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

**Efeito do tamanho da célula do favo de cria sobre a
variabilidade morfológica das abelhas africanizadas (*Apis
mellifera*) e sobre a infestação e reprodução do ácaro *Varroa
jacobsoni*.**

Giancarlo Antonio Piccirillo Yapalucci

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

Ribeirão Preto – SP

2001

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

Efeito do tamanho da célula do favo de cria sobre a variabilidade morfológica das abelhas africanizadas (*Apis mellifera*) e sobre a infestação e reprodução do ácaro *Varroa jacobsoni*.

Giancarlo Antonio Piccirillo Yapalucci
Orientador: Prof. Dr. David De Jong

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

Ribeirão Preto – SP

2001

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. **Dr. DAVID DE JONG**, Prof. Assistente Doutor do Departamento de Genética e Matemática Aplicada à Biologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP, pela confiança depositada desde o início da pós-graduação e pela amizade, orientação e incentivo durante a realização deste trabalho.

Ao Prof. **Dr. LIONEL SEGUI GONÇALVES**, Professor Titular da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto – USP, pela amizade, incentivo e pelo apoio dado em todo momento quando foi solicitado e com quem tive o imenso prazer de realizar os primeiros contatos para a realização da pós-graduação no Brasil.

À Profa. **Dra. ZILA LUZ PAULINO-SIMÕES**, Profa. Assistente Doutora do Departamento de Biologia da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto – USP e Coordenadora do curso de pós-graduação em Entomologia, pelo apoio dado nos momentos em que foram solicitados durante o curso de pós-graduação.

Ao Prof. **Dr. ADEMILSON E. E. SOARES**, Prof. Assistente Doutor do Departamento de Genética da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP, pela amizade e disponibilidade que sempre demonstrou.

À **Dra. MARIA H. CORRÊA-MARQUES**, Doutora formada no Departamento de Biologia da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto – USP (Doutora em Ciências – Área: Entomologia), pelo incentivo e pelas sugestões dadas durante este trabalho e orientação na digitação da dissertação.

À **Dra. MARCIA R. CAVICHIO ISSA**, Pesquisadora Doutora junto ao Departamento de Biologia da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto – USP, pelas sugestões dadas durante este trabalho.

Ao colega **FABIO SANTOS DO NASCIMENTO** e ao Prof. **Dr. RONALDO ZUCCHI** do Setor de Ecologia da FFCLRP, pela disponibilidade de utilização do Esteromicroscópio para a medição das asas e do laboratório de captura de imagens computadorizada.

A **RENATA ANDRADE CALLAVARI**, Secretária do Departamento de Biologia da FFCLRP-USP, pelo apoio e presteza na elaboração dos textos finais.

Ao colega Biólogo **RICARDO MARQUES COUTO**, estagiário no Setor de Abelhas do Departamento de Genética da FMRP-USP, pela atenção e pelas valiosas sugestões à redação final deste trabalho, além da amizade.

Ao Técnico **ADELINO PENATTI**, Técnico Apícola do Setor de Genética de Himenópteros do Departamento de Genética da FMRP-USP, pelos auxílios prestados durante a fase de coleta de dados deste trabalho, além, é claro de uma grande amizade nos transcorrer dos anos de trabalho.

Aos Técnicos **JOÃO JOSÉ DOS SANTOS, LUIZ ROBERTO AGUIAR e JAIRO DE SOUZA**, pelos auxílios prestados.

Aos colegas que passaram e aos que estão presentes no Setor de Abelhas do Departamento de Genética da FMRP-USP e no Curso de Entomologia do Departamento de Biologia da FFCLRP-USP, pelo incentivo e pela convivência e amizade.

Ao **CONICIT** – Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Venezuela, pela concessão da Bolsa de Estudo.

À **LUZ – La Universidad del Zulia**, Maracaibo – Venezuela, pelo incentivo e pela dedicação e orientação na obtenção da ajuda financeira, por meio da bolsa complemento de estudo outorgada pelo CONICIT.

DEDICATÓRIA

*À minha esposa, **JÉSSICA**, que sempre esteve a meu lado dando carinho, incentivo e todo o apoio necessário, sem a qual não teria sido possível a finalização deste trabalho.*

*À minha filha, **ANDREA**, que embora pequenina foi a amiga e companheira em todos os momentos e com quem muito tenho aprendido.*

À toda minha família, com muito amor e carinho, base de tudo que aprendi.

DEDICO

SUMÁRIO

RESUMO

1 INTRODUÇÃO01

2 OBJETIVOS33

3 MATERIAIS E MÉTODOS.....35

4 RESULTADOS.....49

5 DISCUSSÃO82

6 CONCLUSÕES105

7 BIBLIOGRAFIA.....108

ABSTRACT

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 <i>Varroa jacobsoni</i> . Tamanho ampliado eletronicamente. a. fêmea adulta original, b. macho adulto; c. Maneira esquemática de uma célula de cria de operária infestada pelo ácaro.	22
Figura 2 Uma das colônias de abelhas Africanizadas em uma caixa Langstroth de 10 quadros usada no experimento do setor de abelhas da Faculdade de Medicina de Riberão Preto-USP. Nas colônias foram introduzidos ao mesmo tempo quatro tipos de favos com diferentes tamanhos de células de crias para avaliação.....	37
Figura 3 Favo tipo africanizado com células de cria construídas naturalmente pelas abelhas em uma colônia africanizada.	38
Figura 4 Favo tipo cárnico com células de cria novas de maior tamanho construídas naturalmente por abelhas européias <i>Apis mellifera carnica</i>	39
Figura 5A Favo tipo italiano usado no experimento com uma régua indicando a medida horizontal de 10 células contíguas de cria de operárias.....	39
Figura 5B Favo com lâmina de cera alveolada contendo células de cria tamanho tipo italiano colocada no ninho de cria de abelhas Africanizadas para que as mesmas abelhas construíssem as células	40
Figura 6 Favo tipo velho usado para a comparação com os favos novos com as paredes das células engrossadas e células do favo relativamente reduzidas pelas gerações de abelhas emergidas.....	40
Figura 7A Célula de cria de operária usada na avaliação para medir o tamanho médio da célula em cada tipo de favo estudado e por colônia.	42
Figura 7B Célula de cria de operária em forma de um prisma regular de seis lados com a base formando três losangos iguais que se encontram em um ponto ao fundo da célula em forma de pirâmide invertida.....	42
Figura 8 Otoscópio para observação minuciosa no interior dos alvéolos e para detecção do ácaro fêmea e seus descendentes (A). Paquímetro de precisão usado na medição do diâmetro e a profundidade da célula do favo (B)	44
Figura 9 Asa anterior direita de uma abelha operária Africanizada recém-emergida do favo de cria.	47
Figura 10 Compensação do tamanho da célula em diferentes tipos de favos em relação ao diâmetro e profundidade da célula de cria de operária, em 8 colônias de abelhas Africanizadas (<i>Apis mellifera</i>)	56
Figura 11 Distribuição de frequência para peso das operárias Africanizadas emergentes obtidas de favos com diferentes tamanhos de células de crias, em 8 colônias de abelhas africanizadas (<i>Apis mellifera</i>)	67

Figura 12 Índice de infestação do ácaro *Varroa jacobsoni* em células de operárias de quatro diferentes tipos de favos de crias, em colônias de abelhas Africanizadas (*Apis mellifera*). 76

Figura 13 Porcentagem de células de cria de operárias infestadas pelo ácaro *Varroa jacobsoni* em relação ao diâmetro da célula, em quatro tipos de favos com diferentes tamanhos de células de cria, em 8 colônias de abelhas Africanizadas (*Apis mellifera*)...77

Figura 14 Porcentagem de células de cria de operárias infestadas pelo ácaro *Varroa jacobsoni* em relação à profundidade da célula, em quatro tipos de favos com diferentes tamanhos de células de cria, em 8 colônias de abelhas Africanizadas (*Apis mellifera*)...78

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 Valores relativos do tamanho natural da célula do favo utilizando várias unidades populares de medição..... 10

Tabela 2 Análise dos diâmetros das células de crias obtidas de favos com diferentes tamanhos de células de operárias, em colônias de abelhas Africanizadas (*Apis mellifera*). 53

Tabela 3 Análise das profundidades das células de crias obtidas de favos com diferentes tamanhos de células de operárias, em colônias de abelhas Africanizadas (*Apis mellifera*) 54

Tabela 4 Análise dos volumes das células de crias obtidas de favos com diferentes tamanhos de células de operárias, em colônias de abelhas Africanizadas (*Apis mellifera*) 55

Tabela 5 Correlações entre as diferentes dimensões da célula do favo (diâmetro, profundidade e volume) obtidos de favos com diferentes tamanhos de células de crias, em 8 colônias de abelhas Africanizadas (*Apis mellifera*)..... 56

Tabela 6 Análise dos diâmetros das células de crias de operárias obtidas de favos com diferentes tamanhos de células de operárias infestadas e não infestadas pelo ácaro *Varroa jacobsoni*, em colônias de abelhas Africanizadas (*Apis mellifera*)..... 57

Tabela 7 Análise das profundidades das células de crias de operárias obtidas de favos com diferentes tamanhos de células de operárias infestadas e não infestadas pelo ácaro *Varroa jacobsoni*, em colônias de abelhas Africanizadas (*Apis mellifera*)..... 58

Tabela 8 Análise dos volumes das células de crias de operárias obtidas de favos com diferentes tamanhos de células de operárias infestadas e não infestadas pelo ácaro *Varroa jacobsoni*, em colônias de abelhas Africanizadas (*Apis mellifera*)..... 59

Tabela 9 Correlações entre as diferentes dimensões da célula do favo (diâmetro, profundidade e volume) obtidos de favos com diferentes tamanhos de células de crias infestadas pelo ácaro *Varroa jacobsoni*, em 8 colônias de abelhas Africanizadas (*Apis mellifera*) 60

Tabela 10 Análise morfométrica do comprimento da asa anterior direita em operárias emergentes de colônias de abelhas Africanizadas (*Apis mellifera*), obtidas de favos com diferentes tamanhos de células de crias de operárias..... 62

Tabela 11 Análise morfométrica da largura da asa anterior direita em operárias emergentes de colônias de abelhas Africanizadas (*Apis mellifera*), obtidas de favos com diferentes tamanhos de células de crias de operárias..... 63

Tabela 12 Correlações entre as medidas morfométricas (comprimento e largura da asa anterior direita) de abelhas operárias e o peso da abelha emergente e as diferentes dimensões da célula (diâmetro, profundidade e volume da célula), em 8 colônias experimentais de abelhas Africanizadas (*Apis mellifera*)..... 64

Tabela 13 Análise dos pesos das operárias emergentes obtidos de favos com diferentes tamanhos de células de crias de operárias, em colônias de abelhas Africanizadas (<i>Apis mellifera</i>)	66
Tabela 14 Correlações entre o peso da operária emergente e as diferentes dimensões da célula do favo (diâmetro, profundidade e volume), em 8 colônias de abelhas Africanizadas (<i>Apis mellifera</i>)	68
Tabela 15 Análise do peso de operárias emergentes obtidas de favos com diferentes tamanhos de células de crias de operárias infestados e não infestados pelo ácaro <i>Varroa jacobsoni</i> , em colônias de abelhas Africanizadas (<i>Apis mellifera</i>).....	70
Tabela 16 Correlações entre o peso da operária emergente infestada pelo ácaro <i>Varroa jacobsoni</i> e as diferentes dimensões da célula do favo (diâmetro, profundidade e volume), em 8 colônias de abelhas Africanizadas (<i>Apis mellifera</i>).....	71
Tabela 17 Infestação do ácaro <i>Varroa jacobsoni</i> em células de crias de operárias obtidas de favos com diferentes tamanhos de células de crias, em colônias de abelhas Africanizadas (<i>Apis mellifera</i>).	74
Tabela 18 Quantificação de células de crias de operárias infestadas por uma ou mais fêmeas adultas do ácaro <i>V. jacobsoni</i> em diferentes tipos de favos de crias, em colônias de abelhas Africanizadas (<i>Apis mellifera</i>).....	75
Tabela 19 Dados de infestação e reprodução do ácaro <i>Varroa jacobsoni</i> obtidos de favos com diferentes tamanhos de células de crias de operárias em 8 colônias de abelhas Africanizadas <i>Apis mellifera</i>	80
Tabela 20 Taxas de reprodução total (TRT) do ácaro <i>Varroa jacobsoni</i> obtidas de favos com diferentes tamanhos de células de crias de operárias, em colônias de abelhas Africanizadas (<i>Apis mellifera</i>).	81
Tabela 21 Médias do comprimento e largura da asa anterior direita em abelhas Africanizadas e abelhas européias obtidas por vários autores.....	91

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo: 1. Determinar o efeito de diferentes tamanhos de células de cria de operárias (favos novos construídos naturalmente por abelhas Africanizadas e européias e favos velhos) sobre o peso e variabilidade morfológica das abelhas operárias emergentes em colônias de abelhas (*Apis mellifera*); 2. Examinar a influência das células de operárias de menor tamanho do favo velho em relação às células novas construídas por abelhas Africanizadas e às células de operárias construídas por abelhas européias (italianas e cárnicas) sobre a infestação e reprodução do ácaro *Varroa jacobsoni*. O trabalho foi todo realizado no Departamento de Genética da FMRP-USP em Ribeirão Preto. Foram utilizadas colônias de abelhas africanizadas do próprio apiário experimental (N=8). Foram usados neste experimento quatro tipos de favos: favo africanizado novo (FAFn), favo italiano novo (FITn), favo cárnico novo (FCAn) e favo velho africanizado (FVE) com as paredes das células engrossadas por efeito de muitas gerações de abelhas emergidas. Um total de três medidas foram feitas nas células de operárias de cada favo: diâmetro da célula (DC), profundidade da célula (PC) e peso da abelha emergente (PA). O volume da célula (VC) foi calculado a partir do DC e da PC. As abelhas, uma vez pesadas, foram posteriormente preservadas em solução de álcool a 70%. As seguintes medidas morfométricas foram tomadas sobre cada abelha individual e sobre a asa anterior direita: Comprimento e Largura total da asa anterior direita. Investigamos os índices de infestação e as taxas de reprodução do ácaro nos quatro tipos de favos com diferentes células de crias de operárias, para verificar possíveis variações na infestação entre os favos estudados. Para as dimensões das células (DC, PC e VC), entre o favo FVE e os novos (FAFn, FITn e FCAn), observou-se de maneira geral que o DC e VC foram as medidas que apresentaram diferenças notáveis entre os diferentes favos. Comparando-se os diâmetros das células de cria entre os favos estudados, percebe-se uma média menor para as células do FVE (4.56 mm) e médias maiores para as células dos favos FITn (5.13 mm) e FCAn (5.27 mm); sendo diferentes estatisticamente ($p < 0.001$, One-Way ANOVA). Em relação à PC a situação foi inversa, percebe-se que a PC construída pelas operárias a partir da cera alveolada (FITn) foi de 11.62 mm e a PC em favos construídos por operárias cárnicas (FCAn) foi de 11.64 mm, sendo inferiores às do FVE (12.22 mm). As médias dos volumes dos diferentes tipos de alvéolos estudados mostram uma média menor para as células do FVE (220.12 mm³) e médias maiores para os FITn (264.82 mm³) e FCAn (279.59 mm³); sendo diferentes estatisticamente ($p < 0.001$, One-Way ANOVA). Os resultados indicaram que as abelhas

compensaram a menor ou maior largura da célula ao produzir células com maior ou menor profundidade respectivamente. Das asas analisadas, as operárias do FVE apresentaram menor comprimento (9.10 mm), enquanto que esses comprimentos foram bem maiores nas operárias do favo FAFn, FITn e FCAn sendo 9.26 mm, 9.32 mm e 9.32 mm respectivamente. Em relação à largura da asa, encontramos também que as operárias do FVE apresentaram menor largura (3.31 mm), sendo essas medidas maiores nas operárias dos favos novos FAFn, FITn e FCAn (3.43 mm, 3.49 mm e 3.46 mm respectivamente). O comprimento e largura da asa anterior direita das abelhas emergentes diferiram estatisticamente entre os quatro tipos de favos estudados ($p=0.014$ e $p=0.003$ respectivamente, One-Way ANOVA). Comparando-se o peso médio das operárias ao nascer, entre os diferentes tipos de células de crias do FVE (88.12 mg), FAFn (92.67 mg), FITn (95.82 mg) e FCAn (96.89 mg) percebe-se que ocorre um acréscimo no peso à medida que o tamanho da célula é aumentado. A comparação do peso das operárias mostrou que ocorrem diferenças altamente significantes em nível de 5% de probabilidade entre os diferentes favos de cria ($p<0.001$, One-way ANOVA). Comparando-se o peso médio das abelhas operárias emergentes infestadas e não infestadas pela varroa, percebe-se que ocorre um forte decréscimo no peso da abelha infestada em 14.9% para o FVE e FAFn. Os índices de infestação da varroa verificados nos diferentes tamanhos de células de operárias diferiram estatisticamente entre os quatro tipos de favos ($\chi^2 = 41.122$, $p<0.001$). A infestação média do ácaro foi maior em células de cria do FVE que em células do favo FAFn que apresentou menor índice de infestação ($20.6 \pm 6.4\%$ vs $10.4 \pm 4.2\%$ respectivamente). Esses índices médios diferiram estatisticamente ($p<0.001$). Houve maior número de fêmeas adultas do ácaro em células do FVE, que apresentou menor diâmetro e menor volume da célula, comparado com as células dos favos novos de maiores tamanhos (FAFn, FITn e FCAn). Obtiveram-se taxas de reprodução total de 1.28, 0.98, 1.19 e 1.58 para os favos FVE, FAFn, FITn e FCAn respectivamente, quando computadas todas as varroas adultas originais. Essas taxas de reprodução total do ácaro não apresentaram diferenças significativas entre si ($p=0.074$, One-Way ANOVA). As células do FVE atraíram mais varroa em relação às células dos favos novos, apesar de que as células do FVE tiveram um diâmetro menor. Embora o tamanho da célula seja importante, característica inerente à larva, ao favo ou ao alimento nas células de crias do FVE poderiam ter uma importante influência de atração ao ácaro varroa.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Estudos relacionados com o tamanho da célula do favo de cria das abelhas *Apis mellifera*.

A matemática e a estrutura dos alvéolos das abelhas *Apis mellifera* tem despertado a curiosidade dos cientistas desde a mais remota antigüidade (Betts, 1932; Grout, 1931). O primeiro a se interessar por esse estudo foi o matemático grego Pappus de Alexandria (320 DC). Ele chegou a estudar alvéolos em forma de prismas de seção hexagonal, triangular e quadrada e deixou transparecer que os prismas hexagonais podiam armazenar mais mel que os outros dois (em Thompson, 1961). Entretanto, foi Erasmos Bartholin quem observou que as abelhas apenas procuravam construir os alvéolos circulares com a maior área possível, mas que, devido à pressão externa exercida pelas companheiras de trabalho, ficavam impedidas de construírem paredes que não fossem planas (em Thompson, 1961).

Enquanto os favos são geralmente construídos verticalmente, de cima para baixo, as células não são construídas em um plano vertical, mas com uma inclinação para cima sobre a horizontal (Dadant & Sons, 1975; Cogshall & Morse, 1984). O ângulo da inclinação varia entre 9° e 14°, sendo geralmente de 13° da base à abertura (von Frisch, 1974). Essa inclinação, aparentemente, tende a evitar que a larva deslize e saia da entrada da célula antes que a mesma seja fechada e diminuir assim, a tendência de vazamento do mel.

Em relação ao tamanho e forma, a célula da abelha melífera é um prisma hexagonal, consistindo de 6 paredes que se ajustam formando o próprio alvéolo e as paredes dos alvéolos adjacentes (von Frisch, 1974). No início da construção dos alvéolos, nota-se uma série de pirâmides invertidas de três faces que formam o fundo convexo dos alvéolos. O fundo da célula é uma superfície poliédrica constituída por três losangos iguais, convexa para cada alvéolo. Cada losango é constituído de quatro lados iguais com dois ângulos agudos de 70° e dois ângulos obtusos de 110° (Dadant & Sons, 1975). Como a base da célula é formada por três losangos justapostos, cada um forma um terço da área e geralmente são 1.59 vezes mais espessos que as paredes das células em favos de operárias (Betts, 1932). A espessura da base da célula, em lâminas de cera de crias novas, fica em torno de 0.635 mm antes de ser usada pelas abelhas e de 0.2032

mm depois de construídos os favos totalmente (Dadant & Sons, 1975). As paredes das mesmas células quando construídas, geralmente permanecem em 0.0635 mm para operárias e 0.094 mm para células de zangões (Dadant & Sons, 1975). Em favos naturalmente construídos, sem lâminas de cera alveolada, as bases se aproximam de 0.0889 mm e as paredes das células permanecem igualmente em 0.0635 mm (Coggshall & Morse, 1984).

Na criação intensiva das abelhas *A. mellifera*, a questão do tamanho da célula do favo de cria tem sido tópico de grande interesse e de muitas controvérsias desde o começo do século XX (Boudoux, 1933).

