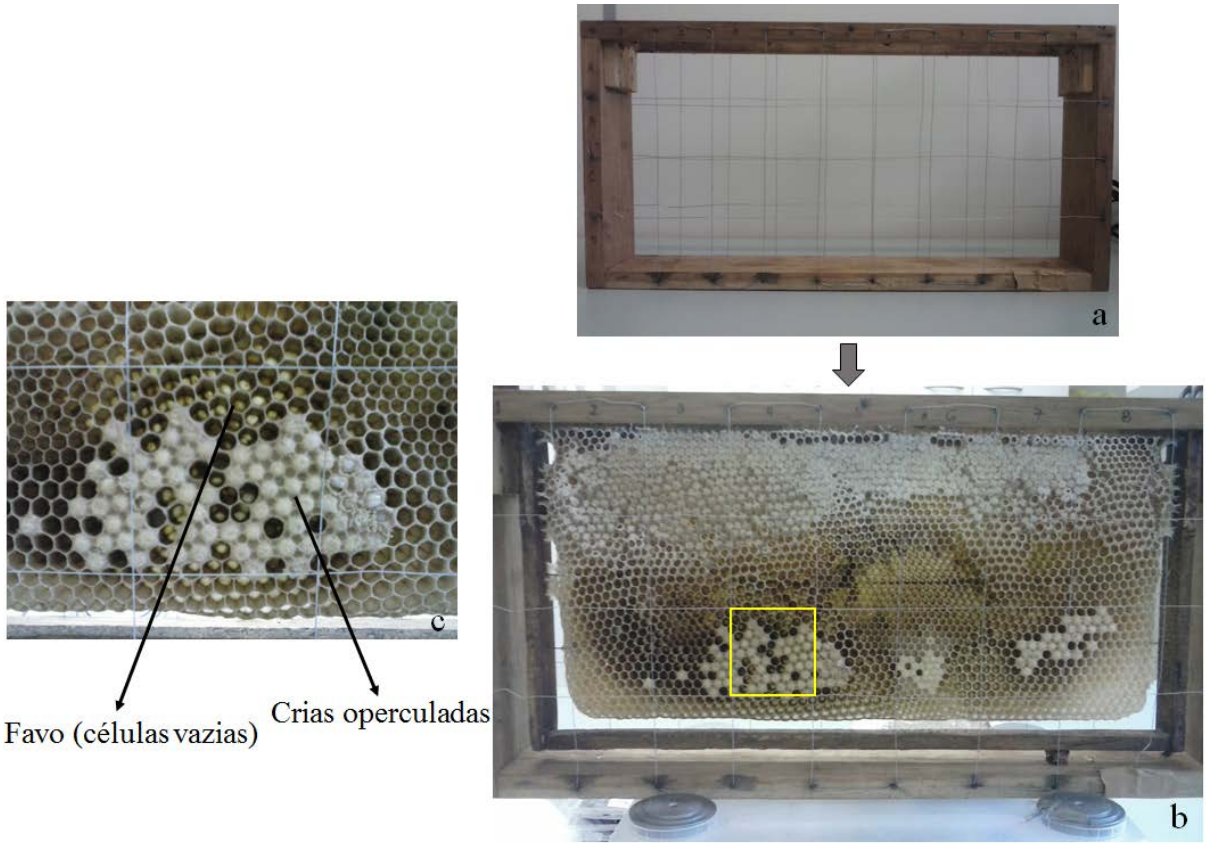


Figura 13: Mapeamento dos quadros das colônias para verificação das quantidades (%) de pólen, néctar, cria aberta, cria operculada e favo (células vazias): suporte de madeira com arame formando quadrantes (a); suporte com quadro e realce em um dos quadrantes (b); detalhe de um quadrante avaliado com áreas de cria operculada e de favo (células vazias) (c).

De cada lado do quadro (Figura 13, b) foram avaliados 21 quadrantes dos 36 presentes, ou seja, os que possuíam áreas integrais de favo ao serem observados. Os quadrantes das laterais direita e esquerda e os quadrantes inferiores foram eliminados da avaliação. Conforme a figura anterior, cada quadrante (Figura 13, c) foi avaliado através de uma estimativa de área com denominação de 1, 2, 3 e 4, equivalentes a 25%, 50%, 75% e 100% da variável presente no quadrante. A soma de todas as variáveis presentes em cada quadrante é sempre igual a 4, ou seja, 100%. A soma dos números obtidos para cada variável foi anotada e transformada em porcentagem, estimando assim os totais de cada uma delas na colônia.

Foi considerado como estação do ano os meses completos, com todos os dias de cada mês, da seguinte forma: Primavera (os meses de setembro, outubro, novembro); Verão (dezembro, janeiro, fevereiro); Outono (março, abril, maio) e Inverno (junho, julho, agosto).

Os 4 períodos de experimento com coletas de mapeamentos ocorreram de 0 até 84 dias, com coletas de dados a cada 14 dias (dia 0, 14, 28, 42, 56, 70 e 84 dias). O primeiro período avaliado (Primavera 2015) durou de 0 a 84 dias. Já o segundo (Verão 2015/2016), o terceiro (Outono 2016) e o quarto (Inverno 2016) tiveram duração de 0 a 70 dias.

A introdução da dieta ocorreu por 42 ± 14 dias em cada período, por exemplo entre os dias 14 e 56 (conforme exemplo da Figura 14), somando um total de 168 dias com dieta, considerando os 4 períodos ou estações. Duas colônias receberam a dieta durante os períodos de avaliação e outras duas colônias foram consideradas como controles. As coletas de dados das reproduções de varroa foram realizadas mensalmente enquanto que as outras avaliações (mapeamentos e infestações) ocorreram a cada 14 dias. As infestações e reproduções do ácaro avaliadas foram comparadas nas análises estatísticas sempre com o mapeamento de 14 dias atrás, quando a infestação estava ocorrendo. Foram considerados 14 dias após introduzir e retirar a dieta como o período de influência da mesma nas infestações e reproduções dos ácaros.

Figura 14: Esquema representativo de uma unidade experimental (uma colônia que recebeu dieta e uma colônia controle) referente à segunda etapa dos experimentos, com testes com introdução de dieta, em um dos quatro períodos em que foram realizados.

3.4 Análises estatísticas

Para relacionar as variáveis climáticas com a infestação de varroa nas abelhas operárias adultas e nas crias, foi proposto o modelo de regressão linear com efeitos mistos (efeitos aleatórios e fixos). Os modelos lineares de efeitos mistos são utilizados na análise de dados em que as respostas estão agrupadas (mais de uma medida para um mesmo indivíduo) e a suposição de independência entre as observações num mesmo grupo não é adequada (SCHALL, 1991). Esses modelos têm como pressuposto que seus resíduos tem distribuição normal com média 0 e variância σ^2 constante. Pela infestação se tratar de uma variável que representa proporções, foi utilizada uma transformação logarítmica nesta variável a fim de tornar o espaço amostral irrestrito.

Para analisar as relações da reprodução da varroa com as variáveis de interesse (dados obtidos dos mapeamentos, presença ou ausência de dieta nas colônias, presença ou ausência natural de rainha e estações do ano), foi proposto um modelo linear generalizado com distribuição Poisson com função de ligação logarítmica. Já para analisar as relações da infestação de varroas com estas mesmas variáveis de interesse, foi proposto o modelo linear generalizado com distribuição Binomial e função de ligação logito.

Os gráficos apresentados foram gerados com o auxílio do software R, versão 3.4.0 (2017) e com o programa Microsoft Excel 2013-Windows 8.0. As análises foram realizadas através do SAS 9.2 (2011). Para todas as análises foi adotado o nível de significância $\alpha = 5\%$.

4. Resultados

4.1 Infestação e Reprodução do ácaro Varroa destructor em abelhas operárias Apis mellifera e as variáveis climáticas

4.1.1 Infestação do ácaro Varroa destructor nas abelhas Apis mellifera adultas e as variáveis climáticas

Foram realizadas ao total 56 avaliações de infestação, com uma média de nove avaliações em cada uma das seis colônias (mínimo de 8 e máximo de 11 avaliações).

A média geral da infestação de ácaros em abelhas operárias adultas das seis colônias estudadas foi de 5,99% no período de experimento, sendo que os graus mínimo e máximo de infestação encontrados foram 0,7% e 18,9%, respectivamente (Tabela 2).

Das 56 avaliações, três foram em colônias sem rainha. O grau máximo de infestação de varroas encontrado em uma das colmeias sem a presença natural de rainha foi 8,6% (Tabela 2). Outros cinco eventos sem rainha foram notados porém as avaliações não puderam ser realizadas nas abelhas adultas. Embora os números de avaliações em colônias com e sem rainha tenham sido bem diferentes um do outro (53 e 3, respectivamente), ambas as médias de infestação de varroas foram próximas a 6% (Tabela 2).

Tabela 2: Variáveis climáticas e média de Infestação (%) do ácaro *Varroa destructor* em abelhas operárias adultas *Apis mellifera* de seis colônias, sem ou com rainha, do Apiário Experimental da USP-Ribeirão Preto, no período de setembro de 2013 a maio de 2015

Abelhas Adultas						
Variáveis	**n**	**Média**	**Desvio Padrão**	**Mínimo**	**Mediana**	**Máximo**
Precipitação (mm)	13	2.61	2.41	0.00	2.10	8.50
Temperatura (ºC)	13	22.95	2.13	19.55	23.30	25.50
Umidade (%)	13	63.93	7.30	48.10	66.70	75.80
Infestação (%)	56	5.99	3.50	0.70	5.45	18.90
Rainha: Não	3	6.20	2.23	4.20	5.80	8.60
Rainha: Sim	53	5.98	3.57	0.70	5.40	18.90

n das variáveis climáticas: número de meses em que foram computados os dados de precipitação, temperatura e umidade correspondentes aos meses de avaliação das abelhas adultas; n da infestação: número total de avaliações em abelhas adultas realizadas no período de experimento.

Considerando os resultados obtidos por regressão linear para as abelhas adultas (Tabela 3), pode-se verificar que houve evidências de influência das variáveis temperatura ($p=0,02$) e umidade ($p<0,01$) na infestação de varroa.

Tabela 3: Efeito das variáveis climáticas e da variável presença ou ausência natural de rainha de abelha sobre a Infestação (%) do ácaro *Varroa destructor* em operárias adultas *Apis mellifera* de seis colônias do Apiário Experimental da USP-Ribeirão Preto avaliada avaliadas no período de setembro de 2013 a maio de 2015

Modelo de regressão linear com efeitos mistos				
Efeito	**Estimativa***	**IC 95%***		**Valor p**
Precipitação (mm)	-0.01	-0.08	0.05	0.70
Temperatura (ºC)	-0.10	-0.17	-0.02	**0.02**
Umidade (%)	0.03	0.01	0.05	**<0,01**
Rainha (Não x Sim)	0.08	-0.52	0.68	0.79

*foi utilizada a transformação logarítmica na variável resposta % de infestação; IC 95%: Intervalo de Confiança de 95%.

A temperatura apresentou valor negativo para a estimativa, portanto pode-se concluir que à medida que a temperatura aumenta, a infestação de varroas tende a diminuir. Já a umidade apresentou valor de estimativa positivo, o que poder ser interpretado como relação positiva, ou seja, à medida que aumenta a umidade, há aumento da infestação de varroas nas abelhas operárias adultas (Figura 15).

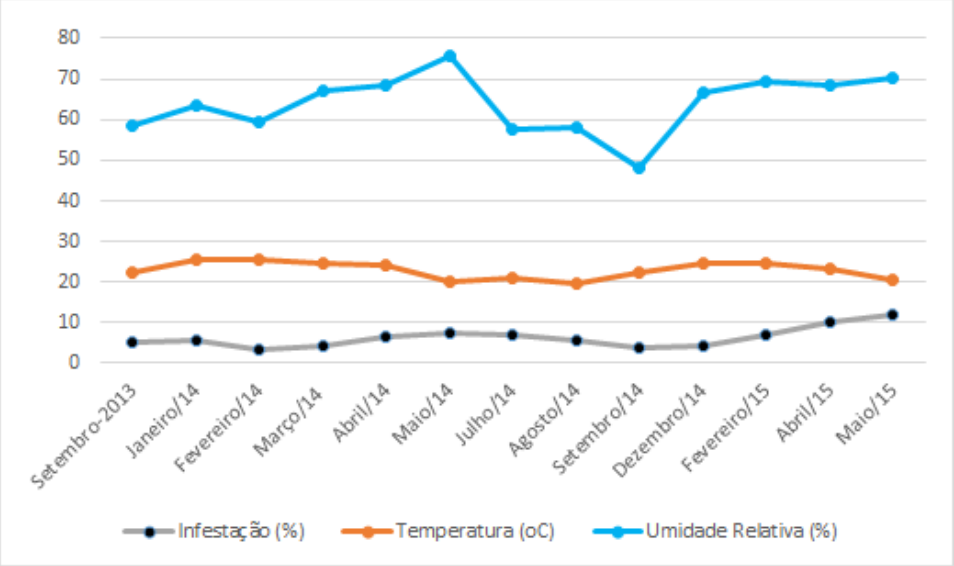


Figura 15: Infestação média (%) de *Varroa destructor* em abelhas operárias adultas de 6 colônias de *Apis mellifera* em 13 meses (médias mensais obtidas de 2 a 6 colônias) e médias mensais das variáveis climáticas Temperatura do ar (oC) e Umidade Relativa do ar (%)

A presença ou ausência de rainha na colônia não interferiu na infestação de varroas nas abelhas adultas (p=0,79) (Tabela 3).