A controvérsia relacionada, por exemplo, com a idade do favo e seu possível efeito no tamanho da cria emergente data desde a metade do século XIX (Root, 1974). É costume aconselhar a renovação dos favos a cada dois ou três anos para evitar que a redução do tamanho das células, devido ao acúmulo de casulos e outros materiais aderentes, possam resultar em uma redução no tamanho da abelha e uma conseqüente redução da capacidade de trabalho das abelhas. Entretanto, não existem dados concretos para apoiar essas suposições (Dadant & Sons, 1975; Winston, 1987). Em 1865, foi declarado que os favos eram bons por um período de 10 a 15 anos, devido ao fato que enquanto os fundos das células de crias estavam cheios com tecidos da pupa da última muda, acúmulo de casulos, excrementos e envernizado como resultado de cada geração de abelhas, as paredes laterais só eram engrossadas ligeiramente, e que as abelhas as alongavam para compensar o engrossamento do fundo da célula (Dadant & Sons, 1975). Muitas das figuras mais proeminentes na profissão da apicultura tomaram parte nesta questão, a maioria afirmando que a idade do favo não afetava materialmente o tamanho das abelhas emergentes (Dadant & Sons, 1975; Root, 1978). Na Alemanha, foi demonstrado que ao encher favos novos e velhos com água, embora o fundo da célula estivesse engrossado notoriamente pelas gerações emergentes, o volume da célula não sofreu grande alteração devido ao alongamento compensatório das paredes laterais (Winston, 1987). Em outro estudo, através de medidas físicas nas células, mostrou-se que não existe nenhuma diferença no espaço geral das células de cria de favos velhos e novos (Michailov, 1926). Em 1927, abelhas no norte da África e na Palestina foram mantidas sobre favos construídos de lâminas de cera alveolada de Root tipo européia, contendo 856 células/dm² durante centenas de gerações, e não foi encontrado nenhum

efeito no tamanho das abelhas (Root, 1974), porém é importante notar que o tamanho da célula do favo de operária natural, para a maioria das raças de abelhas africanas e abelhas africanizadas, é de 950 células/dm² (4.92 mm/célula) com intervalos de aproximadamente 920 a 1050 células/dm² ou 5.0 a 4.7 mm/célula (Erickson et. al., 1990).

Não obstante, na Rússia o estudo do efeito de favos velhos sobre o tamanho das abelhas emergentes foi testado pela primeira vez por Tuenin (1927), que mostrou que como o número de gerações que emergiram das células do favo foi mais numeroso, as células e as abelhas resultantes tornaram-se menores, como indicado pelo peso reduzido das abelhas emergentes. Outros trabalhos indicam que favos velhos e escurecidos pelo tempo contêm tecidos da pupa da última muda, casulos acumulados e excrementos resultantes das várias gerações de abelhas e que, portanto, podem ter o volume das células diminuído, provocando assim uma redução no tamanho da abelha emergente (Grout, 1937a; Berry & Delaplane, 2001). Segundo Winston (1987), as abelhas operárias que limpam as células não removem os casulos, elas preferencialmente limpam e envernizam o interior da célula deixando o casulo no lugar e, com isso, as células ficam cada vez menores e, ao longo do tempo, uma abelha menor é produzida. Buchner (1955) demonstrou que abelhas operárias criadas em células de operárias das quais 68 gerações de abelhas haviam emergido, pesaram em média 96.1 mg, enquanto que abelhas criadas em favos novos pesaram 118.3 mg.

Com a invenção da lâmina do favo artificial por Mehring, em 1857, foi realizado pela primeira vez um controle no tamanho das células construídas pelas abelhas, desde que descobriram que as abelhas construíam células com as mesmas dimensões da célula base na lâmina de cera alveolada, sendo a importância da invenção da lâmina artificial a eliminação de favos de zangões em excesso, que resulta em colônias compostas quase completamente de favos de operárias (Dadant & Sons, 1975). Também iniciou-se um estudo do tamanho exato das células construídas pelas abelhas (Grout, 1931). De acordo com Dadant & Sons (1975), Collin mediu as dimensões das células de crias em favos de operárias e declarou que haviam 854 células/dm² e Langstroth repetiu a experiência constatando que haviam 838 células/dm² e Dadant confirmou seus resultados.

De acordo com Baudoux (1933), na Itália foram calculadas medidas nos favos naturais registrando 860 células/dm²; em outra região da Itália mediram favos naturais de três colônias diferentes e encontraram que havia uma variação considerável no tamanho

das células, de 813, 807 e 854 células/dm². Baudoux (1934) mediu favos tomados de duas colônias diferentes e encontrou que, enquanto o favo de cria de uma colônia media 854 célula/dm², o favo de outra, media 807 células/dm². Segundo Miller (1910), em um pedaço de favo medido horizontalmente havia 42 células em 21.6 cm, e medido verticalmente havia 38 células em 17.0 cm, tendo 435 células/dm², já em 36 medidas encontrou-se que o diâmetro de uma célula do favo variou de 4.86 a 5.36 mm.

Pesquisas sobre o uso de favos com células aumentadas mostraram que, de acordo com os tipos de abelhas em um determinado país, o tamanho da célula do favo natural apresentou grande variabilidade, dependendo da zona (Mirza, 1962). Assim, no altiplano da Transilvânia, o diâmetro horizontal comum foi de 5.50 mm, variando entre os limites de 5.24-5.88 mm e nas zonas montanhosas o tamanho da célula variou nos limites de 5.35-5.88 mm de diâmetro (Mirza, 1962). Outra pesquisa em relação ao tamanho da célula do favo natural construído por populações de abelhas na Romênia (Antonescu, 1965) demonstrou que há uma grande variabilidade no tamanho da célula e que nas zonas montanhosas esses tamanhos ultrapassam o tamanho da célula do favo de cera alveolada (5.88 mm). Consequentemente, em uma zona que representa um terço do território da Romênia, o uso de favos que têm células com um diâmetro horizontal de 5.65 a 5.88 mm constitui uma reserva importante para o aumento da produtividade da colméia em todos os setores (Antonescu, 1965).

Em relação ao tamanho das células construídas por raças diferentes de abelhas, Pincot, segundo Gillet-Croix (1927), reportou que a raça italiana constrói 764 células/dm², as abelhas de Borgonha constróem 798 células/dm², a abelha preta nativa da França constrói 854 células/dm² e que uma “abelha comum” tem 924 células/dm². Em favos de mel das abelhas operárias pertencendo à raça pura de *Apis m. ligustica*, foi claramente provado que o tamanho da célula, ainda em zonas relativamente limitadas, variou dentro de um amplo intervalo, mais exatamente entre 860-760 células/dm² (Root, 1978), enquanto que as células de zangões apresentam de 6.2-6.4 mm de diâmetro (Von Frisch, 1974). As abelhas africanas *A. m. adansonii* constróem células de operárias e zangões de 4.8-4.9 mm e 6.0-6.3 mm de diâmetro respectivamente, e criam abelhas menores nessas células (Winston, 1987) em comparação com as abelhas européias que constróem células de operárias maiores de 5.1-5.4 mm de diâmetro (Erickson et. al., 1990). Não obstante, colônias com tamanho de células intermediárias, as quais podem

incluir algumas colônias européias silvestres e híbridas entre abelhas africanizadas e européias, não têm sido avaliadas com exatidão até o momento (Spivak & Erickson, 1992).

Segundo Grout (1931), Baudoux foi o primeiro a defender o uso da lâmina de cera artificial com uma célula base aumentada e informou que em favos naturais a maior parte tiveram 825 células/dm² em comparação com certas lâminas de cera artificial que apresentaram maior quantidade (907 células/dm²). Baudoux (1927), devido à redução no tamanho das abelhas em favos que tinham 912 células/dm², concebeu a idéia de criar abelhas em lâminas de cera com células aumentadas, sendo a grande polêmica do autor para a época, expressando que as abelhas nutrizas, seguindo um instinto natural, acumulavam no fundo da célula maior quantidade de alimento larval e que isto resultava em uma abelha maior.

Boudoux (1927), por meio do alongamento das células em lâminas de cera alveolada, experimentou vários tamanhos de favos de crias contendo 750 células/dm², 740, 730, 710, 700 e até 675 células/dm² (6.0 mm/célula) e determinou o alcance da língua das abelhas de suas colônias e o diâmetro do tórax, encontrando que com um aumento de 50 células/dm² no tamanho da lâmina de cera, houve uma diminuição correspondente de 0.5 mm no alcance da língua e os diâmetros do tórax foram de 3.7 mm, 3.9 mm, 4.1 mm, e 4.3 mm para as abelhas criadas em lâminas de cera alveolada contendo 850, 800, 750 e 700 células/dm² respectivamente. Chegou-se à conclusão que lâminas com 700 células/dm² gerou uma abelha com dimensões maiores do que aquelas criadas em células de tamanhos reduzidos, concluindo, logo após, que o menor tamanho da célula, 920 células/dm² (= 5.0 mm de largura/célula), foi prejudicial para o desenvolvimento e a produtividade da colônia. Não obstante, Baudoux acreditou que poderia alterar geneticamente o tamanho das abelhas ao provê-las com células maiores e, conseqüentemente, testou sua pesquisa defendendo o uso de células enormes (como 650 células/dm² = 6.0 mm de diâmetro/célula). Como prova de sua teoria, Baudoux demonstrou, assim como outros, que abelhas criadas em células pequenas foram significativamente menores do que aquelas criadas em células maiores, porém, nenhum fator herdável foi demonstrado no tamanho da abelha, nem demonstrou que a capacidade para produzir células maiores sob essas circunstâncias foi geneticamente determinada (Grout, 1931; Erickson et. al., 1990).

Independente do trabalho feito por Baudoux, Gillet-Croix (1927) teve a idéia de criar abelhas em células aumentadas de um ângulo ligeiramente diferente. Notando a diferença no tamanho das abelhas de um enxame colocado sobre lâminas de cera alveolada e no tamanho das abelhas criadas em favos naturais, chegou-se à conclusão que este fenômeno foi devido às células naturais serem maiores do que aquelas puxadas sobre a lâmina e as medidas feitas confirmaram sua teoria. Gillet-Croix (1927), experimentando com lâminas de cera contendo 736 células/dm², verificou-se que durante um período de dois anos, 30 colônias usando este tipo de lâmina alveolada, coletou aproximadamente um terço mais de mel que 30 colônias sobre lâminas de cera normal. Lovchinovskaya (1930) verificou também que as abelhas criadas em células alargadas pesaram mais e tiveram maior capacidade de carga, e dos resultados de uma estação, elas produziram mais mel. Segundo Milne Jr. (1980) o peso da pupa de operária é uma característica economicamente importante porque colônias com pupas mais pesadas produzem mais mel que colônias com pupas de menor peso. Posteriormente, Milne Jr & Friars (1984) indicaram que a heredabilidade do peso pupal, baseado sobre diferenças fenotípicas individuais, foi estimada em $h^2 = 0.645 \pm 0.065$, indicando que seleção por aumento do peso pupal é possível e dependendo da correlação genética, pode haver uma resposta correlacionada com a produção de mel.

Certamente a criação de abelhas em células de cria de maior tamanho preocupou a muitos apicultores e cientistas em vários países no mundo. Lovchinovskaya (1930), da Rússia, desenvolveu uma investigação em relação ao efeito das células de maior tamanho sobre o tamanho e a atividade das abelhas. Para este propósito usou várias lâminas de cera alveolada com células base aumentadas de 5.85 mm de diâmetro em relação às células normais de 5.45 mm e os resultados de 10 colônias mostraram que as abelhas colocadas nas células aumentadas tiveram uma vida normal, e as abelhas operárias e a rainha trabalharam normalmente, não obstante, quando apenas um favo com células maiores foi colocado entre nove favos de tamanho normal em uma colônia, a atitude da rainha pelas células maiores foi mudada e não ovopositou nas células aumentadas, apesar do fato que as abelhas trabalharam normalmente em ambos tipos de células e quando a experiência inversa foi empreendida, colocando nove favos com células aumentadas e um favo de tamanho normal, a rainha botou ovos imediatamente nas células maiores,

concluindo que as abelhas operárias consideraram com indiferença as células aumentadas enquanto que a rainha preferiu as células menores.

Lovchinovska (1930) continuou com suas pesquisas e mostrou que: (1) Abelhas das células aumentadas pesaram mais que abelhas criadas em células normais; (2) O peso médio das abelhas durante um ano variou de acordo com as condições climáticas ao longo do ano; (3) As abelhas maiores, como também as abelhas normais, foram mais pesadas durante o mês de maio e diminuíram em peso durante os próximos três meses; (4) O peso das abelhas que deixam a colméia foi maior durante a primeira metade do dia; (5) O peso das abelhas emergentes foi entre 5% e 6% maior para abelhas que emergiram das células maiores; (6) As abelhas emergindo de ambos grupos pesaram mais do que as abelhas de mais idade; (7) No caso das abelhas que voltaram à colméia, o peso das abelhas maiores excedeu o peso das abelhas normais em 10.7%, enquanto no caso das abelhas que deixaram a colméia, as abelhas maiores excederam apenas 4.8%; (8) A carga de mel levada no estômago nas abelhas foi 52.6% mais pesada que a levada pelas abelhas normais; (9) A abelha normal levou uma carga igual a 14% de seu próprio peso enquanto uma abelha maior levou uma carga igual a 20.4% de seu próprio peso.

Claramente, abelhas operárias maiores resultam de células maiores e essas operárias possuem línguas mais longas, maior estômago e armazenam o mel em células maiores (Boudoux, 1933; Betts, 1932; Grout, 1931; Winston, 1987). Porém, não existe nenhuma evidência sobre a qual uma colônia composta completamente de abelhas maiores produz maior quantidade ou excesso de mel do que uma colônia de abelhas menores (Erickson et. al, 1990). Além disso, estudos comparando a taxa de crescimento da população ou tamanho da população entre colônias povoadas por abelhas menores e abelhas de maior tamanho, são necessários (Spivak, 1992). Mesmo assim, pesquisadores demonstram que colônias de abelhas menores (abelhas Africanizadas) constroem favos com maior rapidez que colônias de abelhas maiores européias; porém, pesquisa é necessária para determinar se o tamanho da célula é ou não um fator determinante neste assunto (Echazarreta & Paxton, 1997; Lee & Winston, 1985). Finalmente, e talvez o mais importante, é a falta de trabalhos da influência do tamanho da célula sobre a taxa de desenvolvimento individual das abelhas, sobrevivência a fortes invernos ou outras características que induzem estresse nas abelhas (Erickson et. al., 1990).

Estudos recentes demonstraram amplamente o uso de um satisfatório diâmetro da célula do favo natural, considerando que a maioria das lâminas de cera produzidas atualmente estão entre 5.22 mm a 5.55 mm de diâmetro, e que reduzindo o tamanho da célula base para 5.0 mm, (4.3% - 10% de redução) pareceu aumentar significativamente a viabilidade da cria e a produtividade da colônia (Lusby, 1997; Flottum, 1998). Outra pesquisa registrou que, em sua latitude, um tamanho da célula de 5.0 mm pode ter sido 0.1 mm em excesso, e indicaram que um tamanho da célula menor de 4.9 mm pode ser melhor (Flottum, 1998). Colônias com favos naturais novos pareceram enxamear menos e indicaram uma construção mais rápida dos favos pelas abelhas, além de colônias mais saudáveis e mais produtoras de mel, com células de menor tamanho (Lusby, 1997; Erickson et. al., 1990).

Medidas do diâmetro da célula e da área do favo têm sido usadas por muitos pesquisadores para distinguir abelhas européias das subespécies africanas no campo (Rinderer et. al., 1986a; Spivak et. al., 1988). Medidas sobre o tamanho da célula em abelhas européias criadas nos Estados Unidos têm sido registradas previamente, Taber & Owens (1970) em Tucson, Arizona, encontraram 5.21 cm/10 células (5.21 mm/célula), Seeley & Morse (1976) reportaram 5.20 cm/10 células ou 5.2 mm/célula, em Louisiana foram encontradas 5.2-5.3 cm/10 células (Rinderer et. al., 1982) e na Califórnia 5.27 cm/10 células (5.27 mm/célula) em 900 células analisadas (Daly, 1990).

O tamanho da célula do favo de operária natural, quando medido entre várias raças de *Apis mellifera*, caracteriza-se por ter grande variação, entre 700 a 950 célula/dm², não obstante, para a maioria das raças de abelhas melíferas, o tamanho da célula do favo natural apresenta 857 células/dm² (=5.1 mm/célula) e intervalos de medição de aproximadamente 830 a 920 célula/dm² ou 5.0 a 5.3 mm de diâmetro/célula (Root, 1978). Foram conduzidos experimentos para determinar se o tamanho das células onde as abelhas se desenvolvem afeta o tamanho das células que elas constróem e os resultados indicaram que quando o tamanho das abelhas foi modificado pelo uso de lâminas de cera alveolada com células maiores (=5.37±0.033 mm/célula) ou menores (=5.08±0.019 mm/célula), as abelhas resultantes construíram células naturais, cujo tamanho foi relacionado com a origem genética da abelha e não com o tamanho da abelha (Spivak & Erickson, 1992). Abelhas européias criadas em colônias com lâminas de cera não comercial contendo células menores (=5.08±0.019 mm/célula)

subseqüentemente construíram células naturais que foram significativamente maiores ($=5.26 \pm 0.042$ mm/célula) que as células das quais elas emergiram (Spivak & Erickson, 1992). A tabela 1 resume outros trabalhos sobre o tamanho natural da célula do favo de cria em colônias de *Apis mellifera*.

Tabela 1 Valores relativos do tamanho natural da célula do favo utilizando várias unidades populares de medição.

Fonte	Ano	Unidade original de medição	Diâmetro da célula em mm	Intervalo
Swammerdam	1600's	células/dm ²	5.1	
Maraldi		"		5.0-5.4
Reaumur	1700's	"	5.3	
Klugel		"	5.3	
Castillon		"		5.3-5.5
Latreille	1800's	"	5.4	
Vogt		"		5.3-5.5
Collin	1865	"	5.2	
Langstroth/ Dadant		"	5.3	
Root	1876	células/pol.	5.2	
Cheshire	1886	"	5.1	5.06-5.45
Cowan	1898	células/pol ²	5.1	4.72-5.36
Cook	1904	"	5.1	5.06-5.45
Miller	1910	"	5.1	5.11-5.29
Grout	1937	células/dm ²		4.95-5.49
Taber & Owens	1970	mm/célula	5.2	4.99-5.45
Dadant	1946	células/dm ²	5.2	5.06-5.20
Dadant	1975	"	5.2	
Message & Gonçalves	1985	mm/célula	5.1	5.07-5.11

Fonte: Erickson et. al. (1990); <http://www.beesource.com/lov/lusby/celltell.htm>

A partir de 1956, com a introdução da abelha africana no Brasil iniciou-se o processo de africanização, inicialmente com um impacto altamente negativo causado pela agressividade das abelhas e desconhecimento de métodos de manejo dessas abelhas (Gonçalves, 1996). Porém, durante este processo de africanização dos apiários brasileiros, notou-se também que o tamanho das abelhas que estavam predominando sobre as tradicionais *Apis mellifera mellifera* (abelhas européias) eram menores que

estas, assim como a espessura do favo e diâmetro externo das células (Cosenza & Batista, 1974). Kerr et. al. (1967) obtiveram para as células de favos de operárias de *A. m. ligustica* 4.96 ± 0.122 mm de diâmetro, para as de *A. m. adansonii* 4.74 ± 0.099 mm e para os F₁ média de 4.56 ± 0.130 mm (este é um dos poucos caracteres dos F₁ que não são intermediários). Wiese (1970) notificou que as abelhas Africanizadas em Santa Catarina apresentaram-se menores que as italianas e que as células de seus favos mediram em média 4.73 mm de diâmetro. Rinaldi et. al. (1972) indicaram que a medida linear de 10 células de um favo africanizado na Argentina foi de 4.85 cm e apresentou 909 células/dm². Favos de abelhas Africanizadas da Venezuela mediram 4.8-4.9 cm/10 células ou 4.82 mm/célula (Rinderer et. al., 1986a). No entanto, Collins et. al. (1984) encontraram que as abelhas Africanizadas da Venezuela construíram células com 5.26 ± 0.02 mm de diâmetro e não mostrou diferença significativa com o diâmetro da célula de 5.28 ± 0.02 mm das abelhas européias de Louisiana (EUA). Recentemente no México, Quezada-Euán & Paxton (1999) encontraram que o diâmetro da célula de operária foi significativamente maior em grupos de colônias de abelhas européias que em colônias de abelhas Africanizadas.

Geralmente, abelhas européias constróem no ninho maior quantidade de favos, especificamente favos de operárias, que as abelhas Africanizadas (Winston et. al., 1981). Porém, muitos estudos atestam que colônias de abelhas Africanizadas constróem favos de zangões com áreas maiores que colônias de abelhas européias (Winston et. al., 1981; Lee & Winston, 1985). Recentemente, Echazarreta & Paxton (1997) reportaram, apoiando a pesquisa inicial, que abelhas Africanizadas no México construíram não apenas uma maior área de favos de zangões mas também uma quantidade absolutamente maior de favos de zangões que abelhas européias.

1.2 Estudos sobre a variabilidade morfológica das abelhas *Apis mellifera*.

O problema de criar abelhas maiores e especialmente abelhas com línguas mais longas ou com línguas de maior alcance, tem sido tópico de grande interesse desde o começo do século XX. Segundo Root (1974), esse problema alcançou seu maior interesse quando colônias de um apiário forrageavam os alongados tubos das corolas florais do trevo vermelho (*Trifolium pratense*). Posteriormente, rainhas criadas nessa

mesma colônia foram comercializadas com a garantia de que produziriam abelhas com línguas suficientemente longas para adquirir néctar do trevo vermelho, porém, essas características incomuns foram logo perdidas.

Segundo Grout (1931), foi o grande naturalista Huber quem primeiro tentou investigar o efeito do tamanho das células sobre o tamanho das abelhas *Apis mellifera*, onde ao remover de uma colméia todos os favos que tinham células de operárias, deixando apenas favos de zangões, observou-se que a rainha finalmente ovopositou com relutância no favo de zangão, mas no dia seguinte as larvas desapareceram de suas células, não obstante, ao colocar na colméia um favo de células menores contendo crias de zangões operculadas, observou-se que as abelhas se fixaram no favo para remover as crias de zangões das células de forma que a rainha poderia ter um lugar satisfatório para a ovoposição. Em outros experimentos conduzidos por Huber, depois de remover as larvas de zangões, tentou-se criar abelhas operárias em células de zangões enxertando larvas de operárias com 1 dia de idade em células de um favo de zangão e essa experiência teve êxito, mas ao examinar a pupa em uma fase avançada, não foi reconhecida nenhuma diferença no tamanho das abelhas, não obstante, Huber repetiu a mesma experiência usando larvas de zangões em vez de larvas de operárias e, desta vez, observou-se que os zangões criados nas células de zangões foram maiores que aqueles criados em células de operárias.

Muitos pesquisadores, desde Huber, conduziram experiências semelhantes e observaram o fenômeno da cria de operárias criadas em células de zangões (Grout, 1931; Glushkov, 1956). Desta maneira, Alley em 1869, de acordo com Dzierzon (1882), observou ao colocar uma rainha e 1.4 Kg de abelhas sobre favos de zangões, que abelhas operárias foram criadas nesses tipos de células, porém, ele não notou nenhuma mudança no tamanho das abelhas emergentes. Gundelach, segundo Michailov (1927), colocou um enxame de abelhas em uma colméia de observação, de paredes de vidro e com favos de zangões, e observou abelhas operárias emergindo dessas células. Outra pesquisa similar foi feita por Buttel-Reepen (1906) que investigou também o fenômeno da cria de operárias criadas em células de zangões. Outras pesquisas citadas por Michailov (1927) foram também feitas por Gunther, Klempin, Zarudski, Zesselski, Lehzen & Hanneman e Pincot no princípio do século XX em relação às larvas operárias criadas em células de zangões. Porém, nenhum desses pesquisadores investigou o tamanho da abelha através

de um estudo morfológico detalhado, mas dependeram completamente de exame visual em suas avaliações.

O primeiro exame microscópico das partes morfológicas das abelhas operárias criadas em células de zangão foi realizado por Martynov (1901), que mediu 100 probóscides de abelhas e determinou que o comprimento médio da probóscide das abelhas operárias, emergidas de células de operárias normais, foi de 6.06 mm, enquanto o comprimento da probóscide daquelas emergidas de células de zangões foi de 7.01 mm, mostrando um aumento de 0.95 mm. Uma investigação semelhante e mais extensa foi empreendida por Michailov (1927) que encontrou por acaso em uma de suas colônias, um favo de zangão contendo larvas de operárias. Desta forma, tomando vantagem dessa oportunidade, Michailov que previamente tinha declarado que não havia nenhuma grande diferença no tamanho das abelhas operárias criadas em células de zangão, fez um exame microscópico de 6 características de 200 abelhas, 100 abelhas analisadas de um favo de zangão e um número igual de um favo de cria normal, tomadas aproximadamente ao mesmo tempo, determinando por métodos estatísticos, que as abelhas criadas em células de zangões foram significativamente maiores que suas irmãs em células de operárias, chegando as seguintes conclusões: 1 – Abelhas operárias criadas em células de zangões pesaram 11.4% mais que abelhas operárias criadas em células de operárias; 2 – A probóscide aumentou 4.9% em comprimento devido ao efeito das células maiores; 3 – O aumento no tamanho da célula deu um aumento correspondente no comprimento da asa anterior direita de 2.7% e um aumento na largura da asa de 2.1%; 4 – O aumento do tamanho da célula causou um aumento na soma das larguras do terceiro e quarto tergito de 4.4%; 5 – Não houve diferença significativa no número médio dos hamulis sobre a asa posterior direita entre os dois grupos de abelhas; 6 – As abelhas criadas nas células de zangões foram determinadamente mais variáveis que suas irmãs em células de operárias, exceto no caso dos números de hamulis sobre a asa posterior direita onde, a variação foi consistente em ambos grupos e, portanto, não relacionado ao tamanho de célula.

Várias controvérsias também surgiram sobre o tamanho das abelhas e sua dependência em relação ao tamanho da célula de cria no começo do século XX (Root, 1978; Jagannadham & Goyal, 1983). A primeira referiu-se ao efeito da idade do favo no tamanho das abelhas emergentes e é inquestionável que isto teve uma grande influência provocando uma polêmica em relação à célula de maior tamanho na Europa. Ao mesmo

tempo, a segunda questão em relação ao alargamento das abelhas tornou-se um assunto importante na América e uma longa discussão em relação ao comprimento da probóscide das abelhas melíferas e sua relação com a habilidade de armazenar mel, com referência especial para forragear e polinizar sobre o trevo vermelho (Root, 1974). O anteriormente dito, influenciou para provocar uma grande polêmica em relação ao uso de favos com uma célula base aumentada sobre as abelhas melíferas (Baudoux, 1934; Kotogyan & Martirosyan, 1958).

O primeiro trabalho apresentando dados sobre variabilidade em abelhas *Apis mellifera* foi de Koshevnikov (1900-1905), quem introduziu medidas exatas de diferentes partes do exoesqueleto da abelha como método de estudo e analisou o número de ganchos (hamulis) da asa posterior. Logo após, em 1905, o mesmo autor apresentou dados que foram organizados em forma de uma tabela de correlação. Landacre, em 1901 (em Buttel-Reepen, 1906), observou o número de hamulis sobre a asa posterior das abelhas criadas em células de zangões, mas, segundo Kulagin (1906), seus dados não foram apresentados em forma estatística. Em 1903, Casteel & Phillips (em Goetze, 1930) fizeram um estudo biométrico da venação da asa de zangões e abelhas operárias e chegaram à conclusão que a variabilidade aumentada do zangão foi, em parte, devida ao tamanho aumentado das células nas quais foram criados. Merrill (1922) estudou a variabilidade da proboscide (glossa) e dos hamulis sobre as asas posteriores das abelhas e seus resultados e conclusões foram fortemente criticados na literatura. Phillips (1929) recalculou os dados apresentados por Merrill e descobriu que os resultados foram completamente normais e de acordo com os resultados de outras pesquisas.

Uma pesquisa realizada em 1904, por Kellogs & Bell (em Grout, 1931) demonstrou que houve maior variabilidade em simples veias das asas do que no comprimento ou largura da asa inteira e que houve uma maior variabilidade no número de hamulis sobre a asa posterior do que na venação da asa e que essa variabilidade foi maior tanto em operárias quanto o foi em zangões. Kellogs (1906), logo após, fez uma investigação adicional e concluiu que, com exceção do número de hamulis da asa posterior, zangões foram mais variáveis do que as operárias. Esse mesmo autor encontrou também que a variabilidade dos zangões criados em células de operárias foi maior que entre os zangões criados em células de zangões, e declarou que essa maior variação não foi devida a fatores extrínsecos especiais tal como o tamanho das células.

Nogueira (1979) encontrou uma ampla variação morfológica nas glândulas ácidas de 64% das rainhas analisadas, e dois tipos de glândulas ácidas em operárias: bifurcada e sem bifurcação. As glândulas ácidas de operárias criadas em células de zangões e em células de operárias não mostraram as variações morfológicas encontradas em rainhas (Nogueira, 1979). A característica analisada para determinar o tipo de indivíduo emergente da célula de zangão foi o número de ovariolos, os quais são considerados por muitos autores, como um dos parâmetros para classificar rainhas, castas intermediárias e operárias (Alpatov, 1929; Taber & Poole, 1973). Eckert (1934) encontrou 260 a 373 ovariolos nos dois ovários de rainhas e Weaver (1956) encontrou cerca de 150 a 175 ovariolos por ovário em rainhas e 5 a 10 ovariolos por ovário em operárias. Abelhas operárias de uma colônia experimental com rainha africanizada criadas em células de zangões apresentaram um número de ovariolos 161.7 vezes maior no ovário esquerdo e 132.7 vezes maior no ovário direito do que o número encontrado nos respectivos ovários de operárias criadas em células de operárias (Nogueira & Gonçalves, 1982).

O argumento do efeito do tamanho da célula sobre as abelhas adultas tem uma interessante ramificação, assim como o peso de emergência das abelhas que mostra tão ampla faixa como o tempo de desenvolvimento (Winston, 1987). Os intervalos de peso de emergência para as operárias está entre 81 - 151 mg de acordo com 17 estudos revisados (Winston, 1987). Abelhas adultas pós-emergente mostraram variabilidade similar de peso; o intervalo de peso médio por abelha, para amostras de somente 20 abelhas, foi de 81 a 140 mg (Mitchell, 1970). Gonçalves & Kerr (1970) verificaram que as rainhas africanizadas recém-nascidas pesaram em média 199.4 ± 23.6 mg, as italianas 208.4 ± 25.4 mg e as caucasianas 207.7 ± 21.1 mg. Um estudo feito no Brasil mostrou que as abelhas operárias Africanizadas se apresentaram menores em tamanho que as caucasianas (12.73 mm vs. 13.89 mm) e mais leves e, também, tanto os zangões quanto as rainhas africanizadas se mostraram menores em tamanhos e com menores pesos que as da raça caucasiana (Cosenza & Batista, 1974). Rinaldi et. al. (1971) constataram que a língua (glossa + postmentum + prementum) das abelhas Africanizadas na Argentina mede em média 5.81mm, das italianas 6.65 mm e a das caucasianas 6.75 mm. Groot (1953), Levin & Haydak (1951) e Bilash (1977) sugeriram que a população da colônia influencia a quantidade de alimento dado à larva e, consequentemente, o peso da abelha adulta. Dentro dos limites, abelhas criadas com uma alta proporção de operárias, 2800

abelhas nutrizas para cuidar de 400 ovos (Eishchen et. al., 1982) e 40.000 para 400 ovos (Daly et. al. 1995), foram associadas com aumentos da longevidade e peso da progênie.

Tuenin (1927) e Nogueira & Gonçalves (1982) demonstraram que o peso das abelhas operárias desenvolvidas em células de zangões foi muito maior que as abelhas nascidas em células de operárias ao mesmo tempo e na mesma colônia. Taber & Poole (1973) constataram que células de zangões contendo larvas de operárias receberam 8 vezes mais alimento que células de operárias contendo larvas de operárias. Outros como Glushkov (1956) e Vlasov (1965) citaram que as abelhas criadas em células maiores poderiam pesar mais e construir, em certos momentos, células mais compridas e que isto poderia ocorrer de acordo com teorias da genética que foram mantidas na Rússia por vários anos, mas não apoiadas por cientistas de outras partes do mundo.

A introdução das abelhas africanas (*Apis mellifera scutellata*) no Brasil (Kerr, 1967) conduziu à expansão da sua progênie ao longo das Américas (Stort, 1979; Rinderer, 1986). Logo após a introdução das abelhas africanas, houve a necessidade de identificar sua progênie africanizada (Michener, 1975). Na região neotropical, colônias de abelhas européias, que sofreram africanização, demonstraram uma mudança gradual no comportamento, tamanho da célula e morfologia das operárias para o tipo africanizado (Gonçalves, 1998). Esforços anteriores para prover identificações entre abelhas Africanizadas e abelhas européias baseadas na morfologia, usaram medidas univariadas que proveram resultados inconclusivos, dado que as medidas se sobrepuseram entre os 2 grupos de abelhas (Kerr, 1967; Rinaldi. et. al., 1971; Woyke, 1977). Identificações mais eficazes em abelhas Africanizadas foram obtidas quando métodos estatísticos modernos de análise multidimensional foram simultaneamente aplicados à medidas múltiplas (Daly & Balling, 1978; Stort, 1979), sendo que 25 caracteres morfológicos de variações subespecíficas foram selecionados daqueles estudados por outros pesquisadores (Alpatov, 1929; Goetze, 1930; Stort, 1979). O sucesso em classificar corretamente amostras de várias subespécies conduziu a outras aplicações multivariadas por vários autores (Cornuet et. al., 1975; Louis & Lefebvre, 1971) e todas estas análises foram usadas em abelhas européias. Daly et. al. (1982) descreveram procedimentos de coleção de dados que envolveram a projeção de imagens de estruturas morfológicas dissecadas com uma projeção microscópica sobre uma mesa digitalizadora conectada a um computador.

Onze das 25 variáveis morfométricas são conhecidas por estarem relacionadas ao tamanho do corpo geral e contribuir com a taxa de classificação correta de abelhas normais (Daly, 1992). Estas variáveis têm uma alta hereditariedade dos caracteres morfológicos de modo que a distinção fenotípica em tamanho, entre abelhas Africanizadas e abelhas européias tem uma base genética (Oldroyd et. al., 1991), porém, dificilmente abelhas européias menores podem ser produzidas através de condições ambientais anormais. A análise quantitativa dos caracteres morfológicos foi usada para definir raças de abelhas africanas na Tanzânia (Smith, 1961), até que Ruttner (1988) conduziu uma análise morfométrica completa de raças de abelhas africanas e indicou que a abelha Africanizada era *Apis mellifera scutellata* e foi bastante distinta da *A. m. adansonii* da África ocidental. Nielsen et. al. (1999) indicaram que o procedimento de identificação examina primeiro o comprimento da asa anterior, onde abelhas com comprimentos das asas acima de uma média determinada (9.12 mm) têm alta probabilidade de ser européia pura em origem e não são examinadas mais adiante, já as abelhas com comprimentos das asas abaixo da média estão sujeitas a análise mitocondrial e essas abelhas com comprimentos das asas anteriores menores, porém do tipo européia, são identificadas usando uma detalhada análise morfométrica discriminante.

Diferenças entre abelhas Africanizadas da América do Sul e das abelhas da África do Sul foram altamente significativas em relação à longitude da coxa (2.51 vs. 2.43 mm), tíbia (3.12 vs. 3.02 mm) e da asa posterior (4.13 vs. 3.98 mm) respectivamente, com as abelhas da África sendo também consistentemente menores (Bucu et. al., 1987; Stort, 1979). A análise multidimensional identificou corretamente 565 (95.6%) das 591 colônias africanizadas e identificou todas as 1.512 colônias européias (Rinderer et. al., 1993). Segundo Crewe et. al. (1994), a análise de componentes principais provê uma indicação clara que duas raças africanas formam agrupamentos distintos, que são dependente em uma interação complexa entre tamanho e cor, com *A. m. capensis* sendo geralmente menor e mais escura do que *A. m. scutellata*.

Tem sido de interesse, portanto, examinar os efeitos de circunstâncias incomuns durante a cria de larvas sobre a morfometria das abelhas operárias adultas. Abelhas Africanizadas criadas por abelhas nutrizas européias foram apenas ligeiramente maiores que abelhas Africanizadas em colônias africanizadas, e foram identificadas facilmente como Africanizadas através de estudos morfométricos (Rinderer et. al., 1986b). Abelhas

Africanizadas foram ainda maiores quando foram criadas por abelhas nutrizas européias em favo comercial de maior tamanho e foram identificadas corretamente (Rinderer et. al., 1986b). Colônias com privação nutricional severa foram incapazes de produzir abelhas européias e classificadas como Africanizadas, embora algumas abelhas criadas em laboratório foram classificadas como africanizadas (Herbert et. al., 1988). Um estudo de abelhas Africanizadas adultas que tinham sido parasitadas durante seu desenvolvimento por 0-5 varroas, indicou que os efeitos incompatíveis foram detectáveis apenas com altas taxas de infestação e principalmente envolveram as asas (Daly et. al., 1988). Finalmente, abelhas operárias européias, criadas em células de zangões em uma colônia com apenas favos de zangões, foram realmente menores que abelhas Africanizadas na maioria das medidas relacionadas ao tamanho e inusitadamente abelhas operárias maiores foram criadas quando a colônia foi provida com favos de operárias (Daly & Morse, 1991).

Segundo Quezada-Euán & Paxton (1999), as medidas morfométricas e dimensões da célula de operárias foram significativamente diferentes entre as colônias parentais (P) de abelhas Africanizadas e européias e observaram também, que colônias individuais mudaram drasticamente a morfometria de suas operárias e as dimensões das células construídas pelas abelhas de uma geração para outra (P para F₁, F₂, F₃) apresentando correlações consistentes entre morfometria e tamanho da célula, porém, todas as colônias, originalmente Africanizadas ou européias, assemelharam-se morfologicamente mais ao tipo africanizado através das gerações subsequentes.

1.3 O ácaro *Varroa jacobsoni* Oud. das abelhas do gênero *Apis*.

O ácaro *Varroa jacobsoni* é um ectoparasita de crias e adultos das abelhas do gênero *Apis* e é atualmente uma das pragas que mais causam problemas à apicultura comercial em grande parte do mundo (De Jong, 1990). Identificado no final do século XIX, pelo entomologista Edward Jacobson, foi descrito inicialmente, em 1904 por A. C. Oudemans, como parasita da abelha asiática *Apis cerana*, na ilha de Java, Indonésia (Delfinado & Baker, 1974; Grobov, 1977; Marin, 1978; Shabanov et. al., 1978). Foi novamente descrito por Gunther (1951), a partir de espécies provenientes da abelha asiática *Apis cerana* da ilha de Singapura. Em seu hospedeiro original *Apis cerana* é observada até os dias atuais, um equilíbrio muito grande na relação parasita/hospedeiro

(De Jong, 1988; Rath & Drescher, 1990). No início deste século, entretanto, quando se estabeleceu o contato dessa praga com a abelha *Apis mellifera*, ocorreu um grande impacto na apicultura mundial (De Jong, 1990) em razão da alta infestação verificada, culminando com a perda de milhares de colméias.

A família Varroidae foi classificada por Delfinado & Baker (1974) dentro da Ordem Mesostigmata que inclui os ácaros *Varroa jacobsoni* e *Euvarroa sinhai*, sendo estes, ácaros parasitas de abelhas selvagens e domésticas do sudoeste da Ásia, Índia, Coréia e extremo oriente asiático.

1.3.1 Histórico de expansão e dispersão

Pensava-se que estes parasitas não causassem grandes danos em seu hospedeiro original, na *Apis cerana*, devido à baixa infestação, principalmente em crias de zangões (Koeniger et.al., 1981), mas De Jong (1988) citou que, na Coréia do Sul, a varroa pode se reproduzir tanto em células de operárias quanto nas de zangões, embora prefira as células de zangões. Nas *Apis mellifera*, a infestação ocorre tanto nas crias de zangões como nas de operárias e com altos índices (Kulikov, 1965; Koeniger et. al., 1981).

As abelhas *Apis mellifera* tiveram seu primeiro contato com as colônias de *Apis cerana*, no início do século XX na Rússia, quando colônias foram introduzidas na Ucrânia pelos apicultores, local onde existiam somente colônias de *Apis cerana* parasitadas pelo ácaro (Crane, 1978). No ano de 1953, foi detectado em Moscou o ácaro na *Apis cerana*, e em 1964 na *Apis mellifera* (Smirnov, 1978). Alguns anos após o contato entre as duas espécies diferentes de abelhas, foi verificado que ocorria uma maior produtividade de mel nas colônias de *Apis mellifera*, fato este que propiciou a distribuição de rainhas mais produtivas desta região para outros países europeus e, conseqüentemente, a dispersão do ácaro (Crane, 1978).

A dispersão da varroa ocorreu e ocorre por diversas maneiras: 1 - Dentro de um mesmo apiário por meio de operárias e zangões que ao retornarem do campo entram em outras colônias, saques, trocas de favos, etc.; 2 - De um apiário para outro por meio de zangões infestados, introdução de rainhas, captura de enxames infestados,

etc. e 3 - Através de longas distâncias pela apicultura migratória (Claerr, 1978; De Jong et. al., 1982a; Ruttner, 1983)

O ectoparasita *Varroa jacobsoni* tornou-se um parasita da *Apis mellifera*, nos anos 60 devido a trocas de quadros com crias de colméias de *Apis cerana* com *Apis mellifera* no oriente, com o intuito de reforçar a apicultura (Delfinado, 1963; Shabanov et. al., 1978) e supõe-se que o ácaro tenha migrado da União Soviética para o Sul e centro da Europa por causa da importação de rainhas e da apicultura migratória. Na Alemanha o ácaro chegou pela aquisição de enxames de *Apis mellifera* da Rússia e de *Apis cerana* do Paquistão (Ruttner, 1983).

A varroa chegou na América do Sul em 1971 (Montiel & Piola, 1977), com a vinda de rainhas e favos com crias do Japão para o Paraguai trazidos por um apicultor e, no Brasil, a varroa foi introduzida por rainhas infestadas na região de Jundiaí (SP) em 1972 (Morse & Gonçalves, 1979; De Jong & Gonçalves, 1981). Em 1978, foi registrada sua presença na região de Rio Claro e Piracicaba, estado de São Paulo (Alves et. al., 1978). Segundo De Jong et. al. (1982a) ocorreu um processo evolutivo relativamente rápido que fez com que as abelhas Africanizadas se adaptassem a este novo parasita. Parte desta adaptação é devida às operárias de abelhas Africanizadas que são mais eficientes na detecção e remoção das crias parasitadas pelo ácaro (Guerra et. al., 2000). Atualmente, o ácaro é encontrado em várias regiões do mundo, tendo chegado em setembro de 1987 nos Estados Unidos da América (Needham, 1988) e no México foi detectado pela primeira vez em maio de 1991 (Amparán et. al., 1992), em 1994 foi detectada no Estado de Yucatan, considerada a região de maior importância para a apicultura nacional (Medina, 1998). Assim, apenas Austrália, Alasca, Nova Zelândia e partes de África, é que ainda estão livres deste parasita (Matheson, 1996).