Ao observar os valores das estimativas da temperatura e da umidade, em módulo, verifica-se um valor maior para a temperatura (0,10) e um valor menor para a umidade (0,03)

(Tabela 3). Pode-se inferir, portanto, que a alteração de uma unidade de temperatura (ºC) tende a modificar mais a infestação do que a alteração de uma unidade (%) de umidade. Sendo assim, as duas variáveis ambientais interferem na infestação de varroas nas abelhas adultas, porém a variável temperatura interfere mais que a umidade.

4.1.2 Infestação do ácaro Varroa destructor nas crias de abelhas operárias Apis mellifera e as variáveis climáticas

A média geral de infestação de varroas em crias de abelhas foi de 10,46% (mínimo 1% e máximo 62%) no período de setembro de 2013 a setembro de 2015 (Tabela 4).

Tabela 4: Variáveis climáticas e média de Infestação (%) do ácaro *Varroa destructor* em crias de operárias *Apis mellifera* de seis colônias, sem ou com rainha, do Apiário Experimental da USP-Ribeirão Preto avaliadas no período de setembro de 2013 a setembro de 2015

Crias de Abelhas						
Variáveis	**n**	**Média**	**Desvio Padrão**	**Mínimo**	**Mediana**	**Máximo**
Precipitação (mm)	19	2.65	2.94	0.00	1.50	10.90
Temperatura (ºC)	19	22.62	2.16	19.55	22.30	25.50
Umidade (%)	19	63.02	7.15	48.10	64.70	75.80
Infestação (%)	82	10.46	9.50	1.00	9.00	62.00
Rainha: Não	6	9.17	5.08	3.00	8.00	18.00
Rainha: Sim	76	10.57	9.78	1.00	9.00	62.00

n das variáveis climáticas: número de meses em que foram computados os dados de precipitação, temperatura e umidade; n da infestação: número total de quadros com crias operculadas avaliados no período de experimento.

Foram feitas no total 82 avaliações de quadros em seis colônias, cada uma com a verificação de 100 células de crias operculadas, totalizando 8.200 células avaliadas, das quais 858 apresentaram infestação de varroas. O número médio de avaliações em cada colônia foi de 14 quadros (mínimo de 12 e máximo de 15) ao longo do período de experimento. Pelo valor da mediana referente ao grau de infestação ter sido igual a 9, pode-se verificar que pelo menos metade das porcentagens encontradas para infestação de varroas nas crias apresentaram valores entre 1% e 9% (Tabela 4).

A ausência de rainha nas colônias foi observada 10 vezes no período do experimento, das quais em 6 delas houve a possibilidade de avaliação quanto à infestação de varroas. Tanto os quadros de crias avaliados sem rainha na colônia (n=6) quanto os avaliados em colônias com rainha (n=76) apresentaram médias próximas de 10% de infestação de ácaros (Tabela 4).

A presença ou ausência de rainha nas colônias não apresentou evidência de interferência deste evento na infestação de varroas em crias de abelhas operárias (p=0,43) (Tabela 5).

Tabela 5: Efeito das variáveis climáticas e da variável presença ou ausência natural de rainha de abelha sobre a Infestação (%) do ácaro *Varroa destructor* em crias de operárias *Apis mellifera* de seis colônias do Apiário Experimental da USP-Ribeirão Preto avaliad avaliadas no período de setembro de 2013 a setembro de 2015

Modelo de regressão linear com efeitos mistos				
Efeito	**Estimativa***	**IC 95%***		**Valor p**
Precipitação (mm)	0.01	-0.08	0.09	0.89
Temperatura (ºC)	-0.04	-0.14	0.05	0.39
Umidade (%)	0.04	0.02	0.07	**<0,01**
Rainha (Não x Sim)	0.26	-0.38	0.89	0.43

*foi utilizada a transformação logarítmica na variável resposta % de infestação; IC 95%: Intervalo de Confiança de 95%.

De acordo com a Tabela 5, há evidências de que as variáveis abióticas precipitação e temperatura não influenciaram na infestação de varroas nas crias de abelhas operárias. Já a variável umidade apresentou evidência de influência na infestação das crias (valor de p<0,01). A estimativa da umidade apresentou-se com um valor positivo, portanto há uma relação proporcional entre esta variável abiótica e a infestação de ácaros nas crias das abelhas operárias. Sendo assim, o aumento da umidade (%) no ambiente esteve relacionado ao aumento do grau de infestação de varroas verificado nas colônias (Figura 16).

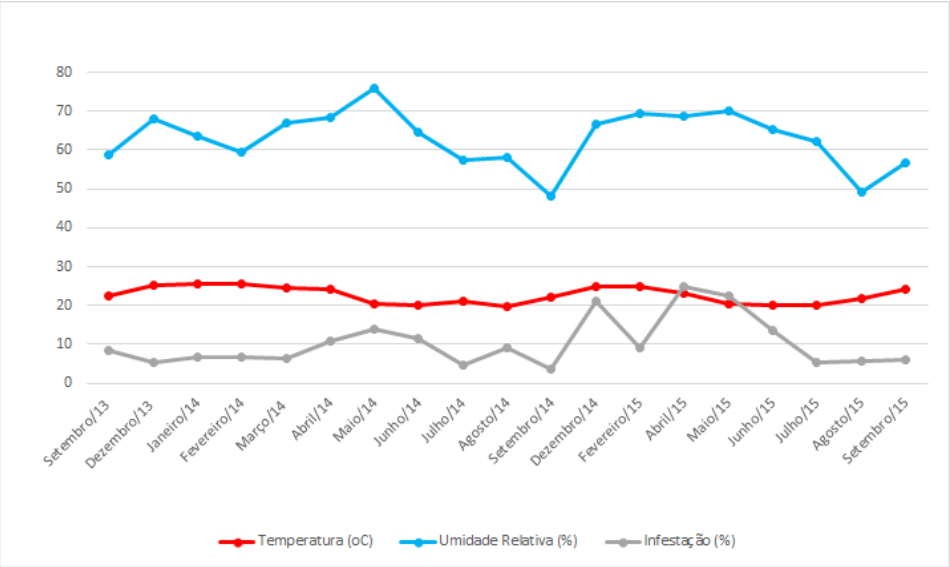


Figura 16: Infestação mensal média (%) de *Varroa destructor* em crias de abelhas operárias de 6 colônias *Apis mellifera* em 19 meses (médias mensais obtidas de 2 a 6 colônias) e médias mensais das variáveis climáticas Temperatura (ºC) e Umidade Relativa do ar (%).

4.1.3 Reprodução do ácaro Varroa destructor nas crias de abelhas operárias Apis mellifera e as variáveis climáticas

Nas 758 células de crias operculadas de operárias que foram encontradas infestadas com varroas e avaliadas quanto à reprodução do ácaro, obteve-se uma média geral de 4,24 ácaros por célula. Foram contabilizadas 9 observações de colônias que estavam sem rainha durante todo o período de experimento. Em 5 delas pode-se avaliar a reprodução das varroas, totalizando 52 células de crias investigadas nesta condição. Ambas as médias das reproduções em colônias sem e com rainha apresentaram valores próximos a 4 ácaros por célula infestada (Tabelas 6 e 7).

Tabela 6: Variáveis climáticas e média de Reprodução (quantidade de ácaros por célula infestada) do ácaro *Varroa destructor* em crias de operárias *Apis mellifera* em sete colônias, sem ou com rainha, do Apiário Experimental da USP-Ribeirão Preto no período de agosto de 2013 a agosto de 2015

Crias de Abelhas						
Variáveis	**n**	**Média**	**Desvio Padrão**	**Mínimo**	**Mediana**	**Máximo**
Precipitação (mm)	17	2.72	3.08	0.00	1.50	10.90
Temperatura (ºC)	17	22.68	2.17	19.55	22.30	25.50
Umidade (%)	17	63.29	7.41	48.10	65.40	75.80
Reprodução	758	4.24	2.13	0.00	4.00	15.00
Rainha: Não	52	4.12	2.08	1.00	4.00	10.00
Rainha: Sim	706	4.25	2.13	0.00	4.00	15.00

n das variáveis climáticas: número de meses em que foram computados os dados de precipitação, temperatura e umidade; n da reprodução: número total de células de cria de abelhas operárias avaliadas no período de experimento.

Tabela 7: Médias da Reprodução (± Desvio Padrão) de *Varroa destructor* em 758 células de crias de operárias de *Apis mellifera* em sete colônias, sem ou com rainha, do Apiário experimental da Universidade de São Paulo (Ribeirão Preto), avaliadas entre agosto de 2013 e agosto de 2015, sem dieta adicional proteica.

Colônias	C1	C1	C2	C2	C3	C3	C4	C4	C5	C5	C6	C6	C7	C7
Meses/Anos	n	Média (±D.P.)	n	Média (±D.P.)	n	Média (±D.P.)	n	Média (±D.P.)	n	Média (±D.P.)	n	Média (±D.P.)	n	Média (±D.P.)
Ago-13	9	2,67(±1,58)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Set-13	8	4,63(±1,19)	9	2,89 (±1,54)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dez-13	4	2,00(±1,41)	7	3,00 (±1,41)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Jan-14	2	2,50(±0,71)	11	5,00 (±1,34)	7	3,29 (±0,95)	-	-	-	-	-	-	-	-
Fev-14	10	4,20(±1,62)	9	4,44 (±1,94)	*	*	3	1,67 (±1,15)	9	4,56 (±1,42)	2	1,50 (±0,71)	-	-
Mar-14	7*	4,00(±2,71)	18 *	4,83 (±1,86)	4	4,75 (±2,50)	2	4,00 (±1,41)	4	2,25 (±1,50)	3	3,00 (±1,00)	-	-
Abr-14	10	3,70(±1,70)	14	3,79 (±1,48)	9	4,89 (±2,47)	3	3,00 (±2,65)	21	4,29 (±1,27)	6	4,17 (±2,14)	-	-
Maio-14	10	4,20(±1,32)	17	4,59 (±1,46)	17	4,47 (±1,70)	2	4,00 (±1,41)	21	3,90 (±1,95)	17	3,35 (±2,09)	-	-
Jul-14		-	-	-	-	-	2	1,00 (0,00)	-	-	7*	3,00 (±1,29)	-	-
Ago-14	6	4,50(±1,64)	4	3,50 (±1,73)	15	4,40 (±2,44)	9*	4,00 (±2,00)	9	4,11 (±1,36)	11 *	3,82 (±2,40)	-	-
Set-14	2	4,00(0,00)	3	5,67 (±1,53)	3	4,00 (0,00)	7	4,43 (±2,82)	3	4,50 (±2,12)	4	4,75 (±1,89)	-	-

Dez-14	17	3,88(±1,87)	18	4,06 (±1,76)	33	4,36 (±2,23)	18	3,94 (±1,63)	P	P	19	4,05 (±1,90)	-	-
Fev-15	16	4,63(±1,75)	16	5,06 (±3,00)	9	3,89 (±1,90)	*	*	-	-	3	2,67 (±2,08)	2	2,00 (±1,41)
Abr-15	*	*	62	5,35 (±3,10)	13	5,54 (±2,11)	33	3,73 (±1,66)	-	-	10	4,20 (±1,40)	7	4,29 (±2,14)
Maio-15	P	P	P	P	35	5,34 (±2,75)	**	**	-	-	*	*	10	3,70 (±1,57)
Jun-15	-	-	-	-	17	4,24 (±3,03)	11	4,73 (±1,01)	-	-	14	3,79 (±1,53)	12	2,33 (±1,87)
Ago-15	-	-	-	-	11	4,27 (±1,74)	6	5,00 (±1,26)	-	-	1	6,00 (0,00)	5	5,20 (±0,84)

n: número de células infestadas com varroa; C1 a C7: colônias de números 1 a 7 (Observação: a colônia 7 foi utilizada em substituição à colônia 5 quando esta foi perdida); * : troca natural de rainha na colônia podendo apresentar ausência de crias operculadas para avaliação; ** : ausência de crias de abelhas operárias para avaliação; - : avaliação da reprodução de varroa não realizada; P: perda de colônia.

Tabela 8: Efeito das variáveis climáticas e da variável presença ou ausência natural de rainha na colônia sobre a Reprodução (quantidade de ácaros por célula infestada) do ácaro *Varroa destructor* em crias de operárias *Apis mellifera* de sete colônias do Apiário Experimental da USP-Ribeirão Preto avaliadas no período de agosto de 2013 a agosto de 2015.

Modelo de regressão de Poisson com medidas repetidas				
Efeito	**Estimativa**	**IC 95%**		**Valor p**
Precipitação (mm)	-0.016	-0.035	0.004	0.11
Temperatura (ºC)	0.004	-0.023	0.032	0.76
Umidade (%)	0.001	-0.005	0.008	0.68
Rainha (Não x Sim)	-0.018	-0.091	0.056	0.64

IC 95%: Intervalo de Confiança de 95%.

Na análise da Reprodução de varroas pela regressão de Poisson, nenhuma variável climática mostrou evidência de influência na quantidade de ácaros (fêmea adulta original e suas proles) presentes nas células de crias de abelhas operárias ($p>0,05$). Tal como nas análises de infestação do ácaro, em abelhas adultas ou em crias, também não houve influência da presença ou ausência natural de rainha nas colônias sobre a reprodução de varroas ($p=0,64$) nas crias das abelhas operárias (Tabela 8).

4.2 Infestação e Reprodução do ácaro Varroa destructor nas crias de abelhas operárias Apis mellifera e a introdução de dieta proteica complementar nas colônias

Todos os resultados obtidos nesta segunda etapa de experimentos (setembro de 2015 a outubro de 2016), tiveram períodos de fornecimento de dietas proteicas complementares adicionadas em duas das quatro colônias avaliadas concomitantemente em cada um dos quatro períodos referentes às estações do ano: primavera de 2015, verão de 2015/2016, outono de 2016 e inverno de 2016, totalizando 350 dias de experimentos. Destes foram contabilizados 168 dias com dieta nas referidas colônias, sendo 42 dias para a primavera, 28 dias para o verão, 42 dias para o outono e 56 dias para o inverno.

4.2.1 Infestação de varroas relacionada à presença ou ausência de dieta adicional e de rainha nas colônias, aos dados de mapeamentos e às estações do ano

A média geral de infestação de varroas nas crias de abelhas operárias nesta 2ª etapa de experimentos foi de 8,9%. Foram feitas no total 88 avaliações de quadros em quatro colônias, concomitantemente, cada uma com a verificação de 100 células de crias de operárias operculadas, totalizando 8.800 células avaliadas. Destas, 783 estavam infestadas com varroas.

O número médio de avaliações em cada colônia foi de 22 quadros (mínimo de 19 e máximo de 25) ao longo do período de experimento.

Quanto aos mapeamentos foram feitas 99 avaliações ao total para cada variável (pólen, néctar operculado ou aberto, crias operculadas e crias abertas) (Tabela 9). Em uma das quatro colônias foram realizados 24 mapeamentos em vez de 25, pois esta sofreu pilhagem na última semana do período experimental e foi perdida. O comportamento de pilhagem ou "saque" pode ocorrer quando a colônia está fraca e com poucas abelhas guarda. Então há roubo de alimento por abelhas vindas de outras colônias, ocasionando morte de muitas abelhas e até a perda da colônia.

Tabela 9: Variáveis de mapeamento e média de Infestação (%) do ácaro *Varroa destructor* em crias de operárias *Apis mellifera* de quatro colônias do Apiário Experimental da USP-Ribeirão Preto avaliadas no período de setembro de 2015 a outubro de 2016

Mapeamento – Infestação						
Variáveis (%)	**n**	**Média**	**Desvio Padrão**	**Mínimo**	**Mediana**	**Máximo**
Pólen	99	6.85	3.87	0.00	6.48	16.87
Néctar op. e ab.	99	36.71	12.67	2.45	35.32	61.64
C.O.	99	18.17	9.80	0.00	18.12	39.22
C.A.	99	16.13	7.79	0.00	16.07	32.34
Infestação (%)	88	8.90	8.32	0.00	6.00	34.00

Néctar op. e ab: néctar operculado e aberto; C.O.: crias operculadas; C.A.: crias abertas; n das variáveis de mapeamento: número total de avaliações no período de experimento**;** n da infestação: número total de quadros de crias de abelhas operárias avaliados.

Houve um aumento de mais de 3% no grau de infestação de varroas nas crias de abelhas em colônias que receberam a dieta proteica adicional (10,97%) em comparação com as que não a receberam (7,83%) (Tabela 10). Entretanto esse aumento não foi considerado significativo (p=0,85) (Tabela 11).

Tabela 10: Médias de Infestação (%) de *Varroa destructor* relacionadas às variáveis presença ou ausência de dieta, presença ou ausência de rainha e às estações do ano, em crias de abelhas operárias de quatro colônias de *Apis mellifera* do Apiário Experimental da USP-Ribeirão Preto no período de setembro de 2015 a outubro de 2016

Infestação (%)							
Variáveis		**n**	**Média**	**Desvio Padrão**	**Mínimo**	**Mediana**	**Máximo**
Dieta	**Não**	58	7.83	7.35	0.00	6.00	31.00
	Sim	30	10.97	9.74	1.00	7.00	34.00
Estação do ano	**inverno**	29	8.34	7.72	0.00	7.00	34.00
	outono	19	13.74	10.02	1.00	11.00	33.00
	primavera	24	5.58	6.23	0.00	2.50	24.00
	verão	16	9.13	7.90	0.00	7.50	31.00
Rainha	**Não**	3	22.33	16.77	3.00	31.00	33.00
	Sim	85	8.42	7.64	0.00	6.00	34.00

n: número de quadros de crias de operárias avaliados.

Quanto às estações do ano, o outono apresentou os maiores graus de infestação do ácaro, em seguida o verão, o inverno e a primavera, que apresentou o menor valor médio (Tabela 10 e Figura 17).

A ausência da rainha nas colônias foi observada quatro vezes ao longo do período de experimento. Em três delas foi possível verificar a infestação de varroas nas crias de operárias e foi verificado um grau de infestação superior a 22% em média (Tabela 10).

Tabela 11: Efeito das variáveis de mapeamento (pólen, néctar, crias operculadas e crias abertas), presença ou ausência de dieta, presença ou ausência natural de rainha e estações do ano sobre a Infestação (%) do ácaro *Varroa destructor*, em crias de operárias *Apis mellifera* de quatro colônias do Apiário Experimental da USP-Ribeirão Preto, no período de setembro de 2015 a outubro de 2016.

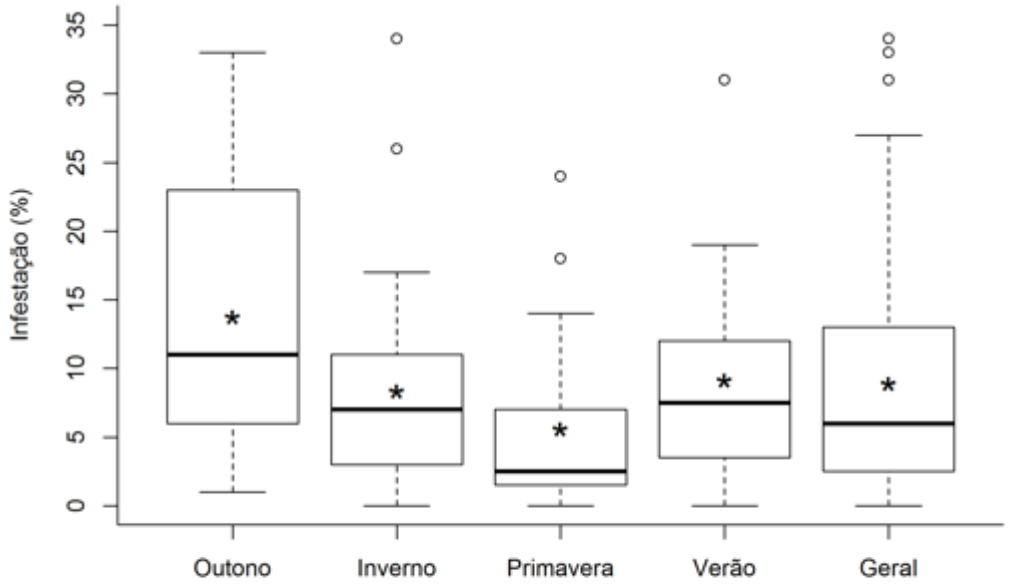
Modelo de regressão binomial com medidas repetidas				
Efeito	**Estimativa**	**IC 95%**		**Valor p**
Pólen	-0.055	-0.086	-0.025	**<0,01**
Néctar op. e ab.	0.034	0.018	0.051	**<0,01**
C.O.	0.030	0.009	0.051	**<0,01**
C.A.	-0.043	-0.061	-0.025	**<0,01**
Dieta (Não x Sim)	-0.013	-0.146	0.120	0.85
Rainha (Não x Sim)	0.695	0.141	1.249	**0.01**
Estação (inverno x verão)	-0.515	-0.868	-0.162	**<0,01**
Estação (outono x verão)	0.067	-0.473	0.607	0.81
Estação (primavera x verão)	-0.616	-1.225	-0.008	**0.05**
Estação (inverno x outono)	-0.582	-0.929	-0.236	**<0,01**
Estação (inverno x primavera)	0.101	-0.264	0.466	0.59
Estação (outono x primavera)	0.683	0.367	1.000	**<0,01**

Néctar op. e ab: néctar operculado e aberto; C.O.: crias operculadas; C.A.: crias abertas; IC 95%: Intervalo de Confiança de 95%.

Os efeitos das variáveis dos mapeamentos foram todos significativos com relação à infestação de varroas nas crias de operárias ($p<0,01$). Os valores de estimativa negativos indicam uma relação negativa ao considerar o aumento da infestação de varroas e os valores de estimativa positivos indicam relação positiva com o aumento de infestação. Sendo assim, pela análise de regressão binomial, quanto maior foi a porcentagem de pólen e de cria aberta nas colônias, o grau de infestação tendeu a ser menor. Já as colônias que foram apresentando maiores porcentagens de néctar e de crias operculadas tenderam a apresentar maiores graus de infestação de varroas nas crias das abelhas operárias (Tabela 11).

A influência da presença ou ausência natural de rainha nas colônias foi significativa ($p=0,01$) ao avaliar o grau de infestação de varroas. O valor da estimativa positivo (0,695) indica que a ausência de rainha na colônia está relacionada ao aumento de infestação de varroas, ou seja, as colônias que não apresentavam rainha apresentaram maior grau de infestação (Tabela 11).

Quanto às épocas do ano (estações), houve evidência de diferença significativa, por exemplo, entre as estações inverno e verão ($p<0,01$), sendo que o inverno apresentou menores infestações que o verão. Entre primavera e verão também houve evidência de diferença ($p=0,05$), sendo que a estação verão apresentou maiores infestações de ácaros nas colônias que a primavera. Entre inverno e outono e entre outono e primavera houve também evidências de diferença nas infestações de ácaros nestas estações ($p<0,01$), sendo que o outono apresentou maior infestação que o inverno ou a primavera. Não houve evidências de diferença na infestação de varroas entre o outono e o verão ($p=0,81$) e entre o inverno e a primavera ($p=0,59$) (Tabela 11 e Figura 17).



* = média de infestação de varroas nas crias de abelhas operárias
Faixas escuras = medianas
Barras de menor e o maior valor em cada estação do ano = amplitude dos dados

Figura 17: Grau médio de Infestação (%) de *Varroa destructor* em crias de operárias *Apis mellifera* em diferentes sazonalidades em quatro colônias do Apiário Experimental da USP-Ribeirão Preto no período de setembro de 2015 a outubro de 2016

4.2.2 Reprodução de varroas relacionada à presença ou ausência de dieta adicional e de rainha nas colônias, aos dados de mapeamentos e às estações do ano

Foram feitas no total 45 avaliações de quadros contendo crias operculadas em quatro colônias, concomitantemente, cada uma com a verificação de 100 células, totalizando 4.500 células avaliadas. Destas, 351 estavam infestadas e foram avaliadas quanto à reprodução dos ácaros (contagem do número de indivíduos). A média geral da quantidade de varroas encontradas por célula infestada nos quadros de crias de abelhas operárias nesta 2ª etapa foi de 3,71%.

Quanto aos mapeamentos foram realizadas ao total 54 avaliações para cada variável (pólen, néctar operculado ou aberto, crias operculadas e crias abertas) (Tabela 12). Estas variáveis não apresentaram porém efeitos significativos sobre a reprodução de varroas no período estudado ($0,51 \leq p \leq 0,98$) (Tabela 14).