1.3.2 Biologia do ácaro *Varroa jacobsoni*

A *Varroa jacobsoni* é um ectoparasita permanente das abelhas com alimentação e ovoposição característicos, parasitando larvas, pupas e abelhas adultas (Langhe & Natzkii, 1976; Shabanov et. al., 1978). Este ácaro possui um sistema de determinação de sexo haplo-diplóide ou arrenótoco, sendo que os machos são haplóides (n), com sete cromossomos (três submetacêntricos e quatro acrocêntricos), e as fêmeas

diplóides (2n), constituído geneticamente de quatorze cromossomos (Steiner et. al., 1982; Rehm & Ritter, 1989).

A fêmea e o macho apresentam grande dimorfismo sexual, principalmente em tamanho, coloração e forma de corpo (Langhe & Natzkii, 1976; Akwatanakul, 1975). As fêmeas são de cor marrom, seu corpo é elíptico e achatado, medindo de 0.91 a 1.08 milímetros de comprimento e 1.58 a 1.71 mm de largura (Steiner et. al., 1982) (Figura 1a). Possui quatro pares de patas com ventosas para a fixação nas abelhas; suas quelíceras possuem dígito móvel e dois dentes bem evidentes, estando ausente o dígito fixo (Englang, 1971; Delfinado & Baker, 1974). Seu período de desenvolvimento é de sete a oito dias (Ifantidis, 1983). O Sistema respiratório da fêmea é adaptado a condições de alta concentração de gás carbônico (CO₂), importante para sua sobrevivência quando a célula está operculada; e também a condições de grande aeração, durante o vôo da abelha (Langhe & Natzkii, 1976). Segundo Anshakova et. al. (1978), os ácaros preferem umidades altas e, diferenças de pressão de oxigênio e gás carbônico, não afetam seu comportamento. Existem diferenças morfológicas no ácaro *Varroa jacobsoni* correlacionadas com as espécies de abelhas hospedeiras. O comprimento do corpo apresenta-se diferente em ácaros coletados de *Apis cerana* e *Apis mellifera*, existindo uma alta correlação entre o tamanho do corpo do ácaro e o tamanho do hospedeiro, onde os menores ácaros foram observados em *A. cerana* do Sri Lanka (Delfinado-Baker & Houck, 1989).

Os machos adultos (Figura 1b) são de cor amarelada, seu corpo é arredondado medindo cerca de 0.85 mm de comprimento por 0.80 mm de largura (Langhe & Natzkii, 1976). Eles possuem quelíceras modificadas para a transferência dos espermatócitos, não conseguindo se alimentar morrendo após a cópula sem afetar as abelhas adultas (Delfinado & Baker, 1974; Langhe & Natzkii, 1976; Shabanov et. al., 1978). Estes machos possuem uma grande mobilidade (Ifantidis, 1983). O tempo de desenvolvimento do macho é de 5 a 6 dias, sendo este período cerca de 20 horas menos do que a fêmea, propiciando o processo de cópula (Ifantidis, 1983).

Figura 1 *Varroa jacobsoni*. Tamanho observado em um microscópio eletrônico. **a.** fêmea adulta original, **b.** macho adulto; **c.** Maneira esquemática de uma célula de cria de operária infestada pelo ácaro. O tamanho de uma fêmea adulta do ácaro é de 1.6 x 1 mm. * indica o lugar mais freqüente de alimentação na pupa depois da operculação. Fonte: a e b (IBRA, 1997) e c (Donzé et. al., 1998).

Geralmente, apenas um ácaro fêmea adulto entra na célula de cria, apesar de já ter sido observado 12 fêmeas em células de cria de operária e até 20 fêmeas em células de cria de zangão (De Jong, et. al., 1982b). As fêmeas fertilizadas entram nas células antes de serem operculadas (com zero a 5.5 dias), levadas pelas abelhas nutrizas durante o seu trabalho de alimentação das larvas (Akranakul & Burgett, 1975; De Jong et. al., 1982a). Estas fêmeas vão rapidamente para baixo da larva, andando lentamente entre a parede da célula e a larva, até atingir o fundo (Figura 1c) ficando inertes no alimento larval, este processo ocorre em um minuto (Boot et. al., 1994). Nenhum ácaro se fixa no alimento da larva se esta não tiver um peso de aproximadamente 100 mg para operárias e 200 mg para os zangões (Ifantidis, 1988). O ácaro entra no alimento larval e toma uma posição característica, aproximadamente 4-6 horas após a operculação da célula de operária, o alimento é consumido pela larva e o ácaro sai da posição em que estava (De Jong, 1984) e aproximadamente vinte horas em célula de cria de zangão (Ifantidis, 1983). Após a saída do alimento larval, o ácaro passa a se alimentar da

hemolinfa (Figura 1c), em pequenas quantidades e durante intervalos regulares, sem aumentar o volume de seu corpo (De Jong, 1984). Os ovos são colocados nas paredes das células (Smirnov, 1978), 60 a 64 horas após a operculação do alvéolo. O número médio de ovos por ovoposição, segundo England (1971) é acima de cinco; e segundo Grobov (1977) é de sete a oito, tendo uma variação de um a trinta e oito, mas segundo Ifantidis (1983) o ácaro pode colocar no máximo sete ovos em células de zangão e seis em células de operárias.

Normalmente, a descendência inclui apenas um macho que se desenvolve de um ovo posto cerca de 96 horas após a operculação da célula da cria (Ifantidis, 1983), sendo que, o primeiro ovo colocado é um ovo haplóide de macho seguidos por quatro a cinco ovos diplóides de fêmea, postos a cada 30 horas (Rehm & Ritter, 1989; Ifantidis, 1983; Donzé & Guerin, 1994). Entretanto, segundo De Ruijter (1986), uma varroa fêmea pode se reproduzir mais de sete vezes e o número máximo de ovos por fêmea chega a 30, sendo que, apenas as fêmeas jovens é que se acasalam com sucesso e produzem ácaros fêmeas, as demais produzem apenas machos. Após vinte e quatro horas torna-se larva hexápode medindo 0.6 por 0.5 mm e nas vinte e quatro horas seguintes atinge o estágio de protoninfa medindo 0.7 por 0.7 mm (fêmeas e machos), com oito patas e a fêmea alimenta-se da hemolinfa (Smirnov, 1978).

A deutoninfa é o próximo estágio, após dois dias, estando a fêmea com 1.0 por 1.3 mm e o macho com 0.75 por 0.8 mm e daí a três dias torna-se adulto (Langhe & Natzkii, 1976; Smirnov, 1978). O desenvolvimento do ovo ao ácaro adulto demora 6.9 dias para machos e 6.2 dias para fêmeas em *A. m. carnica* (Rehm & Ritter, 1989) e 5.5 dias para machos e 7.5 dias para fêmeas em *A. m. cecropia* (Ifantidis, 1983).

A fêmea e o macho nas fases de protoninfa e deutoninfa são diferenciados pelo seu sistema piloso, nas fêmeas os pêlos são distribuídos por todo o corpo e nos machos desenvolvem somente na região preanal (Langhe & Natzkii, 1976). O ácaro apresenta duas mudas, a primeira entre a protoninfa e deutoninfa quando não se movimenta e nem alimenta, preparando-se para a ecdise (Ifantidis, 1983) e a segunda entre a deutoninfa e adulto (Issa, 1985). Os ácaros fêmeas adultos abandonam as células fixados ao corpo da abelha e os machos morrem, sendo que o acasalamento ocorreu dentro da célula antes do nascimento da abelha (Grobov, 1977; De Jong et. al., 1982a). As fêmeas que reproduziram e saíram com as abelhas retornam ao local de reprodução

com uma frequência pequena. A porcentagem de ácaros que se reproduz e o número médio de descendentes do ácaro, segundo Van Esch & Beestma (1986), não depende da idade da abelha que parasitavam.

A densidade da varroa depende da reprodução da mesma e esta densidade influencia o crescimento da população de ácaros, pois com o aumento de células de crias infestadas, a proporção de ácaros machos diminui, reduzindo as taxas sexuais (Fuchs & Langenbach, 1988). Competição em células de crias infestadas não foi observada por mais de uma varroa adulta, onde membros de diferentes famílias convivem juntos, contudo o aumento do número de descendentes pode aumentar a competição neste sítio (Donzé et. al., 1996).

A fêmea do ácaro orienta-se no ambiente, segundo Bairak (1976), com ajuda dos órgãos do sentido (tato e olfato), localizados nos primeiros pares de patas de modo que os ácaros se movimentam sobre as abelhas quando elas estão em pouco movimento e não estão produzindo sons e concluiu-se que os ácaros são sensíveis ao odor das abelhas e a demora da fixação nas abelhas confirma o importante papel da excitação mecânica e sonora para a orientação da varroa fêmea.

1.3.3 Fatores que afetam a taxa de invasão e a reprodução do ácaro *Varroa jacobsoni* em células de crias.

Teoricamente um parasita para sobreviver não pode exterminar seu hospedeiro. Quando isto acontece, como no caso de colônias de *Apis mellifera* que morrem pelo ataque violento da varroa, sugere-se que o desenvolvimento da relação parasita/hospedeiro esteja incompleto (Ritter, 1981). A fêmea adulta do ácaro invade células de crias antes do fechamento da célula. A reprodução ocorre dentro da célula operculada e quando a abelha emerge, os ácaros e seus descendentes também deixam a célula (De Jong, 1984). Fêmeas do ácaro permanecem sobre as abelhas adultas até invadir novas células de crias (Ritter, 1981; De Jong, 1984). Detalhes sobre os processos de invasão do ácaro em células de crias podem conduzir ao entendimento da distribuição dos ácaros em diferentes tipos de células de crias.

Fuchs & Muller (1986) testaram a atratividade da larva de abelha pela varroa e observaram que esta larva é mais atrativa logo depois de sua operculação, e que a atratividade diminui durante o estágio pupal. Uma consideração importante sobre a biologia do ácaro é que eles preferem crias de zangões a crias de operárias (Morse & Gonçalves, 1979; Gonçalves et. al., 1981; Issa, 1985; Dustmann, 1993). É possível que o ácaro se alimente melhor nessa cria e que a temperatura inferior da periferia do favo e das partes laterais da colméia, tenham um papel importante sendo provável que o ácaro não se adapte a altas temperaturas de 34-35°C, que é a temperatura do centro da colméia (Shabanov et. al., 1978). O ácaro se desenvolve com maior velocidade em colônias fracas, onde o controle de temperatura é reduzido, e em colméias fortes o ácaro procura favos laterais onde a temperatura é menor do que o centro do ninho (Smirnov, 1978). Em *Apis mellifera*, a temperatura interna da colônia e a umidade relativa influenciam na dinâmica populacional da varroa, interferindo na fertilidade e fecundidade, sendo mais favoráveis ao ácaro umidade de 70% e temperatura de 32.5-33.4°C (Le Conte & Desenfant, 1990). Em *Apis cerana* a varroa se reproduz quase que exclusivamente em crias de zangões, que apresentam temperatura de 33°C, sendo 0.4°C menor do que em crias de operárias (Kraus et. al., 1998).

A varroa causa graves problemas em várias partes do mundo, principalmente nos locais que apresentam altos índices de infestação, precisando do uso de tratamentos químicos para evitar perdas de colônias (De Jong, et. al., 1982a). A determinação do índice de infestação varia de região para região, devido às influências que o mecanismo reprodutivo do ácaro sofre. Segundo Couto (1991), no Brasil, as maiores infestações nas operárias ocorrem no verão e as menores no inverno, havendo uma relação entre os níveis de infestação e a ocorrência dos zangões, pois no verão os zangões são menos frequentes, obrigando os ácaros a se deslocarem para as operárias. Marcangeli et. al. (1992a) observaram que na primavera acontece a maior taxa de reprodução do ácaro (72.0%), uma vez que no outono, a proporção de fêmeas que não se reproduzem é grande (55.8%), podendo levar a um crescimento diferenciado da população do ácaro durante as diferentes estações do ano, como nos países de clima temperado da América do Sul. Foi verificado na Argentina, que no inverno e no verão ocorreu maior reprodução da varroa, quando comparado com a primavera e o outono, e

cada ácaro fêmea produziu mais de três descendentes, além de pelo menos uma fêmea ter alcançado o estágio adulto (Fernández, 1994).

No Brasil, Moretto et. al. (1991) verificaram que as abelhas Africanizadas e italianas híbridas de São Joaquim – SC, região com inverno semelhante a alguns países da Europa, foram mais infestadas que os mesmos grupos de abelhas nas condições climáticas de Ribeirão Preto – SP. Entretanto, De Jong & Soares (1997) verificaram que nas condições climáticas do arquipélago de Fernando de Noronha, abelhas italianas puras introduzidas desde 1984 também mostraram tolerância ao ácaro *Varroa jacobsoni*. Nas regiões de clima tropical e subtropical da América do Sul, a reprodução efetiva da varroa é menor do que na Europa (Ritter & De Jong, 1984). No clima tropical, a porcentagem de ácaros que não se reproduzem no período de cria operculada é aproximadamente duas vezes maior do que na Europa, sendo considerado uma barreira para sua adaptação de modo que as diferenças climáticas podem ter uma influência na taxa de reprodução da varroa (Ritter & De Jong, 1984). A temperatura no ninho pode ser afetada por vários fatores interrelacionados, associados à época do ano, estágio de desenvolvimento da cria e posição destas crias no ninho (Levin & Collison, 1990). Ruttner et. al. (1984) verificaram que no Uruguai, as *Apis mellifera iberica*, *ligustica* e *carnica* não sofriam tanto com os ácaros como na Europa, apresentando proporções de varroas inférteis de 70% a 90% e de 85% a 93% (Rosenkranz, 1999), atribuindo esta resistência ao clima subtropical que não apresenta um inverno rigoroso.

Em *Apis mellifera carnica*, a preferência pela célula de zangão depende da proporção de células de zangão, em relação às de operárias. Há possibilidade de que pequenas áreas de cria possam atrair relativamente mais ácaros do que grandes áreas (Fuchs, 1990). A preferência pela cria de zangão, também é devido ao seu maior tempo de desenvolvimento, o que pode aumentar o número de ácaros que conseguem atingir o final de desenvolvimento (Morse & Gonçalves, 1979). A finalização da postura do ácaro em células de zangão ocorre quando o hospedeiro tem olhos escuros (Ifantidis, 1983). A produção estacionária da cria de zangões resulta em uma diminuição do crescimento populacional do ácaro nas colônias de *A. cerana* e em contraste *V. jacobsoni* se reproduz tanto em crias de operárias como de zangões nas colônias de *A. mellifera*, o que resulta em um aumento de 300 a 800 vezes o número de ácaros em um só ano (Kraus & Page, 1995; Martin, 1998).

Le Conte et. al. (1989) atribuíram a atração da varroa pela larva de zangão aos ésteres metil e etil dos ácidos graxos de cadeia plana, em particular do metil palmitato. A atração pelas crias de zangão de *Apis mellifera* foi atribuída aos feromônios e temperatura encontrados nestas células, que indicam condições favoráveis para reprodução do ácaro (Le Conte et. al., 1990). Assim, a varroa não se distribui uniformemente nos favos de cria, tendendo a se agregar em algumas células (Le Conte et. al., 1989). Com esta consideração três possibilidades podem ser levantadas segundo Le Conte et. al. (1990): a – As larvas, onde há concentração de ácaros fêmeas, devem produzir mais feromônios que as outras larvas. b – Quanto maior o número de operárias que cuidam de uma determinada larva, maior a possibilidade desse alvéolo ser infestado. c – As fêmeas da varroa podem produzir um sinal (feromônio) que atraia outras fêmeas.

O sistema endócrino da abelha e a reprodução do ácaro podem estar correlacionados (Cobey & Lawrence, 1988). Segundo Hanel (1983), a reprodução da varroa é sincronizada com a metamorfose da larva de abelha com ajuda do hormônio juvenil III (HJ_{III}). A concentração do HJ_{III} varia na larva de abelha, de acordo com sua espécie e sexo, sendo que as larvas de zangão de abelhas asiáticas e européias têm altos níveis, e operárias de abelhas asiáticas têm concentrações mais baixas do que as européias, sendo considerada duas vezes menor do que o ácaro necessita para se reproduzir (Hanel, 1983). A concentração de HJ_{III} varia também com a estação do ano, sendo que no verão as abelhas possuem maiores concentrações do que no inverno e estas concentrações de HJ_{III} são consideradas fatores que interferem na invasão do ácaro na célula de cria (Hanel & Koeniger, 1986). Entretanto, Rosenkranz et. al. (1988) citaram que o percurso do HJ_{III} em larvas, após operculação, independe do clima e da raça de abelha. Em colméias onde não há crias de zangões, as fêmeas do ácaro preferem as abelhas nutrizas, até as células de crias serem operculadas, onde as fêmeas da varroa selecionam estágios do hospedeiro para parasitar, conforme o seu feromônio (Steiner, 1993). Em colméias altamente infestadas, nenhum ácaro foi encontrado em células de zangões ou operárias, antes de 170 horas desde a postura da rainha, assim favos de cria podem ser trocados entre colônias antes de 7 dias, sem levar consigo o ácaro (Fuchs & Muller, 1986).

O tempo de desenvolvimento da cria do hospedeiro é um dos possíveis fatores que podem estar relacionados com o desenvolvimento da varroa, pois o ácaro

não deixa descendentes viáveis nas células de crias de operárias de *A. m. capensis* e deixa nas *A. m. carnica* (Moritz & Hanel, 1984); isto porque as *A. m. capensis* têm um período de desenvolvimento de 2.4 dias menor do que as *A. m. carnica*. As abelhas italianas são mais susceptíveis ao ataque da varroa do que as Africanizadas, devido ao tempo de desenvolvimento das Africanizadas ser menor do que o das européias, não propiciando a reprodução do ácaro (Moritz & Hanel, 1984; Moretto, 1988). Em abelhas Africanizadas, 51% dos ácaros não conseguem se reproduzir devido ao tempo de desenvolvimento das crias ser em média de 454 horas (Rosenkranz et. al., 1988). No Brasil, estudos demonstraram que a infertilidade da varroa em células de cria de operárias foi 43.2% em abelhas Africanizadas, 19.4% em cárnicas e 22.5% em italianas híbridas e, que na Alemanha a infertilidade foi de 9.0% em abelhas cárnicas, sendo significativamente menor do que no Brasil, de modo que, na abelha *Apis mellifera* o número de descendentes obtidos por fêmeas adultas que invadem células de operárias é maior nas abelhas de raças européias em relação às abelhas Africanizadas (Camazine, 1986; Medina & Martin, 1999). Estudos indicam que a alta mortalidade observada nos últimos descendentes (Medina, 2000) pode ser devido a fase imatura em que se encontram no momento da emergência da abelha (Martin, 1994), assim como a possibilidade de que as crias das abelhas de origem Africanizada não tenham as condições necessárias para uma ótima reprodução das fêmeas e para uma ótima viabilidade dos descendentes (Boot et. al., 1997). Segundo Corrêa-Marques (2000), a proporção de varroas que apresentaram reprodução com descendência viável foi de 40.5%, sendo semelhante a de 40% encontrada por Medina & Martin (1999) também em abelhas Africanizadas no México. Isso demonstra que o sucesso da varroa está, provavelmente, mais relacionado à raça da abelha do que a fatores relacionados à varroa, uma vez que o genótipo da varroa encontrada no México é diferente do encontrado no Brasil (De Guzman & Rinderer, 1999).

Resultados na reprodução, similares para as regiões de México e Europa e diferentes com as reportadas no Brasil (Medina, 2000), podem ser devidos ao genótipo dos ácaros. De acordo com os resultados obtidos por De Guzman & Rinderer (1999) ácaros do genótipo “Russo” de alta virulência foram coletados em populações de abelhas do México e Europa, diferente do genótipo “japonês” de baixa virulência observado nas abelhas Africanizadas no Brasil.

O tempo de desenvolvimento mais curto das abelhas *Apis mellifera* permite uma redução no tempo disponível para a reprodução do ácaro (Harbo, 1992). Le Conte & Cornuet (1988) citaram que o tempo médio de operculação das abelhas *A. m. ligustica* é cerca de 11.95 ± 0.39 dias e que este é muito influenciado pela estrutura da colônia, devido ao alimento oferecido à larva e a raça de abelha, sendo que as híbridas apresentaram o menor tempo de operculação. Buchler & Drescher (1990), por regressão linear, calcularam uma redução de 8.7% na infestação final do ácaro, para 1 hora de redução no período operculado da abelha européia. Guerra Jr. (1994) observou que o período de pós-operculação das crias de operárias de abelhas Africanizadas é em média de 11.5 dias e das italianas de 12.1 dias.

O tamanho do enxame interfere diretamente na infestação, Buriolla & Gonçalves (1983) encontraram uma correlação positiva entre o tamanho da colônia e o grau de infestação do ácaro tanto em células de crias como em abelhas adultas. Boot et. al. (1994) observaram que a taxa de invasão do ácaro aumenta com o maior número de células de crias disponíveis para a invasão e diminui com o aumento do tamanho populacional.