Tabela 12: Variáveis de mapeamento (%) e média de Reprodução (quantidade de ácaros por célula infestada) de *Varroa destructor* em crias de abelhas operárias *Apis mellifera* de quatro colônias do Apiário Experimental da USP-Ribeirão Preto, avaliadas no período de setembro de 2015 a outubro de 2016

Mapeamento – Reprodução						
Variáveis	**n**	**Média**	**Desvio Padrão**	**Mínimo**	**Mediana**	**Máximo**
Pólen	54	6.89	3.89	0.00	6.38	15.94
Néctar op. e ab.	54	35.45	13.06	2.45	34.29	61.64
C.O.	54	17.29	9.93	0.00	17.43	35.98
C.A.	54	16.27	7.81	0.00	16.04	32.34
Reprodução	351	3.71	1.91	0.00	4.00	10.00

Néctar op. e ab: néctar operculado e aberto; C.O.: crias operculadas; C.A.: crias abertas; n das variáveis de mapeamento corresponde ao número total de avaliações de cada variável no período de experimento; n da reprodução corresponde ao número total de células verificadas quanto à reprodução de varroas.

Houve um pequeno aumento na média de reprodução de ácaros nas colônias que receberam a dieta proteica adicional (de 3,55 para 3,97) e também nas colônias que estavam naturalmente sem rainha (de 3,62 para 4,09) em comparação às colônias sem dieta (controles) e com rainha, respectivamente (Tabela 13). Entretanto, considerando o conjunto de avaliações no período, não houve evidência de que estes aumentos fossem relevantes (valores de $p>0,9$) (Tabela 14).

Tabela 13: Médias de Reprodução (quantidade de ácaros por célula infestada) de *Varroa destructor* relacionadas às variáveis presença ou ausência de dieta, presença ou ausência de rainha e às estações do ano, em crias de abelhas operárias de quatro colônias de *Apis mellifera* do Apiário Experimental da USP-Ribeirão Preto, no período de setembro de 2015 a outubro de 2016

Reprodução							
Variáveis		**n**	**Média**	**Desvio Padrão**	**Mínimo**	**Mediana**	**Máximo**
Dieta	**Não**	217	3.55	1.98	0.00	4.00	10.00
	Sim	134	3.97	1.76	1.00	4.00	8.00
Estação do ano	**inverno**	59	3.95	1.78	0.00	4.00	8.00
	outono	71	4.59	1.75	1.00	5.00	10.00
	primavera	102	3.26	1.96	1.00	3.00	9.00
	verão	119	3.45	1.84	0.00	4.00	10.00
Rainha	**Não**	64	4.09	1.85	1.00	4.00	9.00
	Sim	287	3.62	1.91	0.00	4.00	10.00

n: número total de células verificadas quanto à reprodução de varroas.

Ao realizar uma análise mais minuciosa, mês a mês, comparando a reprodução de varroas das colônias com dieta (colônias 3 e 4) com a das colônias sem dieta (colônias 6 e 7

ou 6 e 8), pode-se observar diferença significativa, através do teste t de Student, nos meses de setembro de 2015 e de fevereiro de 2016.

Para o mês de setembro de 2015, o valor médio de reprodução nas colônias com dieta (4,00 ± 1,41) foi significativamente maior que nas colônias sem dieta (2,50 ± 1,20), valor de p=0,0166. Para o mês de fevereiro de 2016, também foi significativamente maior o valor médio da reprodução de varroas das colônias com dieta (4,40 ± 1,77) em relação às colônias sem dieta (2,70 ± 1,56), valor de p=0,00244.

Os demais meses não apresentaram diferença com relação à variável dieta proteica adicional.

Por três vezes foram observadas colônias sem a presença natural de rainha. Em duas delas pode-se avaliar as reproduções dos ácaros e foram contabilizadas e identificadas um total de 64 famílias de varroas das respectivas células infestadas nestas duas colônias (Tabela 13).

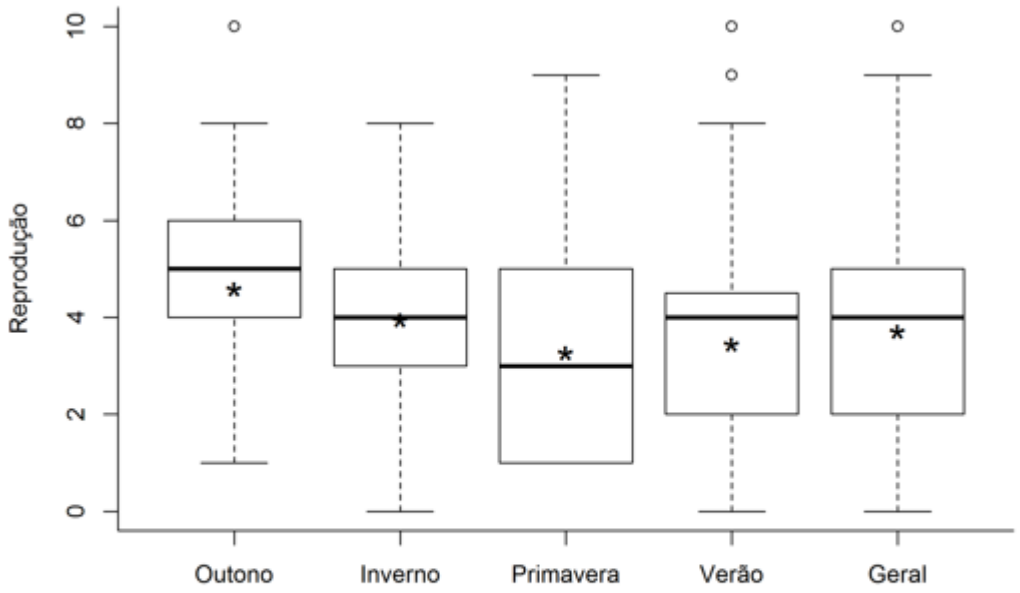
Ao avaliar as taxas de reprodução do ácaro nas diferentes estações do ano pode-se notar valores médios bem próximos, em torno de 3 ou 4 ácaros por célula de operária infestada. A estação outono apresentou a maior média de reprodução de ácaros (4,59), em seguida as estações inverno, verão e primavera com a menor reprodução média (3,26 ácaros por célula infestada) (Tabela 13).

Tabela 14: Efeito das variáveis de mapeamento (pólen, néctar, crias operculadas e crias abertas), presença ou ausência de dieta, presença ou ausência natural de rainha e estações do ano sobre a Reprodução (quantidade de ácaros por célula infestada) de *Varroa destructor* em crias de operárias *Apis mellifera* de quatro colônias do Apiário Experimental da USP-Ribeirão Preto, no período de setembro de 2015 a outubro de 2016.

Modelo de regressão de Poisson com medidas repetidas				
Efeito	**Estimativa**	**IC 95%**		**Valor p**
Pólen	0.001	-0.004	0.006	0.62
Néctar op. e ab.	0.000	-0.009	0.009	0.98
C.O.	-0.006	-0.025	0.014	0.55
C.A.	0.005	-0.011	0.022	0.51
Dieta (Não x Sim)	-0.010	-0.187	0.168	0.92
Rainha (Não x Sim)	0.004	-0.170	0.178	0.97
Estação (inverno x verão)	0.168	0.079	0.258	**<0,01**
Estação (outono x verão)	0.272	0.192	0.352	**<0,01**
Estação (primavera x verão)	0.013	-0.125	0.151	0.85
Estação (inverno x outono)	-0.104	-0.153	-0.055	**<0,01**
Estação (inverno x primavera)	0.155	0.027	0.282	**0.02**
Estação (outono x primavera)	0.258	0.176	0.341	**<0,01**

Néctar op. e ab: néctar operculado e aberto; C.O.: crias operculadas; C.A.: crias abertas; IC 95%: Intervalo de Confiança de 95%.

As estações do ano apresentaram evidências de diferença entre suas médias de reprodução do ácaro varroa em quase todas as comparações duas a duas. O outono apresentou média de reprodução de varroas significativamente maior que o inverno, o verão e a primavera (valores de p<0,01). A estação do inverno apresentou média de reprodução significativamente maior que o verão (p<0,01) e a primavera (p=0,02). Não houve evidência de diferença nas taxas de reprodução do ácaro entre as estações primavera e verão (p=0,85) (Tabela 14 e Figura 18).



* = média de reprodução de varroas nas crias de abelhas operárias
Faixas escuras = medianas
Barras de menor e o maior valor em cada estação do ano = amplitude dos dados

Figura 18: Reprodução média de *Varroa destructor* em crias de operárias *Apis mellifera* em diferentes sazonalidades em quatro colônias do Apiário Experimental da USP-Ribeirão Preto no período de setembro de 2015 a outubro de 2016.

5. Discussão

Notou-se a ocorrência de perdas de colônias no decorrer dos experimentos. Message et al. (2011) observaram perdas de colônias de abelhas Africanizadas nas regiões sudeste e sul do Brasil, inclusive na região do campus da USP de Ribeirão Preto. Pela técnica de PCR (Polymerase Chain Reaction) foi possível a detecção, em abelhas forrageiras, dos vírus IAPV (Israeli Acute Paralysis Virus), APV (Acute Paralysis Virus), DWV (Deformed Wing Virus) e BQCV (Black Queen Cell Virus), dos microsporídios *Nosema ceranae* e *Nosema apis* e do ácaro *V. destructor*. Estes autores sugerem a hipótese de abandono anormal da colônia, causado por colapso comportamental que poderia ser resultante de sinergismo envolvendo diversos fatores como patógenos detectados, condições climáticas e possíveis resíduos de inseticidas.

No presente trabalho, além da infestação pelo ácaro, foi observado outro possível patógeno pela presença de operárias com asa enrolada, sugerindo a existência do vírus DWV nas colônias. Estes e outros fatores como o clima, a baixa disponibilidade de alimentos podem ter colaborado para a perda de colônias ao longo do experimento. Foi observado também fezes de *Galleria mellonella* (traça da cera) nas colônias evidenciando outro tipo de perturbação presente nas mesmas. Corrêa-Marques e De Jong (1998) também encontraram fezes de *Galleria mellonella* em colmeias de abelhas da mesma região de Ribeirão Preto.

5.1 Sobre a infestação de varroas em abelhas adultas e a influência das variáveis climáticas

As avaliações das abelhas adultas neste trabalho ocorridas entre 2013/2015 resultaram em valores de infestação de varroas com média próxima a 6% (mínima de 0,70% e máxima de 18,90%) (Tabela 2), sendo bem semelhante aos valores médios encontrados por Corrêa-Marques (2000), em avaliações mensais de colônias no mesmo apiário experimental, cerca de 14 anos atrás, em 1998/1999 (valores abaixo de 5%, com infestações mínima e máxima de 1,5 e 4,4%, em 10 colônias avaliadas). Em trabalho realizado em apiário próximo a Ribeirão Preto, na região de Restinga-SP, por Turcatto et al. (2011), a infestação média de varroas em abelhas Africanizadas adultas foi de 0,95% e 1,90% nos respectivos meses de maio e junho de 2005 e de 0,90% e 4,43% nos meses de abril e junho de 2007. Os autores encontraram o valor máximo de 6,50% de infestação em adultas em uma das quatro colônias avaliadas em 2007.

Em outros locais do Brasil também foram relativamente baixas as porcentagens de infestação de varroas em abelhas adultas. No trabalho realizado por Bacha Júnior et al. (2009)

verificou-se, em geral, níveis médios de infestação de varroas em abelhas adultas que variou de 3,32 % a 12,75 %, entre os apiários avaliados na região de Viçosa-MG. Martínez (2012) avaliou a infestação de varroas em abelhas adultas na região de Jacuí, sul/sudoeste de Minas Gerais e a maioria das colônias avaliadas apresentaram infestação entre 1 e 5% (infestação mínima<1% e máxima=8%). Em outras duas avaliações deste mesmo estudo, realizadas na região de Bambuí, também Minas Gerais, foram verificados os valores médios de 5,94% e 9,50% na primeira e segunda observações. No entanto, em uma das colônias avaliadas, foi encontrada uma taxa alta de infestação de varroas de 27%. A maior infestação de ácaros em abelhas adultas encontrada no presente estudo foi 18,9%, em uma das colônias. Esta colônia possuía ausência de crias de operárias na data da avaliação das adultas e a população de varroas provavelmente deve ter se transferido às abelhas adultas para a alimentação de hemolinfa.

Em consequência a estas alterações nas colônias devido às mudanças ambientais (temperatura, umidade, chuvas, disponibilidade de alimento no campo, etc.) é possível que haja também alterações nas populações parasitárias das abelhas como a do ácaro *Varroa destructor*. Segundo Brandeburgo (1979), o ambiente exerce em geral uma influência no comportamento das abelhas. E segundo autores citados por este pesquisador, em épocas em que os dias têm menor duração (como ocorre no inverno), há declínio na atividade de voo das abelhas (menos tempo para forrageamento). Há também a diminuição do crescimento da colônia e da quantidade de crias.

O presente estudo revelou tendências estatisticamente significativas relacionadas ao grau de infestação do ácaro em abelhas adultas em duas das três variáveis climáticas consideradas: temperatura do ar e umidade relativa do ar. Houve a tendência ao aumento do grau de infestação de ácaros nas abelhas adultas à medida que a temperatura diminuiu ou à medida que a umidade aumentou (Tabela 3).

Corrêa-Marques (2000) também verificou a influência da temperatura do ar na infestação de ácaros em abelhas adultas com a mesma tendência da encontrada neste estudo. Esta autora verificou maior infestação na época de temperaturas mais baixas (julho) e infestações menores em temperaturas mais elevadas.

Quanto à umidade, porém, Corrêa-Marques (2000) não encontrou influência significativa com relação à infestação das abelhas adultas, o que foi diferente deste trabalho, que apresentou relação positiva entre umidade e infestação. Isso talvez possa estar relacionado com as variações nas umidades médias anuais nos diferentes anos de ambas as pesquisas, 1998 e 1999 e no biênio 2013/2015 (presente estudo) e a diferença em torno do valor médio

(desvio padrão) entres as umidades máxima e mínima foi maior entre as medidas computadas no presente estudo. As médias das principais variáveis climáticas analisadas em 1998/1999 por Corrêa-Marques (2000) foram calculadas em 23,13 (±1,83) ºC para a temperatura do ar e 70,1(±8,97) % para a umidade relativa do ar. A temperatura foi muito semelhante ao valor encontrado neste estudo, cuja temperatura média bienal (2013/2015) foi de 22,9 (±2,19). Já com relação à umidade do ar, houve uma diminuição de aproximadamente 8 % ao se comparar as médias entre os dois períodos, de agosto de 1998 a setembro de 1999 e de agosto de 2013 a agosto de 2015, cuja umidade relativa média foi de 62,2 (±8,15) %.

5.2 Sobre a infestação e a reprodução de varroas em crias de abelhas operárias e a influência das variáveis climáticas

5.2.1 Sobre infestação de varroas nas crias de abelhas operárias e as variáveis climáticas

A média geral de infestação do ácaro *V. destructor* nas crias de abelhas operárias neste estudo foi 10,46% e apresentou relação significativa somente com a umidade relativa do ar, sendo esta uma relação positiva (Tabelas 4 e 5). Corrêa-Marques (2000) obteve média geral de infestação de varroas nas crias de abelhas de 8,58% (mínima de 0 e máxima de 34%) em 10 colônias no mesmo apiário experimental deste estudo, em experimentos realizados entre 1998 e 1999. A autora encontrou correlação negativa entre infestação de varroas nas crias de abelhas e as temperaturas mínimas do ambiente (os meses com menor temperatura apresentaram maiores infestações). A pesquisadora não encontrou correlação entre infestação e precipitação, como neste estudo, ou entre infestação e umidade relativa do ar, o que foi diferente do presente estudo. Laere (1965) apud Brandeburgo (1979) estudou o desenvolvimento das crias e encontrou relação com a umidade do ar, porém com a temperatura externa não houve relação, assim como no presente estudo.

Os autores Human et al. (2006) pesquisaram condições internas de colônias de abelhas africanas *A. m. scutellata*, quanto às variáveis temperatura e umidade, na região de Pretória, África do Sul (latitude equivalente ao estado do Paraná, no Brasil), em época de seca e período de inverno na região. O estudo revelou que as abelhas operárias são capazes de influenciar a umidade dentro da colônia. No entanto há dificuldades em se alcançar o nível de umidade ótima porque a umidade ótima pode variar de acordo com a região interna do ninho. A umidade também pode depender de fatores externos que são variáveis, como a disponibilidade de água, o que pode dificultar ainda mais essa regulação. Além disso, há as

trocas com a regulação de temperatura e de gases respiratórios no ninho, o que pode interromper o estabelecimento de níveis ótimos de umidade. Assim, os autores argumentam que as abelhas operárias podem apenas ajustar a umidade interna da colônia dentro de limites sub-ótimos. Os pesquisadores observaram que a umidade relativa aumentou durante o dia na área de néctar, enquanto decresceu na área de cria. À noite, essa tendência foi oposta, ou seja, diminuiu durante a noite na área de néctar e aumentou na área de cria. Os autores sugerem que uma umidade mais alta na região das crias seja mantida pela presença das operárias, uma vez que nesta região há pouco néctar como fonte de água com tendência à evaporação por causa da alta temperatura mantida na área de crias (em torno de 35 ºC). Para estes autores a umidade relativa ótima para o desenvolvimento das crias de abelhas é em torno de 40%. As flutuações diárias da umidade na área de cria e de néctar podem ser decorrentes do processo de amadurecimento do mel. A ventilação necessária para evacuar o excesso de vapor de água gerado pela concentração de néctar pode diminuir o nível de umidade nas crias, uma vez que essas duas áreas compartilham da mesma atmosfera, mas não das mesmas fontes potenciais de vapor de água (néctar ou transpiração).

A modificação da umidade requer coleta de água ou néctar fora da colmeia e a sua evaporação, cada etapa adicionando variabilidade no mecanismo de regulação. As limitações ao ajuste de umidade também podem ocorrer quando não há água disponível (durante a seca ou à noite) ou quando não há forrageiras disponíveis para coleta de água (WOHLGEMUTH, 1957) apud Human et al. (2006). Diante desta dinâmica interna da colônia, com tentativas de manter temperaturas e umidades em níveis ótimos para o desenvolvimento das abelhas, provavelmente há também o fornecimento das condições ideais ao desenvolvimento de parasitas como o ácaro varroa.

Não encontrar relação entre a infestação de varroas nas crias e a temperatura ambiente pode ter sido devido ao cálculo feito com valores das temperaturas médias de cada mês (entre mínimas e máximas), enquanto que Corrêa-Marques (2000) correlacionou com as médias mínimas e máximas separadamente e encontrou relação inversa com as temperaturas mínimas. As variações nas temperaturas médias mensais encontradas na região de Ribeirão Preto, em ambos os trabalhos, foram praticamente idênticas. No período de estudo entre setembro de 2013 e agosto de 2015 (presente estudo), a menor média mensal entre mínima e máxima foi 19,6 ºC –agosto de 2014 - e a maior foi 25,5 ºC – janeiro e fevereiro de 2014. Ao verificar as médias mensais através de um recálculo com os dados de Corrêa-Marques (2000) (média entre as temperaturas mínimas e máximas de cada mês), no período de setembro de

1998 a setembro de 1999, a menor média mensal foi 19,8 ºC – maio de 1999 – e a maior foi 25,3 ºC – janeiro de 1999, valores praticamente idênticos nos dois estudos.

Ruttner e Marx (1984) levantaram a hipótese de haver relação com o clima subtropical do Uruguai a baixa infestação e reprodução de varroas nas crias de abelhas, que consistiam em populações híbridas provenientes de cruzamentos entre raças europeias (*A. m. iberica*, *A. m. ligustica* e *A. m. carnica*).

5.2.2 Sobre reprodução de varroas nas crias de abelhas operárias e as variáveis climáticas

Ao analisar a reprodução de varroas, neste estudo, com média geral de 4,24 ácaros por célula infestada, as variáveis climáticas umidade, bem como temperatura e precipitação, não mostraram evidências de influência. A umidade relativa do ar variou entre as médias de 48,1 e 75,8% nos meses de experimento (Tabela 6) e considerando os resultados de Kraus e Velthuis (1997), com estes níveis de umidade espera-se boa reprodução de varroas. Corrêa-Marques (2000) também não encontrou, como neste estudo, relação significativa da reprodução de varroas com as variáveis climáticas precipitação, temperatura do ar ou umidade relativa do ar. A taxa de reprodução total do ácaro encontrada por esta autora foi 4,05 (número de descendentes por varroa adulta), sendo que mais de 70% das varroas produziram prole, porém apenas 40% delas produziram descendência viável, ou seja, com presença do macho e de pelo menos uma fêmea com possibilidade de atingir a maturidade ao emergir a abelha adulta.

Não encontrar influência dessas variáveis sobre a reprodução do ácaro *Varroa destructor* parece demonstrar a não relevância desses fatores abióticos na região de Ribeirão Preto, tanto em experimentos realizados em 1998/1999 (CORRÊA-MARQUES, 2000) como os deste estudo, em 2013/2015.

Kraus e Velthuis (1997), estudando a reprodução de ácaros em abelhas à temperatura controlada de 34 ºC, relataram que as fêmeas de varroa foram muito sensíveis à alta umidade e quase não se reproduziram quando a umidade relativa foi acima de 80%. Ao contrário, reproduziram-se melhor em níveis mais baixos de umidade (entre 59 e 68%), valores próximos às umidades médias na maioria dos meses considerados no presente estudo. Ainda assim estes autores encontraram que a reprodução (presença de prole) foi verificada em pouco mais de 50% das fêmeas de varroa.

A habilidade reprodutiva das fêmeas do ácaro, foi avaliada em pupas de operárias de 17-18 dias de idade, obtidas de oito colmeias de abelhas Africanizadas, durante 12 meses, na região de Blumenal-SC. O número médio total de descendentes (deutoninfas, protoninfas e

ovos) que cada varroa produziu foi de 3,18 (±0,19). Para o número médio total de deutoninfas e protoninfas foi, respectivamente, 1,57 (±0,15) e 1,61 (±0,14). Os índices de infestação demonstram que a praga continua alcançando baixos níveis, sendo que a média foi de 4,11 (±3,42) %, embora a habilidade reprodutiva do ácaro tenha sido em um nível alto (CARNEIRO et al. 2014).

Corrêa-Marques et al. (2003) compararam dados de reprodução de varroas em pesquisas realizadas no Brasil, no México (ambos com abelhas Africanizadas) e na Inglaterra (com abelha europeia). Os dados foram comparados através da análise da taxa de reprodução efetiva da varroa, ou seja, o número de fêmeas viáveis por fêmea invasora da célula de cria de operária. Os resultados da taxa de reprodução efetiva dentro das células de crias de operárias foi de 0,64 no Brasil, de 0,73 no México e de 1,01 na Inglaterra.

5.3 Sobre a presença ou ausência natural de rainha nas colônias em ambas as etapas de experimento

Na primeira etapa dos experimentos (agosto-13 a agosto-15), pode-se notar que os valores de infestação em abelhas adultas (n=3 colônias sem rainha ou n=1.614 abelhas coletadas para avaliação), apesar de terem sido levemente maiores em colônias sem rainha, não foi significativo (Tabelas 2 e 3). Já nas crias de abelhas, os valores médios de infestação e reprodução foram levemente menores nas colônias sem rainha que nas colônias com rainha, não apresentando variações com diferenças significativas (Tabelas 4 e 5 para infestação e Tabelas 6 e 8 para reprodução). Para a infestação de varroas foi avaliado um n=6 quadros de crias de colônias sem rainha com um total de 55 células de cria de abelhas avaliadas nesta condição.

Na segunda etapa dos experimentos (entre setembro/15 a outubro/16), as colônias sem a presença de rainha apresentaram um grau significativamente maior de infestação nas crias de abelhas (n=3 colônias ou n=67 células contendo prole de varroas em colônias sem rainha) (Tabelas 10 e 11). Já para a reprodução de varroas, houve também um pequeno aumento verificado nas colônias sem rainha, porém não foi significativo (Tabelas 13 e 14).

Um questionamento seria por que uma etapa de experimentos não apresentou diferença significativa na infestação de varroas (n=55 células em colônias sem rainha) e em outra etapa sim (n=67 células)? O fato de ter havido resultados divergentes, pode ser devido à possibilidade de haver diferenças no grau de infestação de varroas dependendo do dia da avaliação, se mais próximo ou não da colônia ter se tornado órfã, e também parece depender

do quadro de cria escolhido para avaliação. De acordo com Mendonça (2017) (dados ainda não publicados) a infestação de varroas (número de varroas encontradas em 200 larvas de abelhas por colônia, com rainha ausente) parecem variar de acordo com o dia, a partir do momento em que a colônia tornou-se órfã (ao menos nos 4 primeiros dias – período avaliado pela autora). Além disso, parece haver influência da presença de realeiras (no quadro avaliado) na quantidade de infestação do ácaro, podendo ter maior infestação nas células mais próximas do local das realeiras, o que pode, portanto, influenciar o grau de infestação de acordo com o quadro de crias, se possui ou não realeiras e a quantidade das mesmas.

De Jong (1981) sugere que embora as células contendo larva de rainha geralmente não são invadidas por varroas, a presença dessas células na colônia pode desempenhar algum papel na infestação da fêmea adulta de varroa nas crias das abelhas em idade apropriada. O estudo mostrou um aumento da infestação em colônias contendo célula de rainha (colônias órfãs), concordando com os resultados obtidos na segunda etapa do presente estudo onde também houve aumento significativo do grau de infestação do ácaro em colmeias sem rainha, com presença de realeiras. O autor ambém observou que o número de varroas foi maior em quadros de crias que tinham células de rainha construídas em comparação com outras partes do ninho contendo crias.