O comportamento de limpeza interfere na taxa de infestação do ácaro, sendo que a retirada de crias infestadas diminui a infestação (Moritz & Mautz, 1990). O comportamento de remoção de crias diminui o nível de infestação e a habilidade de detectar a cria infestada pode interferir no número de ácaros presentes nas células (Boecking et. al., 1992). A abelha adulta de *Apis mellifera capensis* é mais eficiente para remover ácaros do seu corpo do que as *Apis mellifera carnica* (Moritz & Mautz, 1990); e as Africanizadas também mostraram ser mais eficientes na detecção e remoção do ácaro que as abelhas européias e suas híbridas (Guerra Jr. et. al., 2000). As *Apis cerana* possuem um sistema de detecção e remoção do ácaro nas células de operárias, que os obrigam a se reproduzirem apenas nas células de zangões. Essas células de zangões possuem um opérculo muito grosso com um poro que controla os gases da célula (CO_2 e O_2) e quando este poro é tampado a prepupa de zangão morre asfixiada (Rath, 1992). As células de zangões infestadas são raramente desoperculadas evitando o crescimento da população da varroa (Dustmann, 1993).

Um indício provável da baixa infestação na *Apis cerana* é a temperatura da área de cria que fica entre 38 e 38.5°C durante a estação quente. A reprodução da varroa

é dificultada em temperaturas acima de 35.6°C; nenhum ovo é colocado em temperaturas acima de 38°C e os ácaros morrem. A temperatura ótima para o desenvolvimento da varroa é de 32 a 36°C, o que corresponde a temperatura da cria da *Apis mellifera* (Le Conte & Arnold, 1988).

Os feromônios de rainha ou outros mediadores químicos presentes na colméia podem afetar o parasita. O hospedeiro também pode ser capaz de se defender contra a picada do parasita pela eliminação de enzimas na hemolinfa e/ou pela resposta humoral e de tecido (Colin & González-López, 1986). A presença da rainha em colméias de abelhas Africanizadas afeta as infestações de varroa em células de crias de operárias. Cremonez & De Jong (2000) constataram que a taxa de infestação em crias de operárias aumentou significativamente quando a rainha foi removida da colônia e em um segundo experimento a taxa de infestação nas crias de operárias foi significativamente maior na parte de cima da colméia, onde não havia rainha ($6.0 \pm 2.7\%$), que no ninho de cria onde a rainha estava presente ($3.2 \pm 1.9\%$) e verificaram também que a infestação na abelha adulta foi maior no corpo da colméia sem a rainha, indicando que a varroa é sensível a mudanças na posição da rainha na colônia. De Jong (1981) verificou que a construção de realeiras em uma colônia influencia a entrada do ácaro em células de crias de operárias, e que o número total de ácaros entrando nas células de cria de operária/dia aumentou aproximadamente três vezes, imediatamente após a construção de realeiras pelas operárias. A presença de realeiras também faz com que a preferência do ácaro por células de zangões seja maior (Issa, 1994).

A taxa reprodutiva do ácaro varroa é influenciada pelo fluxo de alimento na colônia. Foi observado um maior número médio de descendentes/fêmea-adulta na época de maior fluxo de néctar e pólen (Moretto, 1988). Estudo recente sobre o efeito de cinco tipos de alimentos sobre a reprodução da varroa revelou que colônias em cultivos de *Majorana hortensis* tiveram menor taxa reprodutiva que aquelas colônias em cultivos de *Trifolium alexandrinum*, que registrou a mais alta taxa reprodutiva (Hassan, 2000).

1.3.4 Estudos da influência do tamanho da célula do favo de cria sobre infestações do ácaro *Varroa jacobsoni*.

Uma fase importante no ciclo de vida do parasito *Varroa jacobsoni* é a

escolha do tipo de célula de cria da abelha para a reprodução (De Jong et. al., 1985). Este aspecto tem sido estudado freqüentemente, especialmente a distribuição de ácaros sobre diferentes tipos de células havendo uma maior ocorrência de varroa em células de zangões (Fuchs, 1990). Alguns dos fatores examinados que influenciam o ácaro a selecionar entre diferentes células estão a idade, sexo e casta da larva, arquitetura do favo (De Jong & Morse, 1988; De Jong et. al., 1985) e tamanho das células (Message & Gonçalves, 1995).

A reprodução do ácaro varroa, em *Apis cerana* e *Apis mellifera*, se verifica exclusivamente dentro das células de operárias e zangões destas duas espécies de abelhas (De Jong, 1988). Em *A. mellifera* o ácaro encontrou melhores condições de desenvolvimento e alcança altas taxas de infestação gerando graves conseqüências para a apicultura mundial (Morse & Goncalves, 1979; De Jong et. al. 1984). O maior desenvolvimento da varroa sobre as abelhas se deve, entre outras coisas, a capacidade do ácaro para produzir maior número de descendentes viáveis nas células de operárias de *A. mellifera* (De Jong, 1988).

A diferença entre abelhas européias e africanas ou abelhas Africanizadas tem estimulado uma grande quantidade de pesquisadores a determinar que fatores influenciam a preferência de *Varroa jacobsoni* em vários tipos de células de cria. Operárias desenvolvidas em tamanho de células construídas pelas abelhas italianas apresentam uma maior infestação do que nas células de abelhas Africanizadas, independentemente da subespécie que as povoa (Message & Gonçalves, 1983; Message, 1986). Segundo Message & Gonçalves (1984), a infestação e reprodução do ácaro em células de operárias, cujo diâmetro era maior entre 5.07 a 5.11 mm, foi superior em 11.5% quando comparada com as células de menor diâmetro entre 4.50 a 4.77 mm (4.8%). A notável preferência por células de zangões também tem sido observada em abelhas Africanizadas. Zangões criados em células de operárias foram menos infestados do que quando desenvolvidos em suas próprias células (maior tamanho), mas foram mais infestados do que operárias em células de zangões, indicando que há um fator inerente à larva de zangão causando esta diferença (Issa, 1985; Issa et. al., 1993).

Segundo Issa et. al. (1985), a porcentagem de células infestadas em abelhas Africanizadas foi de 7.6% para larvas de operárias e 40.6% para larvas de zangões; geralmente, cerca de 40% das células de zangões são infestadas, entretanto, para células

de operárias a média está cerca de 10% e zangões adultos foram também mais infestados que operárias adultas, com uma taxa de infestação de 0.29 para zangões e 0.06 para operárias. Um, dois, ou três ácaros são usualmente encontrados em células de zangões, enquanto que em operárias, a maioria das células apresentam apenas um ácaro (Issa et. al., 1985).

A invasão das células pelas fêmeas da varroa ocorre em torno de 15-20 horas antes da operculação para cria de operária e em torno de 40-50 horas para células de cria de zangões (Boot et. al., 1992). Segundo Boot et. al. (1995b), os ácaros invadem células de zangões 11.6 vezes mais que em células de operárias. Crias de diferentes idades foram simultaneamente expostas à invasão do ácaro durante 3 horas em uma colônia altamente infestada e um número relativo de ácaros/célula aumentou com a idade da larva (Boot et. al., 1992). A distribuição diferencial de ácaros sobre diferentes células de crias em uma colônia usando apenas as taxas relativas de invasão/dia foi calculada, segundo Boot et. al. (1995a), observando-se que as taxas relativas de invasão/dia para células de crias foi de 0.56 para operárias e 6.5 para cria de zangão. Esses valores são o resultado de possíveis fatores que afetam a invasão em diferentes células de crias. A distância entre a larva e a abertura da célula afeta o número de ácaros que invadem a célula de cria e sendo mais importante do que o tamanho da larva. A maioria dos ácaros percebem a larva a uma distância de 3 mm, mas alguns deles reagem à presença da larva a uma distância de 4 a 5 mm (Goetz & Koeniger, 1993).

Atualmente, o não uso de produtos químicos na apicultura busca dar real importância a velhos e graves problemas, tal como a morte de abelhas devido ao uso de pesticidas e a novos problemas como ácaros parasitas. A procura para um entendimento da importância do diâmetro da célula do favo, tem sido assunto nos últimos anos que emana fora das atividades normais da criação das abelhas, em busca de métodos que possam resolver problemas de doenças e ácaros parasitas nas colônias (Lusby, 1997). Erickson et. al. (1990) encontraram que 40% das colônias mantidas com células do favo de menor tamanho sobreviveram ao ácaro varroa. Abelhas locais na Arizona (EUA) criadas em favos com células de menor tamanho sobreviveram ao ataque violento da varroa e tiveram menos de 10% de infestação, assim como as infestações com *Acarapis woodi* (Erickson et. al., 1996).

Estudos recentes mostraram amplamente que o uso de um ótimo diâmetro da célula do favo natural reduziu significativamente doenças e infestações com ácaros nas colônias e, simultaneamente, aumentou a viabilidade da cria e a produtividade da colônia (Lusby, 1997; Erickson et. al., 1990). Infestação entre 10-11% da varroa foi encontrada em colônias com tamanho do favo de 5.0 cm/10 células, neste caso as abelhas necessitaram de constante manejo para controle de doenças secundárias e entre 0-7% de infestação foi observada mudando o tamanho do favo de 4.9 cm/10 células e as colônias não precisaram de constante manejo para controle de doenças secundárias (Lusby, 1997). Medidas das células produzidas por colônias selvagens têm conduzido ultimamente à produção de lâminas de cera com célula de cria de menor tamanho como parte de experimentos para um melhor uso do tamanho da célula das abelhas. Considerando que a maioria das lâminas de cera alveoladas produzidas atualmente têm células entre 5.22 e 5.55 mm de diâmetro, a redução do tamanho da célula base para 5.0 mm (4.3% - 10% de redução) deu a impressão de ser significativamente importante (Flottum, 1998). O tamanho da célula de 5.0 mm de diâmetro mostrou alguma relevância, mesmo notando uma redução na infestação do parasita e uma incidência menor da doença, essa alteração não foi o suficiente para ser comercialmente econômico e as perdas de colônias continuaram e foi notado também que junto com a inclusão de lâminas de cera com células de menor tamanho nas colônias, o uso de todas as drogas, medicamentos e acaricidas foram preteridos (Flottum, 1998). Uma pesquisa adicional indicou que o aumento do diâmetro da célula de 0.1 mm pode ter sido muito grande, e uma célula do tamanho de 4.9 mm de diâmetro pode ser melhor, observando-se que colônias com seus favos naturais novos enxamearam menos e tiveram menos ácaros (Flottum, 1998; Lusby, 1997). Realmente, confirmou-se que colônias com tamanho da célula natural menor têm incidência menor de ácaros e observações anteriores indicaram também construção mais rápida das células, colônias mais saudáveis e maior produção de mel (Flottum, 1998).

2 OBJETIVOS

1 – Determinar o peso e o tamanho da asa das abelhas operárias adultas emergentes, quando criadas em células de crias de operárias novas construídas naturalmente pelas abelhas em favos feitos com cera alveolada contendo células bases de maior tamanho (lâmina de cera alveolada tamanho italiano) e favo tamanho natural tipo cárnico construída por abelhas européias *Apis mellifera carnica*.

2 – Determinar como a idade do favo (favos de crias novos ou velhos, com muitas gerações de abelhas) afeta o peso e a morfometria das abelhas operárias emergentes em colônias de abelhas *Apis mellifera*.

3 – Relacionar as dimensões das células (profundidade, diâmetro e volume) com o peso e as medidas morfométricas (comprimento e largura da asa anterior direita) em abelhas operárias adultas emergidas dessas células.

4 – Investigar os índices de infestação do ácaro *Varroa jacobsoni* em favos com diferentes tamanhos de células de crias de operárias (favo velho, favo africanizado novo, favo italiano novo e favo cárnico novo) em colônias de abelhas Africanizadas (*Apis mellifera*).

5 – Analisar as taxas de reprodução do ácaro *V. jacobsoni* em células de crias de operárias de menor tamanho (favo velho) em relação às crias em células de operárias novas de maior tamanho construídas pelas abelhas (Africanizadas, italianas e cárnicas) em colônias de abelhas Africanizadas (*Apis mellifera*).

6 – Determinar o peso corpóreo de abelhas operárias emergentes Africanizadas infestadas e não infestadas pelo ácaro produzidas em células de cria de diferentes tamanhos.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Instalações e Condições Experimentais

Este trabalho foi desenvolvido no Setor de Genética de Abelhas do Departamento de Genética da Faculdade de Medicina - Campus da USP de Ribeirão Preto. O local do experimento localiza-se na região norte do estado de São Paulo, a 21° 11' e 25'' de latitude Sul, a 47° 43' de longitude Oeste e altitude de 620 metros acima do nível do mar. O clima subtropical úmido temperado é característico da região prevalecendo uma estação chuvosa no verão e uma estação muito seca no inverno; com temperatura média anual de 21°C, precipitação pluviométrica anual em torno de 1.100 mm e umidade relativa do ar de 75 % aproximadamente.

3.2 Material Biológico e Manejo

Foram utilizadas colméias de abelhas Africanizadas (Figura 2), instaladas no apiário experimental do Departamento de Genética, da FMRP-USP em Ribeirão Preto - SP. As colônias foram instaladas em ninhos modelo Langstroth contendo nove favos e um alimentador, e infestadas naturalmente com o ácaro *Varroa jacobsoni*. As colônias foram escolhidas conforme a disponibilidade de material e permaneceram com suas próprias rainhas. Estas colméias, em época de escassez de alimento, receberam alimentação artificial, onde utilizou-se o xarope com 60% de açúcar e 40% de água semanalmente, para manter a uniformidade das colméias. O grupo de colônias de abelhas Africanizadas escolhido foi identificado por meio de numeração, conforme a seguir: Colônias números 43, 47, 66, 69, 71, 73, 74, 117.

Figura 2 Uma das colônias de abelhas Africanizadas em uma caixa Langstroth de 10 quadros usada no experimento do setor de abelhas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP. Nas colônias foram introduzidos ao mesmo tempo quatro tipos de favos com diferentes tamanhos de células de crias para avaliação.

3.3 Utilização de vários tipos de favos

Para determinar uma possível variação no peso e no tamanho da asa nas abelhas e na infestação de varroa em relação à idade das células do favo (novos e velhos), foram usados neste experimento quatro tipos de favos: 1 – Favos novos tipo africanizado construídos naturalmente pelas abelhas Africanizadas (FAFn) introduzidos sem lâminas de cera alveolada (Fig. 3). 2 – Favos novos tipo cárnico fabricados pelas abelhas européias cárnicas da colônia 11 (Fig. 4) sem lâminas de cera (FCAn). 3 – Favos introduzidos com cera laminada tamanho comercial manufaturado tipo italiano de maior tamanho (Figs. 5A e 5B) para que as abelhas operárias construíssem as células a serem utilizadas (FITn) e 4 – Favos velhos (Fig. 6) com tamanho das células reduzidas (menores) por efeito de muitas gerações de abelhas emergidas (FVE). Para facilitar o reconhecimento e manejo dos favos nas avaliações, os favos velhos selecionados foram marcados usando a letra A e o tamanho das células foi referido ao tipo A. Quadros

contendo favos tamanho africanizado foram marcados com B, o tamanho das células foi referido ao tipo B. Similarmente, favos contendo lâminas de cera comercial tipo Italiano foram marcados com C e o tamanho das células foi referido ao tipo C, os favos contendo o tamanho tipo cárnico foram marcados com D e o tamanho das células foi referido ao tipo D. Os quatro tipos de favos de diferentes tamanhos de células e com ovos de uma mesma rainha foram colocados na parte central de cada colônia Africanizada selecionada. A postura pela rainha nos quatro tipos de favos ocorreu com um pequeno intervalo de tempo, portanto crias de, praticamente, mesma idade e da mesma rainha estiveram disponíveis em cada tipo de favo.

Figura 3 Favo tipo africanizado com células de cria construídas naturalmente pelas abelhas em uma colônia africanizada. A média calculada sobre o favo para cada 10 células de operárias medida em forma linear foi de 4.90 cm/10 células.

Figura 4 Favo tipo cárnico com células de cria novas de maior tamanho construídas naturalmente por abelhas europeias *A. m. carnica*. A largura média calculada no favo para 10 células contíguas de operárias foi de 5.34 cm/10 células.

Figura 5A Favo tipo italiano usado no experimento com uma régua indicando a medida horizontal de 10 células contíguas de operárias. A largura média calculada neste tipo de favo foi de 5.24 cm/10 células.

Figura 5B Favo com lâmina de cera alveolada contendo células de cria tamanho tipo italiano colocada no ninho de cria de abelhas Africanizadas para que as mesmas abelhas construíssem as células. O favo com as células construídas foi deixado na colônia para postura da rainha.

Figura 6 Favo tipo velho usado para a comparação com os favos novos com as paredes das células engrossadas e células do favo relativamente reduzidas pelas gerações de abelhas emergidas. A média de 03 diferentes medidas lineares para 10 células de operárias foi de 4.64 cm/10 células.

3.4 Tamanho dos alvéolos.

Cerca de 100 alvéolos, localizados em diferentes posições do quadro, foram selecionados aleatoriamente para medição. As medidas foram realizadas apenas em

células de operárias para cada tipo de favo em cada colônia de abelha Africanizada (Fig. 7A).

Foram feitas um total de três medidas (Figs. 7A e 7B): duas medidas lineares e uma medida de peso, tanto nas células dos favos construídas naturalmente pelas abelhas quanto nos favos que foram introduzidos com cera laminada, conforme segue: Largura A; Largura B e Largura C para obter o diâmetro médio da célula em mm (DC), profundidade da célula em mm (PC) e a medida de peso para as abelhas operárias emergentes em mg (PA), respectivamente.

Para realizar as medidas lineares do diâmetro e profundidade da célula, foi usado um paquímetro de precisão de 0.05 mm de diferença entre cada unidade milimétrica (Fig. 8B). O cálculo do volume da célula (VC) baseou-se em dados da literatura que citam as células de abelhas como um hexágono perfeito. O volume (em mm³) foi calculado a partir do DC e da PC, usando-se a seguinte equação:

Área = $0.8655 \times D^2$, onde D = diâmetro da célula.

Volume da célula = área x profundidade da célula.

Figura 7A Célula de cria de operária usada na avaliação para medir o tamanho médio da célula em cada tipo de favo estudado e por colônia. Medidas A = Largura A, B = Largura B e C = Largura C: Para cálculo da média do diâmetro da célula, Medida P= Profundidade da célula.

Figura 7B Célula de cria de operária em forma de um prisma regular de seis lados com a base formando três losangos iguais que se encontram em um ponto ao fundo da célula em forma de pirâmide invertida. A'B'C'D'E'F' é a abertura da célula; A'A, B'B, etc., são as extremidades da célula; ABOF, CDOB, EFOD são os três losangos e O é o fundo da célula sendo o ponto final para a medição da profundidade.

3.5 Peso das operárias ao nascer.

Favos com crias próximas a emergir foram removidos das colônias e introduzidos na incubadora a 34°C e 60% de umidade. Após o nascimento na incubadora, cerca de 100 abelhas foram pesadas em balança de precisão, tendo-se o cuidado de pesá-las logo após o nascimento, não permitindo que se alimentassem para que não ocorresse um aumento no peso devido a ingestão de alimento. Uma vez pesadas, elas foram transferidas para uma geladeira, onde morreram por efeito do frio. As abelhas posteriormente foram preservadas em solução de álcool a 70% e também preservadas em caixas de coleção montadas com alfinetes entomológicos e numeradas com etiquetas para aguardar estudos adicionais (estudo morfométrico).

Os favos com abelhas operárias emergentes, uma vez removidos do laboratório, foram examinados cuidadosamente para verificação de ácaros. No momento em que a célula começou a ser aberta pelas abelhas emergentes, justamente quando começaram a mastigar o opérculo, a cobertura de cera foi removida com auxílio de uma pinça de ponta fina para facilitar a saída da abelha. A abelha foi checada cuidadosamente para verificar a presença ou não de ácaros, e alguns ácaros que ficaram dentro da célula foram também contados. Aquelas abelhas emergentes que haviam formado um grande buraco no opérculo das células não foram avaliadas, porque freqüentemente alguns ácaros deixam as células antes da abelha emergir. Após remover os ácaros acompanhantes, tanto as abelhas infestadas quanto as não infestadas pelo ácaro foram pesadas em balança de precisão.

Os ácaros foram classificados como fêmeas adultas originais, fêmeas jovens, deutoninfas, machos ou protoninfas. Machos e protoninfas nem sempre podem ser diferenciados um do outro, especialmente, quando estas formas do ácaro, muitas vezes, se encontram mortos e/ou disformes dentro da célula (De Jong et. al., 1982a).

Figura 8 Otoscópio para observação minuciosa no interior dos alvéolos e para detecção do ácaro fêmea e seus descendentes (A). Paquímetro de precisão usado na medição do diâmetro e a profundidade da célula do favo (B).

3.6 Investigação dos índices de infestação e reprodução do ácaro *Varroa jacobsoni* nas abelhas.

Os diferentes favos foram estudados quanto à incidência do ácaro, considerando-se:

3.6.1 Índice de infestação em células de crias de operárias:

Foram realizadas investigações dos índices de infestação no período compreendido entre maio de 1999 e dezembro de 2000 para a determinação dos níveis de infestações nos quatro tipos de favos introduzidos em cada colônia (N=8).

Para a verificação do índice de infestação em célula de cria de operária, utilizamos os diferentes favos de crias na fase de abelhas adultas emergentes. Utilizamos os favos com operárias emergentes que foram colocados no centro da colônia. Para se verificar os índices de infestação, investigamos 100 células aleatoriamente (metade de cada face do favo). As abelhas e o interior dos alvéolos foram minuciosamente observadas por meio de um otoscópio (Fig. 8A), para a detecção da varroa adulta e seus

descendentes, se presentes. Foi anotado o número de ácaros-fêmeas adultos e a descendência do ácaro dentro das células infestadas. O índice de infestação em células de crias de operárias de cada tipo de favo foi dado pela divisão do número de células infestadas pela varroa pelo número de células investigadas multiplicado por 100 $\{IIC=(n^{\circ}$ de células infestadas/ n° de células investigadas) x 100 $\}$.