5.4 Sobre a infestação e reprodução do ácaro Varroa destructor nas crias de abelhas operárias Apis mellifera relacionadas à presença ou ausência de dieta adicional na colônia, aos dados de mapeamentos e às estações do ano

5.4.1 Sobre as dietas

De acordo com os resultados deste estudo, a presença da dieta proteica utilizada nas colônias não apresentou evidência de influência sobre a infestação ou reprodução de ácaros *V. destructor*, em crias de abelhas operárias *A. mellifera* nos períodos analisados. Talvez isso tenha ocorrido por ter havido coleta de pólen praticamente em todos os meses em que foram fornecidas as dietas, no período de experimento, entre setembro de 2015 e outubro de 2016 (Tabelas 9 e 12). Assim, as abelhas podem não ter tido necessidade de ingestão de grandes quantidades de uma fonte complementar de proteínas, o que dificultou as análises comparativas entre avaliações com e sem dieta adicional. Apesar disso, os experimentos realizados por Almeida (2013), com a utilização de dieta à base de levedura de cana, farinha de soja, farelo de arroz e açúcar, bem semelhante à utilizada no presente estudo (com

substituição do farelo de arroz por fubá), mostraram bons resultados, pois foram semelhantes ao controle positivo (“beebread”) quanto ao perfil proteico da hemolinfa das operárias. Além disso, a autora conclui que as abelhas alimentadas com essa dieta são capazes de sobreviver por um tempo maior quando comparadas à sobrevivência das abelhas alimentadas somente com xarope de sacarose (controle negativo), em experimentos com abelhas confinadas em gaiolas plásticas. Os autores De Mattos et al. (2016) avaliaram um grupo de 10 colônias de abelhas Africanizadas, na região de Ribeirão Preto, com suplementação proteica à base de Aminopan®, em mistura com açúcar em pó e extrato de baunilha. Os autores verificaram a menor produção de pólen neste grupo, com quantidades menores que a produzida no grupo controle. Por esse motivo, sugerem que essa suplementação específica pode desempenhar um papel inibitório na produção de pólen apícola e que a suplementação proteica deve ser restrita aos períodos de escassez de pólen.

As abelhas forrageiras são capazes de coletar em fontes de alimentos localizadas a várias distâncias, de poucos metros a quilômetros longe da colônia (FREE, 1977). Próximo ao apiário experimental da USP de Ribeirão Preto, há pequenos fragmentos de mata nativa e vários exemplares de *Eucaliptus* sp. (DE MATTOS, 2016), constituindo fontes de recursos alimentares às abelhas, como pólen e néctar, ao longo do ano. Ainda assim, em uma das coletas de dados de mapeamentos neste estudo não foi encontrado pólen em uma das colônias, em dezembro de 2015 (verão) (Tabelas 9 e 12), época do ano em que os valores de infestação de varroas apresentaram-se relativamente mais altos, assim como no outono também, em contraste ccom o inverno e a primavera, que apresentaram valores mais baixos de infestação.

DeGrandi-Hoffman et al. (2010), em experimentos com abelhas confinadas em gaiolas, observaram menores concentrações do virus DWV, que é transmitido por *V. destructor*, em abelhas tratadas com dieta proteica suplementar comercial quando comparadas com abelhas que receberam dieta à base de xarope de açúcar. Já DeGrandi-Hoffman et al. (2015) observaram que colônias alimentadas com dieta proteica suplementar tiveram maiores níveis virais e do parasita Nosema em comparação com colônias com alimentação natural de pólen de *Brassica rapa*. Sendo assim, a boa nutrição com pólen pode ser a mais eficaz na mitigação aos danos causados às colônias por parasitas ou patógenos. Na falta deste parece ser recomendável tratamentos com suplementação proteica e em terceiro lugar parece estar a alimentação à base de carboidrato (xarope de açúcar), quanto aos danos causados por agentes patogênicos.

Neste estudo, no entanto, apesar da dieta não ter interferido no grau de infestação ou reprodução de ácaros ao longo do período estudado, notou-se um pequeno aumento

significativo no grau de reprodução de varroa ao considerar esta avaliação especificamente nos meses de setembro de 2015 (primavera) e de fevereiro de 2016 (verão), em colônias com dieta proteica em relação às colônias controle (alimentadas somente com xarope de açúcar). Ao considerarmos o conjunto de resultados de reprodução das respectivas estações do ano (primavera e verão), não houve diferença significativa nos graus de reprodução de varroas entre elas (Tabela 14).

Moretto et al. (1997), em trabalho realizado com abelhas Africanizadas na região sul do Brasil (Blumenau-SC), demonstraram em seu trabalho que as fêmeas férteis de varroa reproduziam mais durante os meses em que havia maior quantidade de pólen disponível, de setembro a dezembro de 1991, com reprodução de 3,29 (±0,29) descendentes por fêmea adulta de varroa. Neste trabalho ocorreu maior reprodução significativa de varroas em setembro de 2015 e em fevereiro de 2016 nas colônias com maior oferta de proteínas por adição da dieta complementar estudada em relação às colônias controle.

Em estudos realizados para analisar consequências do parasitismo por *V. destructor* em abelhas operárias que foram infestadas na fase de pupa, foram observados principalmente os efeitos de diminuição da longevidade e de antecipação da fase de forrageamento em relação às abelhas não parasitadas (DE JONG; DE JONG, 1983) (JANMAAT; WINSTON, 2000). De acordo com Janmaat e Winston (2000), esses efeitos podem ser amenizados com uma suplementação adicional com pólen, quando a colônia encontra-se em estresse proteico, demonstrando assim os efeitos positivos da nutrição em colônias parasitadas. Já os autores Alaux et al. (2011), no estudo realizado com população híbrida de abelhas europeias, o efeito de diminuição do metabolismo de proteínas nas abelhas causado pelo parasitismo por varroa não pode ser revertido através da ingestão de pólen.

Morais et al. (2013) estudaram em campo duas dietas que podem ser substitutas do pólen em épocas de escassez de alimento na região de Ribeirão Preto, testadas especificamentede de junho a julho do ano de 2009. Testaram em campo as duas dietas artificiais à base de ingredientes como leite de soja em pó, albumina, levedura de cerveja, farelo de arroz e açúcar, e obtiveram impactos positivos significativos nas colônias, com crescimento de parâmetros como o consumo de alimento, o desenvolvimento populacional, o peso das colônias e a produção de mel.

5.4.2 Sobre os dados de mapeamentos de alimentos e de crias (pólen, néctar, cria operculada e cria aberta) nas colônias

Neste trabalho, quanto ao pólen, o aumento da coleta e armazenamento desse alimento nos favos teve relação negativa significativa com a porcentagem de infestação do ácaro varroa nas colônias. Uma hipótese que pode sustentar a explicação do fato de que o aumento do pólen pode contribuir para a diminuição da infestação dos ácaros é a relação desse alimento natural com o crescimento e manutenção de boa imunidade das abelhas contra parasitas e patógenos (JANMAAT; WINSTON, 2000; ALAUX et al. 2011). A quantidade de pólen não apresentou, porém, relação significativa quanto à reprodução da varroa, neste estudo (Tabela 14).

A tendência ao aumento da porcentagem de crias abertas na colônia estar relacionada à diminuição da infestação de ácaros, pode ser, em parte, devido ao aumento da área em que a população de fêmeas adultas teriam para infestar. Assim, proporcionalmente, estariam mais espalhadas entre os favos contendo crias de abelhas (larvas de 5º ínstar) prestes a serem operculadas e seriam detectadas em grau menor pela metodologia utilizada (avaliação de uma amostra de 100 células de crias por colônia).

Neste estudo obteve-se uma relação positiva e significativa entre a quantidade de néctar e a infestação de varroas. O aumento de néctar aberto (com tendência à evaporação), juntamente com o aumento da infestação de ácaros pode estar relacionado ao fato do néctar coletado e armazenado em células do favo ter colaborado com a manutenção de níveis ótimos ou sub-ótimos de umidade no ambiente interno da colônia, juntamente com a manutenção destes níveis realizada pelas operárias, que proporcionasse boa reprodução das abelhas e consequentemente também das varroas (HUMAN et al. 2006; KRAUS; VELTHUIS, 1997), aumentando o grau de infestação do ácaro. Além disso, há a interferência da umidade externa do ambiente, que apresentou-se na primeira etapa deste estudo com uma relação positiva com a infestação de varroas, tanto nas abelhas adultas como nas crias. Para Kraus e Velthuis (1997) é muito provável e frequente que os valores de umidade relativa dentro do ninho e no ambiente externo sejam iguais.

O aumento da porcentagem de crias operculadas nas colônias esteve relacionada, neste estudo, com o aumento do grau de infestação de varroas. De acordo com Calderón et al. (2012), há aumento nas populações de varroa quando há a produção de crias.

No trabalho realizado por Machado (2013), praticamente não houve diferença entre as porcentagens médias anuais de crias abertas e operculadas em 5 e 6 colônias avaliadas de julho de 2011 a julho de 2012. As 5 colônias tidas como higiênicas (capacidade de remoção de crias mortas igual ou superior a 90% em 24h) apresentaram valores médios anuais de 19,89% para cria aberta e 19,07% para cria operculada. As 6 colônias tidas como não

higiênicas (capacidade de remoção das crias mortas igual ou inferior a 55 %) apresentaram valores médios anuais de 14,94% para cria aberta e 15,00% para cria operculada.

Nenhuma das variáveis de mapeamento apresentou relação significativa com a reprodução de varroas, neste estudo.

5.4.3 Sobre as épocas do ano

Para fins de comparação foi adotada a divisão das estações do ano primavera, verão, outono e inverno. Em geral sabe-se que na região de Ribeirão Preto há duas sazonalidades mais fortes, uma com o clima mais quente e chuvoso, próximos ao fim do ano, entre outubro e março e outra com clima mais frio e seco, mais próximo ao meio do ano, entre maio e setembro (BRANDEBURGO, 1979). Dados obtidos no presente trabalho ratificam essa informação com os graus de infestações de varroas, pois não houve evidência de diferença significativa entre as estações verão e outono e e entre inverno e primavera (Tabela 11). Portanto, as infestações do ácaro tenderam a assemelhar-se mais nestas duas épocas (verão–outono e inverno–primavera).

6. Conclusões e Considerações Finais

Primeira etapa de experimentos (agosto de 2013 a setembro de 2015):

Infestação de ácaros nas abelha adultas e as variáveis climáticas

- A média geral da infestação de ácaros *V. destructor* em abelhas operárias adultas *A. mellifera* foi 5,99%, em 13 meses de avaliação.
- A presença ou ausência de rainha nas colônias não interferiu na infestação de varroas nas abelhas adultas e as médias mantiveram-se relativamente baixas, próximas a 6% de infestação.
- As variáveis climáticas temperatura e umidade relativa do ar apresentaram evidência de influência sobre a infestação de varroas nas abelhas operárias adultas, sendo a interferência da temperatura maior que a da umidade. O grau de infestação de varroas tendeu a ser maior à medida que a temperatura ambiente diminuiu e à medida que a umidade aumentou.

Infestação de ácaros nas crias de abelhas operárias e as variáveis climáticas

- A média geral de infestação de *V. destructor* em crias de abelhas operárias *A. mellifera* foi de 10,46%, em 19 meses de avaliação.
- A presença ou ausência de rainha nas colônias não apresentou evidência de interferência deste evento na infestação de varroas em crias de abelhas operárias, com médias próximas de 10% de infestação em ambos os casos.
- Houve evidências de que as variáveis climáticas precipitação e temperatura não influenciaram na infestação de varroas nas crias de abelhas operárias. Somente a variável umidade apresentou essa influência, e de forma positiva, ou seja, o aumento da umidade (%) no ambiente esteve relacionado ao aumento do grau de infestação de varroas.

Reprodução de ácaros nas crias de abelhas operárias e as variáveis climáticas

- A média geral de reprodução nas crias das abelhas operárias foi de 4,24 ácaros por célula infestada, em 17 meses de avaliação.
- Tal como nas análises de infestação do ácaro, em abelhas adultas ou em crias, também não houve influência da presença ou ausência natural de rainha nas colônias sobre a reprodução de varroas nas crias das abelhas operárias.
- Nenhuma variável climática mostrou evidência de influência na reprodução dos ácaros.