3.6.2 Taxa de reprodução do ácaro:

A capacidade reprodutiva do ácaro varroa foi determinada sobre a abelha operária recém emergida, em células infestadas pela varroa adulta. O número de fêmeas adultas de varroa e a progênie encontrada em cada célula de operária analisada foi anotado a fim de ser determinada a taxa de reprodução do ácaro. Após a emergência das operárias, os descendentes totais do ácaro (ovos, machos, protoninfas e deutoninfas de fêmeas) foram registrados.

Com os dados sobre a descendência da varroa, foi calculada a taxa de reprodução total do ácaro. A fórmula usada foi:

Taxa de Reprodução Total do ácaro (TRT):

(Número total de descendentes / número de fêmeas adultas originais) x 100

Para a análise da taxa de reprodução total foram computadas somente as células infestadas contendo operárias emergentes e foram também computadas células infestadas com mais de um ácaro-fêmea adulto. Da mesma forma, para a quantificação de células com descendentes foi incluído apenas o estágio de emergência da abelha operária. A taxa de reprodução efetiva da varroa não foi calculada já que, segundo Corrêa-Marques (2000), a melhor fase para o cálculo da reprodução efetiva é a fase de pupa com olho e corpo pigmentado, portanto, neste trabalho usamos favos no estágio de emergência de operárias adultas a qual não é possível contar deutoninfas e fazer diferenciação entre as filhas do ácaro e a fêmea adulta original.

3.7 Estudo morfométrico nas abelhas operárias emergentes.

As medidas morfométricas foram tomadas com um estereomicroscópio Zeiss Wild M8. As medidas analisadas foram sobre cada abelha individual e sobre a asa anterior direita, sendo as seguintes: Comprimento total e largura total da asa anterior direita (Figura 9). A preparação das asas para o estudo foi feita utilizando o método de Sylvester & Rinderer (1987), onde cuidadosamente foi removida uma asa anterior direita de cada abelha com ajuda de uma pinça, de modo que a asa inteira foi obtida. Um cuidado especial foi tomado no momento de retirar a asa do tórax, já que frequentemente a asa se quebra antes, deixando parte desta na base da abelha e, portanto, o comprimento não poderia ser medido corretamente. As asas foram simplesmente puxadas do tórax das abelhas que tinham sido previamente preservadas em álcool 70% ou em caixas entomológicas. Foram utilizados slides tendo cada uma duas lâminas de vidro de 22 x 40 mm para montar oito asas anteriores das operárias emergentes para cada tipo de favo estudado. O par de lâminas de vidro foi fechado de forma que as asas ficaram presas e separadas com seus extremos totalmente visíveis. Ambas as lâminas de vidro com as oito asas foram ajustadas sobre o slide microscópico padrão de 35 mm para facilitar a comparação visual e a medição. As amostras, colocadas sobre os slides, foram enumeradas e etiquetadas posteriormente. Igualmente, uma série de 4 slides (um para cada tipo de favo) foram preparados por colônia (32 em total) para as comparações quantitativas.

Cada slide foi colocado na platina do estereomicroscópio, em uma posição horizontal, e as asas foram visualizadas diretamente através de uma ocular micrométrica tendo uma escala horizontal de 0 a 120 unidades, sendo o valor de cada unidade de 0.165 mm. A imagem visualizada mostrou uma leitura correspondente da asa sobre a escala com uma ampliação de até 6 vezes no aparelho. Os dados obtidos das medições morfométricas foram computados estatisticamente para os quatro tipos de favos estudados e para as oito colônias.

Figura 9 Asa anterior direita de uma abelha operária Africanizada recém-emergida do favo de cria. Duas medidas morfométricas foram feitas sobre a asa, sendo comprimento da asa anterior direita (CA) e largura maior da asa anterior (LA).

3.8 Análise estatística.

A análise estatística utilizada para interpretar os resultados obtidos neste trabalho baseou-se em um nível de significância de 5%. Para a análise, foram utilizados os números brutos e das somatórias obtidas, a média aritmética $\pm$ desvio padrão (DP), foram computadas.

Para a comparação das diferentes variáveis estudadas, entre os diferentes tipos de favos de crias (FVE, FAFn, FITn, FCAAn), tais como: dimensões da célula (diâmetro, profundidade e volume), comprimento e largura da asa anterior direita e peso das operárias emergentes em diferentes tamanhos de células, foi utilizado a análise de variância (ANOVA) seguido pelo teste múltipla de Tukey para a comparação das médias estudadas.

Para a comparação dos índices de infestação, descendência do ácaro e número de varroas adultas entre os diferentes tipos de favos de cria de operárias, foi utilizado o

teste para comparação de n proporções (qui-quadrado – χ^2). O fator de correção de continuidade de Yates foi aplicado no teste para tabelas 2 x 2, quando o valor de χ^2 obtido é maior do que o crítico, com a finalidade de evitar eventuais conclusões erradas. Isso é importante nos casos em que a proporção esperada em uma das classes é pequena (número menor do que 5).

Para a comparação das médias do DC, PC, VC e PA em células não infestadas com células infestadas pela varroa em cada tipo de favo, foi utilizado o t-teste (t).

Para analisar a relação entre o diâmetro da célula (DC) com as variáveis PC e VC nas diferentes células de cria e a relação entre DC, PC, VC com o peso das abelhas operárias emergentes (PA), foi realizado o teste de correlação de Pearson (r). Este mesmo teste foi utilizado para analisar a relação entre as dimensões das células (DC, PC, VC) e PA com o comprimento e largura da asa anterior direita.

As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o SigmaStat 2.0 (Statistical Software – Jandel Corporation).

4 RESULTADOS

4.1 Análise das dimensões das células de operárias não infestadas e infestadas pelo ácaro *Varroa jacobsoni* em diferentes tipos de favos.

Para a análise das dimensões das células do favo, foram incluídas três medidas da célula de operária: diâmetro (DC), profundidade (PC) e volume (VC) para os diferentes tipos de favos estudados: favo velho (FVE), favo africanizado novo (FAFn), favo italiano novo (FITn) e favo cárnico novo (FCAn). As dimensões foram medidas em 2349 células, sendo 843 para o FVE, 769 no FAFn, 833 no FITn e 586 células no FCAn. Observou-se que, de um modo geral, o DC e o VC foram as medidas que apresentaram diferenças notáveis entre os diversos tipos de favos (Tabs. 2 e 4). Nas células de operárias encontramos que os diâmetros médios das células foram de 4.56 ± 0.043 mm, 4.84 ± 0.056 mm, 5.13 ± 0.074 mm e 5.27 ± 0.049 para os favos FVE, FAFn, FITn e FCAn, respectivamente (Tab. 2). Comparando-se os diâmetros das células entre os favos de crias estudados, percebe-se uma média menor para as células do FVE e média maiores para os FITn e FCAn, sendo diferentes estatisticamente ($p < 0.001$, One-Way ANOVA). Esta diferença refere-se à variação detectada para todos os favos entre si ($p < 0.001$, Teste de Tukey).

Com relação à profundidade da célula a situação foi inversa, percebe-se que a profundidade das células construídas pelas operárias a partir da cera laminada (FITn) e por operárias cárnicas (FCAn) foi de 11.62 ± 0.178 mm e 11.64 ± 0.089 mm respectivamente, sendo inferiores às células do FVE que foi de 12.22 ± 0.151 mm (Tab. 3). A profundidade da célula diferiu significativamente entre os favos estudados ($p < 0.001$, One-Way ANOVA). Comparando-se a média aritmética da profundidade da célula do FVE com as médias obtidas dos favos novos FAFn, FITn e FCAn, verifica-se que as diferenças entre os tipos de favos foram estatisticamente significantes ($p < 0.001$, Teste de Tukey), já entre os favos novos de crias tal diferença ocorreu apenas entre o FAFn e FITn ($p < 0.001$, Teste de Tukey). Entre os favos de cria FITn e FCAn, as médias das profundidades não diferiram significativamente entre si ($p > 0.05$, Teste de Tukey).

As médias dos volumes dos diferentes tipos de alvéolos estudados mostram uma média menor de 220.12 ± 4.92 mm³ para as células do FVE e médias maiores para os FAFn, FITn e FCAn de 240.71 ± 5.69 mm³; 264.82 ± 6.06 mm³ e 279.59 ± 3.96 mm³ respectivamente (Tab. 4), sendo essas médias estatisticamente diferentes entre os favos estudados ($p < 0.001$, One-Way ANOVA). Verifica-se que a variação foi grande entre os

diferentes favos estudados, ocorrendo um maior aumento do VC para as células novas construídas naturalmente. Verificamos que realmente há diferença estatística nos volumes das células tanto entre o FVE e os novos FAFn, FITn, FCAn, como entre os novos entre si ($p < 0.001$, Teste de Tukey), embora observa-se que o FVE possui alvéolos mais profundos do que os favos novos.

Analizamos as correlações para as três medidas da célula do favo: DC, PC, e VC (Tab. 5), mostrando de maneira geral, para os favos FVE, FAFn, FITn e FCAn de todas as colméias avaliadas, que o DC está correlacionado positivamente com o VC em um nível significativo ($r = 0.66$, $r = 0.86$, $r = 0.84$ e $r = 0.92$, $p < 0.001$, respectivamente), isto indica que ambos os parâmetros variam no mesmo sentido. Por outra parte, o DC apresentou correlação negativa e significativa com a PC nos quatro tipos de favos estudados: FVE ($r = -0.14$, $p = 0.0003$), FAFn ($r = -0.28$, $p < 0.001$), FITn ($r = -0.22$, $p < 0.001$) e FCAn ($r = -0.40$, $p < 0.001$), mostrando que à medida que o DC aumenta ocorre uma diminuição da PC. Só nos FVE, FAFn e FITn, para células não infestadas, foi encontrada uma correlação positiva altamente significativa entre a PC e o VC ($r = 0.65$, $p < 0.001$; $r = 0.30$, $p < 0.001$; $r = 0.35$, $p < 0.001$ respectivamente), mostrando que o VC é maior à medida que aumenta a PC.

Os resultados indicaram, que para os tipos de favos estudados, à medida que aumenta o diâmetro da célula do favo, a profundidade da célula é reduzida para as células não infestadas, ou seja, as abelhas compensaram a menor ou maior largura da célula ao produzir células com maior ou menor profundidade respectivamente (Tabs. 2, 3 e Fig. 10).

Em relação às células de crias não infestadas e infestadas pela varroa, foram analisadas 503 células infestadas e 1846 células não infestadas. Comparando-se os diâmetros das células infestadas e não infestadas, medidos no momento da emergência das abelhas (Tab. 6), verificamos para o FVE que a média do diâmetro para células infestadas ($n = 181$) foi de 4.62 ± 0.044 mm, sendo significativamente maior que a média para as células não infestadas ($n = 612$) de 4.54 ± 0.045 mm ($p < 0.001$, test-t). Igualmente, as médias dos diâmetros para células infestadas dos favos FAFn ($n = 78$) e FITn ($n = 131$) foram de 4.87 ± 0.061 mm e 5.15 ± 0.09 mm respectivamente, sendo maiores também que os diâmetros das células não infestadas de 4.83 ± 0.055 mm ($n = 691$) e de 5.12 ± 0.072 mm ($n = 702$), mas essa diferença de diâmetro foi pequena entre as células infestadas e não infestadas em ambos favos, não apresentando diferença estatística ($p = 0.057$ e $p = 0.215$,

teste-t). O diâmetro médio para as células infestadas ($n= 113$) e não infestadas pelo ácaro ($n= 473$) do FCAn foi de 5.30 ± 0.054 mm e 5.25 ± 0.045 mm respectivamente, sendo essas diferenças estatisticamente significante ($p= 0.026$, teste-t). Para os FVE ($n=181$), FAFn ($n=78$) e FCAn ($n=113$), as médias das profundidades para células infestadas foram de 11.99 ± 0.161 mm, 11.75 ± 0.244 mm e 11.51 ± 0.164 mm respectivamente, sendo significativamente menores ($p< 0.001$, $p= 0.015$ e $p= 0.017$, respectivamente, teste-t) em relação às células não infestadas que tiveram 12.27 ± 0.145 mm, 11.98 ± 0.214 mm e 11.67 ± 0.078 mm de profundidade (Tab. 7). Já no FITn não houve diferenças significativas na PC ($p= 0.345$) entre as células infestadas ($n= 131$) e não infestadas ($n=702$). Entre o volume da célula infestada e não infestada (Tab. 8) encontrou-se somente no FVE que a média do volume para células infestadas (222.2 ± 5.28 mm³) foi significativamente maior ($p= 0.028$, teste-t) em relação ao volume das células não infestadas (219.4 ± 5.04 mm³).

Nos favos novos FAFn, FITn e FCAn, verifica-se que a variação do VC entre as células infestadas e não infestadas foi praticamente semelhante (Tab. 8), ocorrendo inclusive uma inversão dos valores apenas para o FCAn não significante ($p= 0.524$) de 278.90 ± 4.21 para células infestadas e de 279.67 ± 4.01 para células não infestadas com relação aos outros favos. Não obstante, no FAFn obtivemos, por exemplo, um volume médio maior de 241.80 ± 6.16 mm³ para células infestadas e menor para não infestadas de 240.61 ± 5.74 mm³, já no FITn a diferença foi mínima com um volume médio de 264.71 ± 6.56 mm³ e 264.80 ± 6.27 mm³ entre as células respectivamente, notando-se que realmente não há diferença estatística entre os volumes das células dos favos novos ($p>0.05$, teste-t).

Em relação às células invadidas por varroa, para cada tipo de favo, as abelhas compensaram a maior largura da célula ao produzir células com menor profundidade e essas células de crias de operárias com diâmetros maiores e profundidades menores, foram preferidas pelo ácaro (Tabs. 6 e 7).

Em células infestadas pela varroa, verificou-se uma correlação negativa e altamente significativa entre DC e PC para os favos FVE ($r= -0.39$, $p< 0.001$), FITn ($r= -0.53$, $p< 0.001$) e FCAn ($r= -0.35$, $p< 0.00012$), mostrando uma relação altamente significativa entre esses caracteres (Tab. 9). O resultado foi igualmente verificado no FAFn, mas a correlação negativa entre DC e PC foi moderadamente significativa ($r= -0.25$, $p= 0.0248$). Apenas no FAFn, para células infestadas com varroa, uma correlação

positiva e significativa entre PC e VC foi encontrada ($r= 0.39$, $p< 0.001$), mostrando que ocorre um aumento do VC à medida que a PC é maior. Uma correlação positiva altamente significativa foi observada entre DC e VC nas células com varroa para todos os tipos de favos ($p< 0.001$), como também foi obtido para células não infestadas.

Tabela 2 Análise dos diâmetros das células de crias obtidas de favos com diferentes tamanhos de células de operárias, em colônias de abelhas Africanizadas (*Apis mellifera*).

	FVE		FAFn		FITn		FCAn	
Colônia	MG±DP (mm)	n	MG±DP (mm)	n	MG±DP (mm)	n	MG±DP (mm)	n
69	4.65±0.14	53	4.82±0.10	63	5.04±0.11	45	---	---
71	4.58±0.15	200	4.85±0.11	115	5.01±0.10	185	---	---
43	4.52±0.11	90	4.97±0.11	90	5.22±0.13	103	5.33±0.17	86
47	4.57±0.08	100	4.82±0.12	100	5.15±0.09	100	5.28±0.16	100
66	4.56±0.15	100	4.82±0.13	100	5.16±0.14	100	5.26±0.17	100
73	4.53±0.10	100	4.81±0.12	100	5.09±0.09	100	5.20±0.13	100
74	4.56±0.12	100	4.79±0.15	100	5.20±0.14	100	5.31±0.24	100
117	4.52±0.16	100	4.82±0.12	100	5.15±0.15	100	5.23±0.13	100
MGT±DP	4.56±0.043 a	793	4.84±0.056 b	769	5.13±0.074 c	833	5.27±0.049 d	586

FVE = favo velho; FAFn = favo africanizado novo; FITn = favo italiano novo; FCAn = favo cárnico novo; MG = média geral do diâmetro por colônia; n= número de células analisadas. MGT±DP = média geral total ± desvio padrão (N= 8 colônias) do diâmetro da célula para cada tipo de favo. Médias seguidas por letras diferentes diferem estatisticamente entre si ($P<0.001$, $F=219,02$) segundo a análise de variância seguida pelo teste de comparação múltipla de Tukey. A probabilidade das médias gerais dos diâmetros das células serem diferentes entre os quatro tipos de favos foi determinada usando ANOVA (análise de variância).

Tabela 3 Análise das profundidades das células de crias obtidas de favos com diferentes tamanhos de células de operárias, em colônias de abelhas Africanizadas (*Apis mellifera*).

	FVE	FAFn	FITn	FCAn
Colônia	MG±DP (mm)	MG±DP (mm)	MG±DP (mm)	MG±DP (mm)
69	12.14±0.48	11.90±0.22	11.96±0.29	---
71	12.43±0.96	11.83±0.34	11.71±0.22	---
43	12.46±0.42	11.88±0.32	11.52±0.40	11.48±0.34
47	12.22±0.42	12.00±0.28	11.76±0.28	11.71±0.31
66	12.14±0.35	11.78±0.62	11.57±0.44	11.70±0.24
73	12.03±0.36	11.79±0.36	11.45±0.38	11.70±0.26
74	12.16±0.28	11.89±0.39	11.49±0.34	11.59±0.34
117	12.15±0.34	12.00±0.28	11.58±0.29	11.63±0.37
MGT±DP	12.22±0.151 a	11.88±0.084 b	11.62±0.178 c	11.64±0.089 c

FVE = favo velho; FAFn = favo africanizado novo; FITn = favo italiano novo; FCAn = favo cárnico novo; MG = média geral da profundidade por colônia; MGT±DP = média geral total ± desvio padrão (N= 8 colônias) da profundidade da célula para cada tipo de favo. Médias seguidas por letras diferentes diferem estatisticamente entre si (P<0.001, F=33,04) segundo a análise de variância seguida pelo teste de comparação múltipla de Tukey. A probabilidade das médias gerais da profundidade da célula serem diferentes entre os quatro tipos de favos foi determinada usando ANOVA (análise de variância).

Tabela 4 Análise dos volumes das células de crias obtidas de favos com diferentes tamanhos de células de operárias, em colônias de abelhas Africanizadas (*Apis mellifera*).

	FVE	FAFn	FITn	FCAn
Colônia	MG±DP (mm ³)	MG±DP (mm ³)	MG±DP (mm ³)	MG±DP (mm ³)
69	227.88±12.9	239.48±11.2	263.00±10.4	---
71	225.88±20.3	240.97±11.5	254.93±11.2	---
43	220.49±12.0	253.57±12.1	271.30±15.2	281.82±15.5
47	220.78±7.69	241.73±11.1	269.92±10.4	282.40±15.7
66	218.88±13.5	236.51±15.1	267.08±14.2	280.91±17.3
73	213.49±9.65	236.08±10.8	256.94±12.4	273.69±12.7
74	218.76±10.9	236.33±12.9	269.14±15.1	283.14±24.3
117	214.82±10.2	240.99±11.9	266.22±14.8	275.55±13.8
MGT±DP	220.12±4.92 a	240.71±5.69 b	264.82±6.06 c	279.59±3.96 d

FVE = favo velho; FAFn = favo africanizado novo; FITn = favo italiano novo; FCAn = favo cárnico novo; MG = média geral do volume por colônia; MGT±DP = média geral total ± desvio padrão (N= 8 colônias) do volume da célula para cada tipo de favo. Médias seguidas por letras diferentes diferem estatisticamente entre si (P<0.001, *F*=175,81) segundo a análise de variância seguida pelo teste de comparação múltipla de Tukey. A probabilidade das médias gerais dos volumes das células serem diferentes entre os quatro tipos de favos foi determinada usando ANOVA (análise de variância).

Tabela 5 Correlações entre as diferentes dimensões da célula do favo (diâmetro, profundidade e volume) obtidos de favos com diferentes tamanhos de células de crias, em 8 colônias de abelhas Africanizadas (*Apis mellifera*).

Variáveis	TIPOS DE FAVOS							
	FAVO TIPO VELHO		FAVO TIPO AFRICANIZADO		FAVO TIPO ITALIANO		FAVO TIPO CÁRNICO	
	PC	VC	PC	VC	PC	VC	PC	VC
DC	-0.14* 0.0003	+0.66* <0.001	-0.28* <0.001	+0.83* <0.001	-0.22* <0.001	+0.84* <0.001	-0.40* <0.001	+0.92* <0.001
PC		+0.65* <0.001		+0.30* <0.001		+0.35* <0.001		-0.0016 ^p 0.971

PC = profundidade da célula; VC = volume da célula; DC = diâmetro de abertura da célula; O número indicado abaixo do coeficiente de correlação representa o valor de P; *Coeficiente de correlação é altamente significativo (P<0.001); ^pCorrelação não significante entre as duas variáveis (P>0.05).

Figura 10 Compensação do tamanho da célula em diferentes tipos de favos em relação ao diâmetro e profundidade da célula de cria de operária, em 8 colônias de abelhas africanizadas (*Apis mellifera*). FVE = favo velho; FAFn = favo africanizado novo; FITn = favo italiano novo; FCAn = favo cárnico novo

Tabela 6 Análise dos diâmetros das células de crias de operárias obtidas de favos com diferentes tamanhos de células de operárias infestadas e não infestadas pelo ácaro *Varroa jacobsoni*, em colônias de abelhas Africanizadas (*Apis mellifera*).