Segunda etapa de experimentos (setembro de 2015 a outubro de 2016):

Infestação de varroas relacionada à presença ou ausência de dieta adicional e de rainha nas colônias, aos dados de mapeamentos e às estações do ano

- A média geral de infestação de varroas nas crias de abelhas operárias foi de 8,9%.
- Houve um aumento de mais de 3% no grau de infestação de varroas nas crias de abelhas em colônias que receberam a dieta proteica adicional (10,97%) em comparação com as que não a receberam (7,83%). Este aumento não foi significativo, o que demonstra que a suplementação utilizada neste estudo pode fortalecer a nutrição das colônias sem aumento significativo da infestação do ácaro.
- Em colônias sem rainha, a média de infestação de varroas nas crias de operárias foi superior a 22%. Esse aumento foi significativo em comparação à média de infestação em colônias com rainha (8,42%).
- Os efeitos das variáveis de mapeamento foram todos significativos com relação à infestação de varroas nas crias de abelhas operárias. Quanto maior foi a porcentagem de pólen e de crias abertas nas colônias, o grau de infestação tendeu a ser menor e quanto maior foi a porcentagem de néctar e de crias operculadas nas colônias, o grau de infestação tendeu a ser também maior.
- Quanto às estações do ano, o outono apresentou os maiores graus de infestação do ácaro, seguida do verão, inverno e primavera, que apresentou o menor valor médio. Não houve evidências de diferença na infestação de varroas entre o verão e o outono e entre o inverno e a primavera, mostrando a existência de duas sazonalidades principais na região de Ribeirão Preto, quanto aos graus de infestação do ácaro.

Reprodução de varroas relacionada à presença ou ausência de dieta adicional e de rainha nas colônias, aos dados de mapeamentos e às estações do ano

- A média geral da quantidade de varroas encontradas por célula infestada nos quadros de crias de abelhas operárias foi 3,71%.
- Houve um pequeno aumento na média de reprodução de ácaros nas colônias que receberam a dieta proteica adicional (de 3,55 para 3,97) e também nas colônias que estavam naturalmente sem rainha (de 3,62 para 4,09) em comparação às colônias sem dieta (controles) e com rainha, respectivamente. Considerando o conjunto das avaliações no período, não houve evidência de que estes aumentos fossem relevantes.
- Ao realizar uma análise mais minuciosa, mês a mês, comparando as reproduções das varroas das colônias com e sem dieta, pode-se observar um aumento significativo na reprodução do ácaro apenas em dois meses, setembro de 2015 e fevereiro de 2016.
- Nenhuma das variáveis de mapeamento (pólen, néctar operculado ou aberto, crias operculadas e crias abertas) apresentaram evidência de efeitos significativos sobre a reprodução de varroas no período estudado.
- A estação outono apresentou a maior média de reprodução de ácaros (4,59), seguida do inverno, verão e primavera, com a menor reprodução média (3,26 ácaros por célula infestada). Entre as estações, somente entre primavera e verão não houve evidência de diferença na reprodução do ácaro.

As observações decorrentes deste trabalho podem servir de base para novos estudos de possíveis locais de implantação de apiários, com a busca de certa diversidade de pasto apícola disponível às abelhas, de modo a manter épocas de contínua florada ao longo do ano com espécies vegetais de clima tropical. Assim, há melhor garantia de boa sobrevivência das colônias, mesmo em épocas um pouco mais austeras às abelhas quanto ao clima e à escassez de recursos alimentares. Se a busca por obter um pasto apícola diverso não for possível devido, por exemplo, ao pequeno tamanho da propriedade ou à existência de grandes monoculturas em um raio de alguns quilômetros ao redor do apiário, com fontes de pólen disponível somente em determinados períodos do ano, ou a um ambiente sem disponibilidade de pólen às abelhas, parece ser recomendável aos apicultores um investimento em fontes proteicas adicionais às colônias. Uma dieta com ingredientes acessíveis como a utilizada neste estudo pode servir de fonte proteica substituta ao pólen quando este se encontra escasso no

campo, sem prejuízos significativos às colônias quanto à possibilidade de haver pequena elevação da população do ectoparasita *Varroa destructor*. Mais estudos são necessários sobre esta questão, com avaliações de diferentes tipos de dietas adicionais e suas relações com as populações parasitárias presentes nas abelhas melíferas.

Referências

ALAUX, C.; DANTEC, C.; PARRINELLO, H.; LE CONTE, Y. Nutrigenomics in honey bees: digital gene expression analysis of pollen's nutritive effects on healthy and varroa-parasitized bees. **BMC Genomics**, v. 12, n. 1, p. 496, 2011.

ALMEIDA, J. M. V. **Efeito da fermentação induzida sobre o valor nutritivo de dietas proteicas para abelhas *Apis mellifera***. 2013. 93f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto-Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto - SP, 2013.

AL-GHAMDI, A. A.; AL-KHAIBARI, A. M.; OMAR, M. O. Consumption rate of some proteinic diets affecting hypopharyngeal glands development in honeybee workers. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 18, n. 1, p. 73-77, 2011.

AL-TIKRITY, W. S.; HILLMANN, R. C.; BENTON, A. W.; CLARKE-JR, W. W. A new instrument for brood measurement in a honeybee colony. **American Bee Journal**, v. 111, p. 20-26, 1971.

ANNOSCIA, D.; DEL PICCOLO, F.; COVRE, F.; NAZZI, F. Mite infestation during development alters the in-hive behaviour of adult honeybees. **Apidologie**, v. 46, n. 3, p. 306-314, 2015.

ANTÚNEZ, K.; ANIDO, M.; BRANCHICCELA, B.; HARRIET, J.; CAMPA, J.; INVERNISSI, C.; ZUNINO, P. Seasonal variation of honeybee pathogens and its association with pollen diversity in Uruguay. **Microbial Ecology**, v. 70, n. 2, p. 522-533, 2015.

AZEVEDO-BENITEZ, A. L. G.; NOGUEIRA-COUTO, R. H. Estudo de algumas dietas artificiais visando à produção de geleia real em colônias de *Apis mellifera*. In: ENCONTRO SOBRE ABELHAS, 3, 1998, Ribeirão Preto. Anais. Universidade de São Paulo, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, p.227-230. 1998.

ANDERSON, D. L.; TRUEMAN, J. W. H. *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. **Experimental and Applied Acarology**, v. 24, n. 3, p. 165-189, 2000.

BACHA JÚNIOR, G. L.; FELIPE-SILVA, A. S.; PEREIRA, P. L. Taxa de infestação por ácaro *Varroa destructor* em apiários sob georreferenciamento. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, p. 1471-1473, 2009.

BOOT, W. J.; SCHOENMAKER, J.; CALIS, J. N. M.; BEETSMA, J. Invasion of *Varroa jacobsoni* into drone brood cells of the honey bee, *Apis mellifera*. **Apidologie**, v. 26, n. 2, p. 109-118, 1995.

BOWEN-WALKER, P. L.; GUNN, A. The effect of the ectoparasitic mite, *Varroa destructor* on adult worker honeybee (*Apis mellifera*) emergence weights, water, protein, carbohydrate, and lipid levels. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 101, n. 3, p. 207-217, 2001.

BRANDEBURGO, M. A. M. **Estudo da influência do clima na agressividade da abelha africanizada.** 1979. 149p. Dissertação (Mestrado em Genética) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto – SP. 1979.

BRODSCHNEIDER, R.; CRAILSHEIM, K. Nutrition and health in honey bees. **Apidologie**, v. 41, n. 3, p. 278-294, 2010.

BROUWERS, E. V. M. Measurement of hypopharyngeal gland activity in the honeybee. **Journal of Apicultural Research**, v. 21, n. 4, p. 193-198, 1982.

CALDERÓN, R. A.; UREÑA, S.; VAN VEEN, J. W. Reproduction of *Varroa destructor* and offspring mortality in worker and drone brood cells of Africanized honey bees. **Experimental and Applied Acarology**, v. 56, n. 4, p. 297-307, 2012.

CALDERÓN, R. A.; VAN VEEN, J. W.; SOMMEIJER, M. J., SANCHEZ, L. A. Reproductive biology of *Varroa destructor* in Africanized honey bees (*Apis mellifera*). **Experimental and Applied Acarology**, v. 50, n. 4, p. 281-297, 2010.

CAMARGO, R. C. R.; PEREIRA, F. M.; LOPES, M. T. R. Produção de mel. **Teresina: Embrapa Meio-Norte**, 2002.

CAPPELARI, F. A.; TURCATTO, A. P.; MORAIS, M. M.; DE JONG, D. Africanized honey bees more efficiently convert protein diets into hemolymph protein than do Carniolan bees (*Apis mellifera carnica*). **Genetics and Molecular Research**, v. 8, n. 4, p. 1245-1249, 2009.

CARNEIRO, F. E.; BARROSO, G. V.; STRAPAZZON, R.; MORETTO, G. Reproductive ability and level of infestation of the *Varroa destructor* mite in *Apis mellifera* apiaries in Blumenau, State of Santa Catarina, Brazil. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 36, n. 1, 2014.

CARNEIRO, F. E.; TORRES, R. R.; STRAPAZZON, R.; TAMIREZ, S. A.; GUERRA-JÚNIOR, J. C.; KOLING, D. F.; MORETTO, G. Changes in the reproductive ability of the mite *Varroa destructor* (Anderson e Trueman) in Africanized honey bees (*Apis mellifera* L.) (Hymenoptera: Apidae) colonies in southern Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 36, n. 6, p. 949-952, 2007.

CHAN, Q. W. T; HOWES, C. G.; FOSTER, L. J. Quantitative comparison of caste differences in honeybee hemolymph. **Molecular & Cellular Proteomics**, v. 5, n. 12, p. 2252-2262, 2006.

CHANTAWANNAKUL, P., DE GUZMAN, L. I., LI, J., WILLIAMS, G. R. Parasites, pathogens, and pests of honeybees in Asia. **Apidologie**, v. 47, n. 3, p. 301-324, 2016.

COELHO, M. S.; SILVA, J. H. V.; OLIVEIRA, E. R. A.; ARAÚJO, J. A.; LIMA, M. R. Alimentos convencionais e alternativos para abelhas. **Revista Caatinga**, v. 21, n. 1, p. 01-09, 2008.

CORRÊA-MARQUES, M. H.; DE JONG, D. Uncapping of worker bee brood, a component of the hygienic behavior of Africanized honey bees against the mite *Varroa jacobsoni* Oudemans. **Apidologie**, v. 29, n. 3, p. 283-289, 1998.

CORRÊA-MARQUES, M. H.; ISSA, M. R. C.; DE JONG, D. Classification and quantification of damaged *Varroa jacobsoni* found in the debris of honey bee colonies as criteria for selection? **American Bee Journal**, v. 140, n. 10, p. 820-824, 2000.

CORRÊA-MARQUES, M. H.; MEDINA, L. A.; MARTIN, S. J.; DE JONG, D. Comparing data on the reproduction of *Varroa destructor*. **Genetics and Molecular Research**, v. 2, n. 1, p. 1-6, 2003.

CORRÊA-MARQUES, M. H. **Reprodução do ácaro *Varroa jacobsoni* em colônias de abelhas africanizadas (*Apis mellifera*) no Brasil**. 2000. 113p. Tese (Doutorado em Entomologia) - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto – SP. 2000.

CREMONEZ, T. M. **Avaliação de métodos para determinação da eficiência de dietas proteicas em abelhas *Apis mellifera*.** 1996. 103f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto – SP, 1996.

CREMONEZ, T. M.; DE JONG, D.; BITONDI, M. M. G. Quantification of hemolymph proteins as a fast method for testing protein diets for honey bees (Hymenoptera: Apidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 91, n. 6, p. 1284-1289, 1998.

CURRIE, R. W.; TAHMASBI, G. H. The ability of high-and low-grooming lines of honey bees to remove the parasitic mite *Varroa destructor* is affected by environmental conditions. **Canadian Journal of Zoology**, v. 86, n. 9, p. 1059-1067, 2008.

DE JONG, D. Effect of queen cell construction on the rate of invasion of honeybee brood cells by *Varroa jacobsoni*. **Journal of Apicultural Research**, v. 20, p. 254-257, 1981.

DE JONG, D. Africanized honey bees in Brazil, forty years of adaptation and success. **Bee World**, v. 77, n. 2, p. 67-70, 1996.

DE JONG, D; DE JONG, P. H. Longevity of Africanized honey bees (Hymenoptera: Apidae) infested by *Varroa jacobsoni* (Parasitiformes: Varroidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 76, n. 4, p. 766-768, 1983.

DE JONG, D.; MORSE, R. A.; EICKWORT, G. C. Mite pests of honey bees. **Annual Review of Entomology,** v. 27, n. 1, p. 229-252, 1982a.

DE JONG, D.; DE JONG, P. H.; GONCALVES, L. S. Weight loss and other damage to developing worker honeybees from infestation with *Varroa jacobsoni*. **Journal of Apicultural Research**, v. 21, n. 3, p. 165-167, 1982b.

DE JONG, D. Varroa and other parasites of brood. In: R.A. MORSE (Editor). **Pests, predators and diseases of honey bees**. 3ª edição. A.I. Root Co. pp. 231-279. 1997.

DE JONG, D.; TURCATTO, A. P.; ALMEIDA, J. M. V.; MENDES, E. C. Honey bees in Brazil do not require treatment for Varroa infestations. In: Simone-Finstrom, Michael, Proceedings of the 2017 American Bee Research Conference, **Bee World**, v. 93, n.4, p.125. 2016.