	FVE		FAFn		FITn		FCAn	
Colônia	DC-INF (mm)	DC-NINF (mm)	DC-INF (mm)	DC-NINF (mm)	DC-INF (mm)	DC-NINF (mm)	DC-INF (mm)	DC-NINF (mm)
69	4.70	4.64	4.85	4.82	5.02	5.04	---	---
71	4.63	4.56	4.79	4.86	5.03	5.01	---	---
43	4.56	4.51	4.99	4.96	5.17	5.22	5.35	5.31
47	4.65	4.55	4.91	4.81	5.15	5.15	5.28	5.28
66	4.65	4.53	4.88	4.81	5.23	5.15	5.27	5.26
73	4.60	4.51	4.90	4.80	5.11	5.09	5.23	5.19
74	4.62	4.53	4.82	4.79	5.23	5.19	5.37	5.29
117	4.58	4.50	4.87	4.81	5.25	5.14	5.27	5.22
MGT±DP	4.62±0.044**	4.54±0.045**	4.87±0.061 ^{NS}	4.83±0.05 ^{NS}	5.15±0.09 ^{NS*}	5.12±0.072 ^{NS*}	5.30±0.054*	5.25±0.045*

FVE = favo velho; FAFn = favo africanizado novo; FITn = favo italiano novo; FCAn = favo cárnico novo; DC-INF = diâmetros das células dos favos infestados pela varroa; DC-NINF = diâmetros das células dos favos não infestados pela varroa; MGT±DP = média geral total do diâmetro (em mm) para células infestadas e não infestadas (N= 8 colônias) em cada tipo de favo ± desvio padrão. A probabilidade das médias dos diâmetros entre células infestadas e não infestadas serem diferentes em cada tipo favo foi determinada usando o teste-*t* “Student”. * : $P=0.026$; ** = $P<0.001$; NS = não significante ($P=0.057$) ; NS*: não significante ($P=0.215$).

Tabela 7 Análise das profundidades das células de crias de operárias obtidas de favos com diferentes tamanhos de células de operárias infestadas e não infestadas pelo ácaro *Varroa jacobsoni*, em colônias de abelhas Africanizadas (*Apis mellifera*).

	FVE		FAFn		FITn		FCAn	
Colônia	PC-INF (mm)	PC-NINF (mm)	PC-INF (mm)	PC-NINF (mm)	PC-INF (mm)	PC-NINF (mm)	PC-INF (mm)	PC-NINF (mm)
69	12.03	12.17	11.88	11.90	11.90	11.97	---	---
71	12.29	12.48	12.06	12.48	11.71	11.71	---	---
43	12.12	12.49	11.69	11.89	11.48	11.52	11.29	11.52
47	11.90	12.31	11.84	12.02	11.65	11.77	11.64	11.73
66	11.95	12.22	11.23	11.87	11.22	11.65	11.66	11.71
73	11.74	12.09	11.66	11.80	11.36	11.09	11.66	11.71
74	11.98	12.22	11.86	11.89	11.39	11.52	11.42	11.64
117	11.97	12.20	11.75	12.01	11.55	11.58	11.38	11.69
MGT±DP	11.99±0.16***	12.27±0.15***	11.75±0.24*	11.98±0.21*	11.53±0.22 ^{NS}	11.60±0.26 ^{NS}	11.51±0.16**	11.67±0.08**

FVE = favo velho; FAFn = favo africanizado novo; FITn = favo italiano novo; FCAn = favo cárnico novo; PC-INF = profundidades das células dos favos infestados pela varroa; PC-NINF = profundidades das células dos favos não infestados pela varroa; MGT± DP = média geral total da profundidade (em mm) para células infestadas e não infestadas (N= 8 colônias) em cada tipo de favo ± desvio padrão. A probabilidade das médias das profundidades entre células infestadas e não infestadas serem diferentes em cada tipo favo foi determinado usando o teste-*t* “Student”. * : $P= 0.015$; ** : $P=0.017$; *** = $P<0.001$; NS = não significante ($P=0.345$).

Tabela 8 Análise dos volumes das células de crias de operárias obtidas de favos com diferentes tamanhos de células de operárias infestadas e não infestadas pelo ácaro *Varroa jacobsoni*, em colônias de abelhas Africanizadas (*Apis mellifera*)

	FVE		FAFn		FITn		FCAn	
Colônia	VC-INF (mm ³)	VC-NINF (mm ³)	VC-INF (mm ³)	VC-NINF (mm ³)	VC-INF (mm ³)	VC-NINF (mm ³)	VC-INF (mm ³)	VC-NINF (mm ³)
69	229.97	227.51	241.62	239.17	259.68	263.42	---	---
71	228.27	225.10	239.23	241.14	256.52	254.46	---	---
43	217.72	220.81	252.60	253.66	265.82	271.83	278.68	282.38
47	223.12	220.16	246.71	241.05	267.94	270.27	280.47	282.80
66	223.79	216.77	231.54	237.39	266.01	267.30	280.35	281.06
73	215.01	213.18	242.64	235.52	256.99	256.94	275.68	273.28
74	222.31	217.51	238.29	235.98	269.26	269.11	285.16	282.43
117	217.43	214.13	241.77	240.96	275.44	265.08	273.04	276.09
MGT±DP	222.2±5.3*	219.4±5.04*	241.8±6.2 ^{NS}	240.61±5.7 ^{NS}	264.71±6.6 ^{NS*}	264.8±6.3 ^{NS*}	278.9±4.21 ^{NS**}	279.67±4.0 ^{NS**}

FVE = favo velho; FAFn = favo africanizado novo; FITn = favo italiano novo; FCAn = favo cárnico novo; VC-INF = volumes das células dos favos infestados pela varroa; VC-NINF = volumes das células dos favos não infestados pela varroa; MGT± DP: média geral total do volume (em mm³) para células infestadas e não infestadas (N= 8 colônias) em cada tipo de favo ± desvio padrão. A probabilidade das médias dos volumes entre células infestadas e não infestadas serem diferentes em cada tipo favo foi determinado usando o teste-*t* “Student”. *: $P=0.028$; NS = não significante ($P=0.447$) ; NS*: não significante ($P=0.958$) ; NS**: $P=0.5247$

Tabela 9 Correlações entre as diferentes dimensões da célula do favo (diâmetro, profundidade e volume) obtidos de favos com diferentes tamanhos de células de crias infestadas pelo ácaro *Varroa jacobsoni*, em 8 colônias de abelhas Africanizadas (*Apis mellifera*).

Variáveis	TIPOS DE FAVOS							
	FAVO TIPO VELHO		FAVO TIPO AFRICANIZADO		FAVO TIPO ITALIANO		FAVO TIPO CÁRNICO	
	PC	VC	PC	VC	PC	VC	PC	VC
DC	-0.39* <0.001	+0.86* <0.001	-0.25 [‡] 0.0248	+0.80* <0.001	-0.53* <0.001	+0.88* <0.001	-0.35* 0.00012	+0.90* <0.001
PC		+0.13 ^p 0.0869		+0.39* <0.001		-0.072 ^p 0.415		+0.10 ^p 0.291

PC = profundidade da célula; VC = volume da célula; DC = diâmetro de abertura da célula; O número indicado abaixo do coeficiente de correlação representa o valor de P; [‡]Coeficiente de correlação é moderadamente significativo (P<0.05); *Coeficiente de correlação é altamente significativo (P<0.001); ^pCorrelação não significante entre as duas variáveis (P>0.05).

4.2 Estudo morfométrico das abelhas operárias Africanizadas recém emergidas em diferentes tamanhos de células de crias.

Para o estudo morfométrico das abelhas emergentes, foram analisadas 8 asas de operárias de abelhas Africanizadas para cada tipo de favo estudado: favo velho (FVE), favo africanizado novo (FAFn), favo italiano novo (FITn) e favo cárnico novo (FCAn), sendo analisadas 32 asas por colônia com um total de 256 asas em 8 colônias avaliadas. Os dados apresentados no estudo morfométrico consistiram na média aritmética e no desvio padrão das abelhas emergidas nos quatro diferentes tamanhos de células. As medidas apresentadas foram o comprimento e a largura da asa anterior direita da abelha emergente. Das asas analisadas, as operárias do FVE apresentaram menor comprimento (9.10±0.112 mm), enquanto que esses comprimentos foram bem maiores nas operárias do favo FAFn, FITn e FCAn sendo 9.26±0.152 mm, 9.32±0.172 mm e 9.32±0.119 mm respectivamente (Tab. 10).

Com relação a largura da asa (Tab. 11), verificamos igualmente que as operárias do FVE apresentaram menor largura (3.31±0.07 mm), sendo essas larguras maiores nos favos novos FAFn, FITn e FCAn (3.43±0.075 mm, 3.49±0.125 mm e 3.46±0.097 mm,

respectivamente). O comprimento e a largura da asa anterior direita das abelhas emergentes diferiram entre os diferentes tipos de favos estudados ($p= 0.014$ e $p= 0.003$, respectivamente, One-Way ANOVA). Em resumo, o tamanho da asa da abelha operária emergente apresentou variação com o aumento do tamanho da célula do favo de cria.

Na comparação das medidas morfométricas (comprimento e largura) entre as operárias do FVE e do FAFn, verificamos que as primeiras apresentaram menores comprimentos e larguras e essas médias entre as abelhas criadas no FVE e FAFn diferiram significativamente ($p< 0.05$, Teste de Tukey). Comparando-se a média aritmética das medidas morfométricas das abelhas obtidas do favo novo FAFn com as médias obtidas dos favos novos de abelhas europeias FITn e FCAn, verifica-se que as diferenças entre os tipos de favos não foram estatisticamente significantes ($p> 0.05$, Teste de Tukey), embora o comprimento e a largura da asa foram maiores nas abelhas criadas nos favos FITn e FCAn com células de maior tamanho. Ao compararmos as medidas das asas das abelhas do FVE com as medidas das abelhas obtidas dos favos FITn e FCAn, notou-se que as diferenças foram estatisticamente significantes ($p< 0.05$) mostrando um aumento nas medidas morfométricas, à medida que o tamanho de célula de cria é aumentado.

Analizamos as correlações do comprimento e largura da asa anterior das operárias com relação às dimensões das células: diâmetro da célula (DC), profundidade da célula (PC) e volume da célula (VC) e ao peso da operária emergente (PA) nos quatro tipos de favos (Tab. 12). Mostra-se de maneira geral que o DC e o VC do favo foram as variáveis mais ligadas às medidas das asas das abelhas, em um nível altamente significativo, principalmente nos favos novos FAFn e FCAn construídos naturalmente. Verificamos no favo FVE que todas as variáveis (DC, PC, VC e PA) não apresentaram correlação com nenhuma das medidas morfométricas das abelhas, apresentando valores abaixo do valor crítico ($=0.56$, $p> 0.05$). Já no favo FAFn, apenas o comprimento da asa apresentou correlação positiva e altamente significativa com PA ($r= 0.38$, $p= 0.0021$). As mais baixas correlações no FAFn foram: comprimento com as variáveis DC ($r= 0.26$, $p= 0.0385$) e VC ($r= 0.25$, $p= 0.043$) e largura da asa com PA ($r= 0.31$, $p= 0.014$). No favo FITn apenas o PA apresentou correlação positiva e altamente significativa com comprimento ($r= 0.49$, $p< 0.001$) e correlação moderadamente significativa com largura da asa ($r= 0.28$, $p< 0.027$). Entre as variáveis DC, VC e PA, no FCAn, todas apresentaram correlações positivas com o comprimento e largura da asa. As correlações mais significativas foram: comprimento com DC ($r= 0.53$, $p< 0.001$), com VC ($r= 0.45$,

p= 0.0015) e largura com DC (r= 0.47, p< 0.001). As mais baixas correlações foram: comprimento com PA (r= 0.34, p= 0.017) e largura da asa com VC (r= 0.33, p= 0.0222). O comprimento e a largura da asa apresentaram correlações positivas e altamente significativas entre si (p< 0.001) para os quatro tipos de favos estudados. Nota-se que os favos novos construídos naturalmente pelas abelhas com volumes e diâmetros das células maiores corresponderam com asas de maior tamanho.

Tabela 10 Análise morfométrica do comprimento da asa anterior direita em operárias emergentes de colônias de abelhas Africanizadas (*Apis mellifera*), obtidas de favos com diferentes tamanhos de células de crias de operárias.

	FVE	FAFn	FITn	FCAn
Colônia	MG±DP (mm)	MG±DP (mm)	MG±DP (mm)	MG±DP (mm)
69	8.98±0.155	9.18±0.113	9.27±0.076	---
71	9.24±0.061	9.36±0.124	9.43±0.131	---
43	9.20±0.116	9.48±0.082	9.54±0.085	9.49±0.074
47	9.14±0.085	9.31±0.083	9.27±0.089	9.29±0.152
66	9.04±0.118	9.28±0.139	9.27±0.152	9.28±0.090
73	9.00±0.100	9.17±0.079	9.21±0.073	9.21±0.060
74	8.97±0.086	8.97±0.098	9.04±0.126	9.22±0.129
117	9.21±0.132	9.31±0.128	9.54±0.191	9.45±0.176
MGT±DP	9.10±0.112 a	9.26±0.152 b	9.32±0.172 b	9.32±0.119 b

FVE = favo velho; FAFn = favo africanizado Novo; FITn = favo italiano Novo; FCAn = favo cárnico novo; MG = média geral do comprimento da asa para cada tipo de favo/colônia (N= 8 operárias); MGT±DP: média geral total ± desvio padrão (N= 8 colônias) do comprimento da asa anterior direita das operárias emergidas de diferentes tipos de favos. Médias seguidas por letras diferentes diferem estatisticamente entre si ($P=0.014$, $F=4,25$) segundo a análise de variância seguida pelo teste de comparação múltipla de Tukey. A probabilidade das médias totais do comprimento da asa anterior das abelhas serem diferentes entre os quatro tipos de favos foi determinada usando ANOVA.

Tabela 11 Análise morfométrica da largura da asa anterior direita em operárias emergentes de colônias de abelhas Africanizadas (*Apis mellifera*), obtidas de favos com diferentes tamanhos de células de crias de operárias.

	FVE	FAFn	FITn	FCAn
Colônia	MG±DP (mm)	MG±DP (mm)	MG±DP (mm)	MG±DP (mm)
69	3.28±0.111	3.39±0.081	3.52±0.087	---
71	3.44±0.084	3.54±0.142	3.64±0.093	---
43	3.39±0.160	3.55±0.061	3.66±0.107	3.63±0.088
47	3.25±0.085	3.34±0.099	3.35±0.089	3.33±0.089
66	3.25±0.041	3.41±0.078	3.40±0.151	3.43±0.109
73	3.27±0.085	3.37±0.071	3.34±0.099	3.43±0.079
74	3.32±0.098	3.37±0.084	3.45±0.116	3.56±0.090
117	3.28±0.071	3.37±0.083	3.56±0.102	3.40±0.145
MGT±DP	3.31±0.070 a	3.43±0.075 b	3.49±0.125 b	3.46±0.097 b

FVE = favo velho; FAFn = favo africanizado novo; FITn = favo italiano novo, FCAn = favo cárnico novo; MG = média geral da largura da asa para cada tipo de favo/colônia (N= 8 operárias); MGT± DP = média geral total ± desvio padrão (N= 8 colônias) da largura da asa anterior direita das operárias emergidas de diferentes tipos de favos. Médias seguidas por letras diferentes diferem estatisticamente entre si ($P=0.003$, $F=6,49$) segundo a análise de variância seguida pelo teste de comparação múltipla de Tukey. A probabilidade das médias totais da largura da asa anterior direita das abelhas serem diferentes entre os quatro tipos de favos foi determinada usando ANOVA.

Tabela 12 Correlações entre as medidas morfométricas (comprimento e largura da asa anterior direita) de abelhas operárias e o peso da abelha emergente e as diferentes dimensões da célula (diâmetro, profundidade e volume da célula), em 8 colônias experimentais de abelhas Africanizadas (*Apis mellifera*).

Caracter morfométrico	Tipos de Favo	DC	PC	VC	PA
Comprimento	A	-0.054 ^p	+0.114 ^p	+0.015 ^p	+0.204 ^p
	B	+0.26 [‡]	-0.038 ^p	+0.254 [‡]	+0.377 [*]
	C	-0.043 ^p	+0.015 ^p	-0.035 ^p	+0.49 [*]
	D	+0.53 [*]	-0.133 ^p	+0.45 [*]	+0.34 [‡]
Largura	A	-0.112 ^p	+0.13 ^p	-0.027 ^p	-0.08 ^p
	B	+0.197 ^p	-0.136 ^p	+0.121 ^p	+0.31 [‡]
	C	+0.17 ^p	+0.022 ^p	+0.18 ^p	+0.28 [‡]
	D	+0.47 [*]	-0.233 ^p	+0.33 [‡]	-0.066 ^p

DC = diâmetro da célula; PC = profundidade da célula; VC = volume da célula; PA= peso da abelha emergente; Tipos de favos: A = favo velho; B = favo africanizado novo; C = favo italiano novo; D = favo cárnico novo. [‡]Coeficiente de correlação é moderadamente significativo (P<0.05); ^{*}Coeficiente de correlação é altamente significativo (P<0.001); ^pCorrelação não significante entre as duas variáveis (P>0.05).

4.3 Análise do peso de abelhas operárias Africanizadas emergidas de favos com diferentes tamanhos de células de crias.

Neste trabalho foram pesadas um total de 2349 operárias, sendo pesadas 843 no favo velho (FVE), 769 no favo africanizado novo (FAFn), 833 no favo italiano novo (FITn) e 586 operárias no favo cárnico novo (FCAn). Do total de operárias analisadas, as operárias do FVE foram as que apresentaram menores pesos (88.12±3.22 mg), enquanto que nas operárias dos favos novos esses pesos foram superiores, sendo para o FAFn de 92.67±4.32 mg, para o FITn de 95.82±4.64 mg e para o FCAn de 96.89±1.80 mg (Tab. 13). Comparando-se o peso médio (mg) das operárias ao nascer entre os diferentes tipos de células de crias do FVE, FAFn, FITn e FCAn, percebe-se que ocorre um acréscimo no peso à medida que o tamanho da célula é aumentado. Em resumo, foi verificado que à medida que aumenta o tamanho da célula do favo (diâmetro e volume), aumenta o peso das abelhas operárias emergentes.

A comparação do peso das operárias entre os favos através da análise de variância, mostrou que ocorrem diferenças altamente significantes em nível de 1% de probabilidade entre os diferentes tipos de favos analisados ($p < 0.001$, One-way ANOVA), mas essa diferença refere-se à variação do peso detectada entre as abelhas nascidas do FVE com relação aos favos novos FAFn, FITn e FCAn ($p < 0.001$, Teste de Tukey). A variação do peso das abelhas, encontrada entre os favos novos FAFn e FITn, foi estatisticamente significativa ($p < 0.05$, Teste de Tukey). Apenas entre o favo novo FITn e FCAn essa diferença de peso não foi significativa ($p > 0.05$, Teste de Tukey). Porém, ambos favos apresentaram operárias com pesos superiores, sendo a diferença altamente significativa em relação ao peso das abelhas criadas no FVE ($p < 0.001$). Ocorre um aumento de peso de aproximadamente 9 mg (8.77 mg) nas operárias emergentes do favo FCAn, aproximadamente 8 mg (7.52 mg) nas operárias do favo FITn e apenas de 5 mg (4.55 mg) nas abelhas do favo FAFn, quando comparadas ao peso das abelhas do FVE (Tab. 13).

Observamos diferenças de pesos das abelhas Africanizadas emergentes entre as oito colônias estudadas. É possível que essa diferença observada no peso das operárias nos quatro tipos de favos, quando comparado entre as colônias de abelhas Africanizadas, seja devido também às características genéticas particulares de cada colônia.

Ao analisarmos o diagrama de frequência do caráter peso da abelha emergente (Fig.11), onde cada curva representa a distribuição de frequência das abelhas de cada tamanho de célula, verificamos que não apenas a média aritmética e o topo de suas curvas diferem entre tipos de células, mas também a distribuição, apesar de que as curvas se sobrepõem moderadamente, ou seja, notou-se uma tendência para um maior peso das operárias na medida que o tamanho da célula é aumentado. Porém, as curvas do peso das abelhas do FITn e FCAn se sobrepõem escassamente mostrando menos diferença na distribuição.

Analisamos as correlações do peso das operárias emergentes (PA) com relação às variáveis: diâmetro da célula (DC), profundidade da célula (PC) e volume da célula (VC) nos quatro tipos de favos (Tab. 14). Mostra-se de maneira geral que o DC e o VC do favo são as variáveis que estão mais ligadas ao peso das abelhas ao nascer em um nível altamente significativo. Verificamos no FVE que o PA apresentou correlação positiva e significativa com VC ($r = 0.12$, $p = 0.0021$) e correlação moderadamente significativa com PC ($r = 0.10$, $p = 0.011$). Já no favo FAFn foi verificada correlação positiva e altamente significativa entre o PA e as dimensões das células DC ($r = 0.17$, $p < 0.001$), PC ($r = 0.30$,

$p < 0.001$) e VC ($r = 0.34$, $p < 0.001$). Igualmente, no favo FITn o PA apresentou correlação positiva e significativa com as variáveis DC ($r = 0.31$, $p < 0.001$), PC ($r = 0.12$, $p = 0.00112$) e VC ($r = 0.37$, $p < 0.001$). Verificamos no FCAn que o PA apresentou-se correlacionado positiva e significativamente apenas com DC ($r = 0.19$, $p < 0.001$) e VC ($r = 0.23$, $p < 0.001$). Em resumo, podemos observar que as células dos favos novos construídas pelas abelhas que apresentaram volumes e diâmetros das células maiores (FITn e FCAn) correspondem às abelhas mais pesadas criadas nessas células.