DEGRANDI-HOFFMAN, G.; CHEN, Y. Nutrition, immunity and viral infections in honey bees. **Current Opinion in Insect Science**, v. 10, p. 170-176, 2015.

DE GROOT, A. P. Protein and Amino Acid Requirements of the Honeybee (*Apis mellifica* L.) **Physiologia Comparata et Oecologia**, v. 3, p. 197-285, 1953.

DE MATTOS, I. M. **Estudo do melhoramento genético no sistema produtivo de pólen apícola e suas implicações na saúde das abelhas *Apis mellifera* L.** 2016, 114p. Tese (Doutorado em Genética) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto – SP, 2016.

DE MATTOS, I. M.; SOUZA, J.; SOARES, A. E. E. Analysis of the effects of colony population size and feeding supplementation on bee pollen production. **Journal of Apicultural Research**, ISSN: 0021-8839, http://dx.doi.org/10.1080/00218839.2016.1159892.

ELIASH, N.; SINGH, N. K.; KAMER, Y.; PINNELI, G. R.; PLETTNER, E.; SOROKER, V. Can we disrupt the sensing of honey bees by the bee parasite *Varroa destructor*? **PloS One**, v. 9, n. 9, p. e106889, 2014.

FRANCOY, T. M.; WITTMANN, D.; STEINHAGE, V.; DRAUSCHKE, M.; MULLER, S.; CUNHA, D. R.; NASCIMENTO, A. M.; FIGUEIREDO, V. L. C.; SIMÕES, Z. L. P.; DE JONG, D.; ARIAS, M.C; GONÇALVES, L. S. Morphometric and genetic changes in a population of Apis mellifera after 34 years of Africanization. **Genetics and Molecular Research**, v. 8, n. 2, p. 709-717, 2009.

FREE, J. B. **A organização social das abelhas (Apis)**. São Paulo: EDUSP, Coleção Temas de Biologia, 1977.

FREITAS, B. M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; MEDINA, L. M.; KLEINERT, A. M. P.; GALETTO, L.; NATES-PARRA, G.; QUEZADA-EUÁN, J. J. G. Diversity, threats and conservation of native bees in the Neotropics. **Apidologie**, v. 40, n. 3, p. 332-346, 2009.

GARRIDO, C.; ROSENKRANZ, P.; PAXTON, R. J.; GONÇALVES, L. S. Temporal changes in *Varroa destructor* fertility and haplotype in Brazil. **Apidologie**, v. 34, n. 6, p. 535-541, 2003.

GENERSCH, E. Honey bee pathology: current threats to honey bees and beekeeping. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 87, n. 1, p. 87-97, 2010.

GUERRA JÚNIOR, J. C. V.; GONÇALVES, L. S.; DE JONG, D. Africanized honey bees (*Apis mellifera* L.) are more efficient at removing worker brood artificially infested with the parasitic mite *Varroa jacobsoni* Oudemans than are Italian bees or Italian/Africanized hybrids. **Genetics and Molecular Biology**, v. 23, n. 1, p. 89-92, 2000.

HAYDAK, M. H. Honey bee nutrition. **Annual Review of Entomology,** v.15, p.143-153, 1970.

HERNÁNDEZ, E. C.; CASTAÑOS, C. G. La varroa: parasito de las abejas. Cuaderno de divulgación 1/93. Gobierno de Canarias, Consejería de Agricultura y Alimentación. 1993

HUMAN, H.; NICOLSON, S. W.; DIETEMANN, V. Do honeybees, *Apis mellifera scutellata*, regulate humidity in their nest? **Naturwissenschaften**, v. 93, n. 8, p. 397-401, 2006.

JANMAAT, A. F.; WINSTON, M. L. The influence of pollen storage area and *Varroa jacobsoni* Oudemans parasitism on temporal caste structure in honey bees (*Apis mellifera* L.). **Insectes Sociaux**, v. 47, p.177–182, 2000.

JUNQUEIRA, E.; PICCIRILLO G. A.; DE JONG, D. A semi-natural bioassay for host-finding behavior of *Varroa destructor*. **American Bee Journal**, v. 144, n. 8, p. 625-627, 2004.

KRAUS, B.; VELTHUIS, H. H. W. High humidity in the honey bee (*Apis mellifera* L.) brood nest limits reproduction of the parasitic mite *Varroa jacobsoni* Oud. **Naturwissenschaften**, v. 84, n. 5, p. 217-218, 1997.

LAERE, O. V. The effect of certain factors on brood nest development in *A. mellifera*. **Annals Abeille**, v. 8, n. 4, p. 285-297, 1965.

LE CONTE, Y.; ELLIS, M.; RITTER, W. Varroa mites and honey bee health: can Varroa explain part of the colony losses? **Apidologie**, v. 41, n. 3, p. 353-363, 2010.

LO, N.; GLOAG, R. S.; ANDERSON, D. L.; OLDROYD, B. P. A molecular phylogeny of the genus Apis suggests that the giant honeybee of the Philippines, *A. breviligula* Maa, and the plains honeybee of southern India, *A. indica* Fabricius, are valid species. **Systematic Entomology**, v. 35, n. 2, p. 226-233, 2010.

MA, L.; WANG, Y.; HANG, X.; WANG, H.; YANG, W.; XU, B. Nutritional effect of alpha-linolenic acid on honey bee colony development (*Apis mellifera* L.). **Journal of Apicultural Science**, v. 59, n. 2, p. 63-72, 2015.

MACHADO, C. A. S. **Monitoramento de colônias de abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.) quanto ao desenvolvimento interno e comportamento de forrageamento em linhagens de abelhas higiênicas e não higiênicas**. 2013. 94p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto – SP, 2013.

MARTIN, S. J.; KEMP, D. Average number of reproductive cycles performed by *Varroa jacobsoni* in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. **Journal of Apicultural research**, v. 36, n. 3-4, p. 113-123, 1997.

MARTÍNEZ, O. A. C. **Melhoramento genético e seleção de colmeias para aumento da produção de própolis verde na apicultura comercial.** 2012, 136p. Tese (Doutorado em Genética) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto – SP, 2012.

MESSAGE, D.; GUIDUGLI-LAZZARINI, K. R.; FREITAS, N. H. A.; SIMÕES, Z. L. P.; DE JONG, D.; SILVA, I. C.; TEIXEIRA, E. W. Colapso de colônias de abelhas

Africanizadas *Apis mellifera* L. (Hymenoptera, Apidae) no Brasil. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 9, n. 3, p. 59-59, 2011.

MICHELETTE, E. R. F.; SOARES, A. E. E. Characterization of preimaginal developmental stages in Africanized honey bee workers (*Apis mellifera* L). **Apidologie**, v. 24, n. 4, p. 431-440, 1993.

MICHENER, C. D. The Brazilian bee problem. **Annual Review of Entomology**, v. 20, n. 2, p. 399-416, 1975.

MICHENER, C. D. **The bees of the world**. 2nd ed. Baltimore: The Johns Hopkins University Press, 2007.

MISTRO, D. C.; RODRIGUES, L. A.; FERREIRA JUNIOR, W. C. The Africanized honey bee dispersal: a mathematical zoom. **Bulletin of Mathematical Biology**, v. 67, n. 2, p. 281-312, 2005.

MORAIS, M. M.; TURCATTO, A. P.; PEREIRA, R. A.; FRANCOY, T. M.; GUIDUGLI-LAZZARINI, K. R.; GONÇALVES, L. S.; DE JONG, D. Protein levels and colony development of Africanized and European honey bees fed natural and artificial diets. **Genetics and Molecular Research**, v. 12, n. 4, p. 6915-6922, 2013.

MORETTO, G.; GONÇALVES, L. S.; DE JONG, D. Relationship between food availability and the reproductive ability of the mite *Varroa jacobsoni* in Africanized bee colonies. **American Bee Journal**, v. 137, p. 67-69, 1997.

MORETTO, G.; GONÇALVES, L. S.; DE JONG, D.; BICHUETTE, M. Z. The effects of climate and bee race on *Varroa jacobsoni* Oud infestations in Brazil. **Apidologie**, v. 22, n. 3, p. 197-203, 1991.

MORETTO, G. **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***. 1993. 116f. Tese (Doutorado em Genética) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto – SP, 1993.

MORETTO, G.; GONÇALVES, L. S.; DE JONG, D. Heritability of Africanized and European honey bee defensive behavior against the mite *Varroa jacobsoni*. **Revista Brasileira de Genética**, v. 16, p. 71-71, 1993.

MOURE J.M.; URBAN, D.; MELO, G.A.R. (Orgs.) **Catalogue of bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region**. Curitiba: Sociedade Brasileira de Entomologia, 2007. 1.058p.

NEUMANN, P.; CARRECK, N. L. Honey bee colony losses. **Journal of Apicultural Research**, v. 49, p. 1-6. 2010.

NUNES-SILVA, P.; GONÇALVES, L. S.; FRANCOY, T. M.; DE JONG, D. Rate of growth and development time of africanized honey bee (*Apis mellifera*) queens and workers during ontogenetic development. **Brazilian Journal of Morphological Sciences,** v. 23, n. 3-4, p. 325-332, 2006.

O'TOOLE, C.; RAW, A. **Bees of the world**. New York: Facts On File, 1999.

PEGORARO, A.; MARQUES, E. M.; NETO, A. C.; COSTA, E. C. Infestação natural de *Varroa jacobsoni* em *Apis mellifera scutellata* (Hymenoptera: Apidae). **Archives of Veterinary Science**, v. 5, n. 1, 2000.

PEREIRA, R. A. **Monitoramento das atividades individuais de abelhas africanizadas relacionadas ao comportamento higiênico**. 2008. 121p. Tese (Doutorado em Entomologia)- Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto - SP, 2008.

POHORECKA, K.; BOBER, A.; SKUBIDA, M.; ZDANSKA, D.; TORÓJ, K. A comparative study of environmental conditions, bee management and the epidemiological situation in apiaries varying in the level of colony losses. **Journal of Apicultural Science**, v. 58, n. 2, p. 107-132, 2014.

R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria (2017). URL https://www.R-project.org/.

ROSENKRANZ, P.; AUMEIER, P.; ZIEGELMANN, B. Biology and control of *Varroa destructor*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 103, p. S96-S119, 2010.

RUTTNER, H. F.; MARX, G. Observation about a possible adaptation of *Varroa jacobsoni* to *Apis mellifera* L. in Uruguay. **Apidologie**, v. 15, n. 1, p. 43-62, 1984.

SANTOS, A. M. M.; MENDES, E. C. Abelha africanizada (*Apis mellifera* L.) em áreas urbanas no Brasil: necessidade de monitoramento de risco de acidentes. **Revista Sustinere**, v. 4, n. 1, p. 117-143, 2016.

SCHALL, R. Estimation in generalized linear models with random effects. **Biometrika**, v. 78, n. 4, p. 719-727, 1991.

SILVA, C. I.; ALEIXO, K. P.; NUNES-SILVA, B.; FREITAS, B. M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V .L. **Guia ilustrado de abelhas polinizadoras no Brasil**. 1. ed. São Paulo, SP, 2014.

SIMONE-FINSTROM, M. Proceedings of the 2017 American Bee Research Conference, **Bee World**, v. 93, n. 4, p. 104-127. 2016.

STORT, A. C.; GONÇALVES, L. S.; MALASPINA, O.; MOURA DUARTE, F. A. Study on sineacar effectiveness in controlling *Varroa jacobsoni*. **Apidologie**, v. 12, n. 3, p. 289-297, 1981.

The SAS system for Windows. Release 9.2. SAS Inst., Cary, NC. (2011).

TORRETTA, J. P.; MEDAN, D.; ABRAHAMOVICH, A. H. First record of the invasive bumblebee *Bombus terrestris* (L.) (Hymenoptera, Apidae) in Argentina. **Transactions of the American Entomological Society**, v. 132, n. 3+4, p.285-289, 2006.

TURCATTO, A. P.; ISSA, M. C.; MORAIS, M. M.; ALMEIDA, R. Infestação pelo ácaro *Varroa destructor* (Anderson & Trueman) (Mesostigmata: Varroidae) em operárias adultas e em células de cria de abelhas Africanizadas *Apis mellifera* Linnaeus (Hymenoptera: Apidae) na Região de Franca-SP. **EntomoBrasilis**, v. 5, n. 3, p. 198-203, 2012.

VANDAME, R.; COLIN, M. E.; MORAND, S.; OTERO-COLINA, G. Levels of compatibility in a new host-parasite association: *Apis mellifera/Varroa jacobsoni*. **Canadian Journal of Zoology**, v. 78, n. 11, p. 2037-2044, 2000.

VANENGELSDORP, D.; HAYES JUNIOR, J.; UNDERWOOD, R. M.; PETTIS, J. S. A survey of honey bee colony losses in the United States, fall 2008 to spring 2009. **Journal of Apicultural Research**, v. 49, n. 1, p. 7-14, 2010.