Tabela 13 Análise dos pesos das operárias emergentes obtidos de favos com diferentes tamanhos de células de crias de operárias, em colônias de abelhas Africanizadas (*Apis mellifera*)

	FVE	FAFn	FITn	FCAn
Colônia	MG±DP (mg)	MG±DP (mg)	MG±DP (mg)	MG±DP (mg)
69	87.70±9.03	87.93±5.44	94.07±6.69	---
71	83.84±7.37	90.16±6.17	91.11±6.89	---
43	94.54±6.29	101.32±5.92	102.83±6.41	98.23±7.38
47	89.49±6.10	95.49±4.86	99.42±5.48	98.21±6.79
66	86.52±8.40	88.66±8.06	93.02±7.31	94.18±7.52
73	87.22±4.67	91.75±6.04	91.66±5.84	94.94±6.54
74	85.87±7.37	92.09±5.69	93.10±6.49	95.13±8.26
117	89.74±6.86	93.93±3.75	101.37±4.46	98.43±7.74
MGT±DP	88.12±3.22 a	92.67±4.32* b	95.82±4.64* c	96.89±1.80 c

FVE = favo velho; FAFn = favo africanizado novo; FITn = favo italiano novo; FCAn = Favo cárnico novo. MG: Média geral do peso das operárias por colônia, MGT±DP: média geral total ± desvio padrão (N= 8 colônias) do peso das abelhas operárias emergentes para cada tipo de favo. Médias seguidas por letras diferentes diferem estatisticamente entre si ($P < 0.001$, $F = 14.32$; *FAFn x FITn = $P < 0.05$) segundo a análise de variância seguida pelo teste de comparação múltipla de Tukey. A probabilidade das médias gerais do peso das abelhas operárias emergentes serem diferentes entre os quatro tipos de favos foi determinada usando ANOVA.

Figura 11 Distribuição de freqüência para peso das operárias Africanizadas emergentes obtidas de favos com diferentes tamanhos de células de crias, em 8 colônias de abelhas Africanizadas (*Apis mellifera*). FVE= favo velho; FAFn= favo africanizado novo; FITn= favo italiano novo; FCAn = favo cárnico novo.

Tabela 14 Correlações entre o peso da operária emergente e as diferentes dimensões da célula do favo (diâmetro, profundidade e volume), em 8 colônias de abelhas Africanizadas (*Apis mellifera*).

Variáveis	TIPOS DE FAVOS			
	FAVO TIPO VELHO	FAVO TIPO AFRICANIZADO	FAVO TIPO ITALIANO	FAVO TIPO CÁRNICO
	PA	PA	PA	PA
DA	+0.059 ^p 0.129	+0.17* <0.001	+0.31* <0.001	+0.19* <0.001
PC	+0.10 [‡] 0.011	+0.30* <0.001	+0.12* 0.00112	+0.053 ^p 0.247
VC	+0.12* 0.0021	+0.34* <0.001	+0.37* <0.001	+0.23* <0.001

PA = peso da operária emergente; DC = diâmetro de abertura; PC = profundidade da célula; VC = volume da célula; O número indicado abaixo do coeficiente de correlação representa o valor de P; [‡]Coeficiente de correlação é moderadamente significativo (P<0.05); *Coeficiente de correlação é altamente significativo (P<0.001); ^pCorrelação não significativa entre as duas variáveis (P>0.05).

4.4 Análise do peso das abelhas operárias Africanizadas infestadas pelo ácaro *Varroa jacobsoni*.

Para este estudo foram pesadas um total de 503 operárias infestadas pelo ácaro *Varroa jacobsoni*, sendo 181 no favo velho (FVE), 78 no favo africanizado novo (FAFn), 131 no favo italiano novo (FITn) e 113 operárias no favo cárnico novo (FCAn). Analisamos o peso das operárias emergentes em células de crias de operárias infestadas por uma ou mais varroas adultas originais (Tab. 15), sendo que o peso médio das operárias infestadas no FVE foi de 78.87±3.77 mg, no FAFn de 82.06±5.21 mg, no FITn de 86.34±5.52 mg e de 85.02±1.19 mg para as operárias infestadas criadas nas células do FCAn. Nos diferentes tipos de células de cria de operárias não infestadas pela varroa, encontramos pesos médios das operárias emergentes de 90.61±2.72 mg, 93.8±3.79 mg, 97.49±4.23 mg e 99.12±4.02 para os favos FVE, FAFn, FITn e FCA respectivamente. Comparando-se o peso médio das abelhas operárias emergentes infestadas e não infestadas pelo ácaro varroa, em cada tipo de favo, percebe-se que ocorre um forte decréscimo no peso da abelha de 14.9% para os favos FVE e FAFn e de 13.0% e 16.6% para os favos FITn e FCA respectivamente (Tab. 15) e foi verificado que à medida que se

diminui o tamanho da célula do favo ocorre uma diminuição do peso da abelha operária infestada.

Na comparação do peso das operárias emergentes, foi verificado que ocorrem diferenças altamente significantes em nível de 5% de probabilidade entre o peso da abelha operária infestada e não infestada em cada tipo de favo estudado: FVE, FAFn, FITn e FCAn ($p < 0.001$, teste-t).

Diferenciando o aspecto externo das abelhas operárias infestadas recém-pesadas, notou-se que além do peso, o tamanho das abelhas emergentes infestadas era bem menor do que as abelhas normais e, até mesmo, foram observadas algumas malformações nas asas, sendo mais acentuadas nas abelhas emergidas do FVE.

Neste trabalho, observou-se uma redução de peso das operárias criadas em células infestadas pela varroa, para o FVE, FAFn e FITn, de aproximadamente 12 mg (11.7, 11.7 e 11.5 mg respectivamente) com relação às operárias criadas em células não invadidas. Já no FCAn foi observado uma maior redução de peso da operárias infestada de 14 mg.

Analizamos as correlações do peso da operária infestada com relação às variáveis: diâmetro da célula (DC), profundidade da célula (PC) e volume da célula (VC) nos quatro tipos de favos (Tab. 16). Verifica-se, de maneira geral, que o VC é a variável mais ligada ao peso das operárias (PA) com relação a varroa nas células em um nível significativo. Verificamos no FVE e FCAn que as três dimensões das células de cria não apresentaram correlação significativa com PA infestada ($p > 0.05$). Já no favo FAFn foi verificado que o PA infestada é inconsistente em sua correlação e em geral correlaciona pobremente com PC ($r = 0.27$, $p = 0.0181$) e VC ($r = 0.27$, $p = 0.0159$), porém o PA infestada não apresentou correlação com DC ($r = 0.11$, $p = 0.357$). No favo FITn o peso da operária infestada apresentou correlação positiva e altamente significativa apenas com VC ($r = 0.23$, $p = 0.0079$). Em resumo, podemos observar também que os favos novos construídos pelas abelhas que apresentam volumes das células maiores correspondem com os maiores pesos das abelhas infestadas emergidas nessas células.

Tabela 15 Análise do peso de operárias emergentes obtidas de favos com diferentes tamanhos de células de crias de operárias infestados e não infestados pelo ácaro *Varroa jacobsoni*, em colônias de abelhas Africanizadas (*Apis mellifera*).

	FVE		FAFn		FITn		FCAn	
Colônia	PA-INF (mg)	PA-NINF (mg)	PA-INF (mg)	PA-NINF (mg)	PA-INF (mg)	PA-NINF (mg)	PA-INF (mg)	PA-NINF (mg)
69	82.00	88.72	77.56	89.41	88.54	94.76	---	---
71	74.30	86.94	80.31	91.10	82.13	93.75	---	---
43	85.53	95.54	89.09	101.36	90.87	103.98	84.42	100.69
47	80.31	91.93	86.78	96.67	90.39	101.01	86.87	100.53
66	76.50	90.80	74.97	91.07	80.94	95.49	84.27	96.28
73	78.68	88.92	77.39	92.98	79.35	93.02	84.14	97.15
74	74.78	89.38	83.96	93.53	83.80	95.72	84.26	98.94
117	78.83	92.64	86.45	94.24	94.68	102.20	86.17	101.12
MG±DP	78.87±3.8*	90.61±2.7*	82.06±5.21**	93.80±3.8**	86.34±5.5***	97.49±4.2***	85.02±1.19 ⁺⁺	99.12±4.02 ⁺⁺

FVE = favo velho; FAFn = favo africanizado novo; FITn = favo italiano novo; FCAn = favo cárnico novo; PA-INF = pesos das operárias em células infestadas pela varroa; PA-NINF: pesos das operárias em células favos não infestados pela varroa; MG±DP: média geral de pesos das operárias (N= 8 colônias) em células infestadas e não infestadas para cada tipo de favo ± desvio padrão. A probabilidade das médias dos pesos das operárias entre células infestadas e não infestadas serem diferentes em cada tipo favo foi determinada usando teste-*t* “Student”. * = $P < 0.001$; ** = $P < 0.001$; ⁺⁺ = $P < 0.001$; *** = $P < 0.001$.

Tabela 16 Correlações entre o peso da operária emergente infestada pelo ácaro *Varroa jacobsoni* e as diferentes dimensões da célula do favo (diâmetro, profundidade e volume), em 8 colônias de abelhas Africanizadas (*Apis mellifera*).

Variáveis	TIPOS DE FAVOS			
	FAVO TIPO VELHO	FAVO TIPO AFRICANIZADO	FAVO TIPO ITALIANO	FAVO TIPO CARNICO
	PA	PA	PA	PA
DC	-0.039 ^p 0.605	+0.11 ^p 0.357	+0.12 ^p 0.157	+0.104 ^p 0.274
PC	-0.003 ^p 0.969	+0.27 [‡] 0.0181	+0.15 ^p 0.0856	-0.11 ^p 0.265
VC	-0.045 ^p 0.549	+0.27 [‡] 0.0159	+0.23 [*] 0.0079	-0.061 ^p 0.522

PA = peso da operária emergente; DC = diâmetro de abertura da célula; PC = profundidade da célula; VC = volume da célula. O número indicado abaixo do coeficiente de correlação representa o valor de P; [‡]Coeficiente de correlação é moderadamente significativo (P<0.05); ^{*}Coeficiente de correlação é altamente significativo (P<0.01); ^pCorrelação não significante entre as duas variáveis (P>0.05).

4.5 Verificação dos índices de infestação do ácaro *Varroa jacobsoni* nos quatro tipos de favos com diferentes tamanhos de células de cria de operária.

Analizamos um total de 843 células de operárias no favo velho (FVE), 769 células no favo africanizado novo (FAFn), 833 células no favo italiano novo (FITn) e 586 células no favo cárnico novo (FCAn). Durante o experimento não se observaram células de crias de zangões nas colônias, de modo que os ácaros tiveram apenas células de operárias disponíveis para infestação. O índice médio de infestação {(número de células infestadas/número de células analisadas) x 100} no FVE foi de 20.6±6.4% em oito colônias analisadas, variando de 10.0% a 30.0% (Tab. 17). Verificamos no FAFn uma infestação média menor, ficando ainda abaixo de 11.0%, sendo praticamente a metade do que foi observado no FVE. Já no FITn registramos infestação média de 14.7±5.4%, com variação de 8.7% a 22.7%. No FCAn, verificamos uma infestação média maior, chegando a 19.2±4.1%, praticamente o dobro em relação ao favo FAFn (Tab. 17). Os índices de infestação da varroa verificados nos quatro diferentes tamanhos

de células de crias de operárias diferiram estatisticamente entre si ($\chi^2 = 41.122$, $p < 0.001$ – teste para comparação de n proporções), mas essa diferença refere-se à variação detectada entre os seguintes grupos: 1.– A infestação média foi significativamente maior em células do FVE que em células do favo FAFn que apresentou menor índice de infestação ($\chi^2 = 37.431$, $p < 0.001$ – teste para comparação de duas proporções); 2.– O FVE que apresentou maior índice de infestação diferiu também significativamente com a infestação no FITn ($\chi^2 = 8.751$, $p = 0.003$); 3.– Considerando apenas os favos novos, houve diferenças estatísticas entre os índices médios de infestação do FAFn e FITn ($\chi^2 = 10.501$, $p < 0.001$) e entre o FAFn e FCAn ($\chi^2 = 22.197$, $p < 0.001$); 4.– O índice médio de infestação da varroa em células do FVE não apresentou diferença estatística com relação ao FCAn ($\chi^2 = 0.883$, $p = 0.347$) e o mesmo foi observado entre o favos novos FITn e FCAn ($\chi^2 = 2.812$, $p = 0.094$). Com base nos resultados obtidos, observamos que nas mesmas colônias o FVE apresentou maior índice de infestação em relação os favos novos e, em geral, foi duas vezes mais infestado pela varroa que o favo FAFn.

Houve maior número de fêmeas adultas do ácaro ($n = 275$) em células infestadas do FVE ($n = 181$) que apresentou menor tamanho da célula (menor diâmetro e volume), em comparação com os favos novos FAFn, FITn e FCAn, com células de maior tamanho (Tab. 18). As células infestadas do FAFn ($n = 78$) apresentaram menor número de varroas adultas ($n = 114$). Já no FITn encontramos 164 varroas nas 131 células infestadas e no FCAn foram 143 varroas em 113 células infestadas.

Dos quatro tipos de favos analisados, observamos infestação múltipla em maior proporção nas células de cria analisadas do FVE ($n = 843$) do que nas células dos favos novos. Verificamos no FVE que 78.5% das células ($n = 662$) não tinham varroas, 12.8% ($n = 108$) estavam infestadas por apenas uma varroa adulta original, 7.2% ($n = 61$) por duas, 1.2% ($n = 10$) por três e 0.2% ($n = 2$) por quatro. Não foram encontradas células infestadas por cinco varroas adultas. Nas células de cria de operárias investigadas do FAFn ($n = 769$), observamos que 89.8% ($n = 691$) não tinham varroas adultas, 6.2% ($n = 48$) estavam infestadas por apenas uma varroa adulta, 3.3% ($n = 25$) por duas, 0.5% ($n = 4$) por três e 0.1% ($n = 1$) por quatro. Não foram encontradas células infestadas por cinco varroas adultas. Para os dois tipos de favos de abelhas européias (FITn e FCAn) verificamos, em média, que do total de células investigadas ($n = 1419$), 82.8% ($n = 1175$) não tinham varroas adultas, 12.9% ($n = 184$) estavam infestadas por apenas uma varroa adulta, 4.0% ($n = 57$) por duas, 0.2% ($n = 3$) por três. Não foram encontradas células infestadas por quatro e cinco varroas adultas (Tab. 18). Ao se comparar o FVE de

células reduzidas com o FAFn, verificamos que o FVE apresentou menor porcentagem de células sem varroas (78.5%) do total analisadas, mas em compensação teve uma porcentagem maior (+6.6%) de células infestadas com uma varroa adulta. Igualmente, células de cria do FVE infestadas com duas e três varroas nas células foram duas e seis vezes mais infestadas em relação aos favos novos respectivamente.

Na comparação dos quatro tipos de favos, percebe-se que as proporções de células infestadas foram sempre maiores nos favos velhos em cada colônia estudada, com exceção da colônia 43 (Fig. 12). Ao se considerar os diferentes tamanhos das células (favo velho e favos novos) dentro de um mesmo intervalo de diâmetros entre 4.51 – 5.2 mm, encontrou-se que os favos velhos foram de quatro a cinco vezes mais infestados pela varroa que os favos novos para todas as colônias. Além disso, observamos uma tendência para maior infestação de células de cria à medida que o diâmetro da célula aumenta (Fig. 13). Em relação à profundidade dos alvéolos notou-se que em células infestadas pela varroa a maior porcentagem de células invadidas ocorreu em células com profundidades menores (entre 11.7 mm e 11.9 mm) e observamos que a porcentagem de células infestadas pela varroa nos quatro tipos de favos diminui à medida que a profundidade ou a altura da célula aumenta (Fig. 14). Isto indica que possivelmente a profundidade da célula seja um fator importante que pode influenciar a invasão do ácaro nas células de crias. Não obstante, verificamos que o FVE que apresenta profundidade da célula superior, manteve maior porcentagem de células infestadas em relação aos favos novos entre 37.1% e 10.4% para profundidade da célula entre 11.7 mm e 12.3 mm respectivamente (Fig. 14).

Tabela 17 Infestação do ácaro *Varroa jacobsoni* em células de crias de operárias obtidas de favos com diferentes tamanhos de células de crias, em colônias de abelhas Africanizadas (*Apis mellifera*).

	FVE			FAFn			FITn			FCAn		
Colônia	Células Analisadas (n)	Células Infestadas (n)	IIC	Células Analisadas (n)	Células Infestadas (n)	IIC	Células Analisadas (n)	Células Infestadas (n)	IIC	Células Analisadas (n)	Células Infestadas (n)	IIC
69	53	8	15.1	63	8	12.7	45	5	11.1	---	---	---
71	200	49	24.5	115	10	8.7	185	42	22.7	---	---	---
43	90	9	10.0	90	7	7.8	103	9	8.7	86	13	15.1
47	100	21	21.0	100	12	12.0	100	15	15.0	100	17	17.0
66	100	30	30.0	100	15	15.0	100	17	17.0	100	22	22.0
73	100	17	17.0	100	7	7.0	100	10	10.0	100	17	17.0
74	100	26	26.0	100	16	16.0	100	22	22.0	100	26	26.0
117	100	21	21.0	100	4	4.0	100	11	11.0	100	18	18.0
Média Geral ±DP			20.6±6.4 a			10.4±4.2 b			14.7±5.4 c			19.2±4.1 ac

FVE = favo velho; FAFn = favo africanizado novo; FITn = favo italiano novo; FCAn = favo cárnico novo; (n) = número; IIC = Índice de Infestação em células de cria de operárias (%) = (número de células infestadas / número de células analisadas) x 100; DP = desvio padrão da média geral. Médias seguidas por letras diferentes diferem estatisticamente entre si (P<0.05, teste para comparação de duas proporções).

Tabela 18 Quantificação de células de crias de operárias infestadas por uma ou mais fêmeas adultas do ácaro *V. jacobsoni* em diferentes tipos de favos de crias, em colônias de abelhas Africanizadas (*Apis mellifera*).

FVE									FAFn							
	Número de varroas adultas originais infestando a célula de cria						Total Células Investigadas	Varroas Adultas	Número de varroas adultas originais infestando a célula de cria						Total Células Investigadas	Varroas Adultas
Colônia	0	1	2	3	4	5	(n)	(n)	0	1	2	3	4	5	(n)	(n)
69	45	6	1	1	0	0	53	11	56	6	2	0	0	0	64	10
71	151	38	11	0	0	0	200	60	105	8	2	0	0	0	115	12
43	81	5	3	1	0	0	90	14	83	4	2	0	1	0	90	12
47	79	10	9	2	0	0	100	54	88	6	6	0	0	0	100	25
66	70	12	17	1	0	0	100	49	85	8	6	1	0	0	100	23
73	83	15	2	0	0	0	100	34	93	5	2	0	0	0	100	18
74	74	7	12	5	2	0	100	19	85	8	4	3	0	0	100	9
117	79	15	6	0	0	0	100	34	96	3	1	0	0	0	100	5
Total	662	108	61	10	2	0	843	275	691	48	25	4	1	0	769	114
%	78.5	12.8	7.2	1.2	0.2	0.0			89.8	6.2	3.3	0.5	0.1	0.0		

FITn									FCAn							
69	40	5	0	0	0	0	45	5	--	--	--	--	--	--	--	--
71	143	32	10	0	0	0	185	52	--	--	--	--	--	--	--	--
43	94	7	2	0	0	0	103	11	73	9	4	0	0	0	86	17
47	85	12	3	0	0	0	100	18	83	11	5	1	0	0	100	24
66	83	12	5	0	0	0	100	22	78	17	5	0	0	0	100	27
73	90	8	2	0	0	0	100	12	83	14	3	0	0	0	100	20
74	78	13	7	2	0	0	100	33	74	17	9	0	0	0	100	35
117	89	11	0	0	0	0	100	11	82	16	2	0	0	0	100	20
Total	702	100	29	2	0	0	833	164	473	84	28	1	0	0	586	143
%	84.3	12.0	3.5	0.2	0.0	0.0			80.7	14.3	4.8	0.2	0.0	0.0		

FVE = favo velho; FAFn = favo africanizado novo; FITn = favo italiano novo; FCAn = favo cárnico novo; (n) = número

Figura 12 Índice de infestação do ácaro *Varroa jacobsoni* em células de operárias de quatro diferentes tipos de favos de crias, em colônias de abelhas Africanizadas (*Apis mellifera*).

Figura 13 Porcentagem de células de cria de operárias infestadas pelo ácaro *Varroa jacobsoni* em relação ao diâmetro da célula, em quatro tipos de favos com diferentes tamanhos de células de cria, em 8 colônias de abelhas Africanizadas (*Apis mellifera*); FVE = favo velho; FAFn = favo africanizado novo; FITn = favo italiano novo; FCAAn = favo cárnico novo.

Figura 14 Porcentagem de células de cria de operárias infestadas pelo ácaro *Varroa jacobsoni* em relação à profundidade da célula, em quatro tipos de favos com diferentes tamanhos de células de cria, em 8 colônias de abelhas Africanizadas (*Apis mellifera*); FVE = favo velho, FAFn = favo africanizado novo, FITn = favo italiano novo; FCAn = favo cárnico novo.

4.6 Taxas reprodutivas do ácaro *Varroa jacobsoni* em diferentes células de crias de operárias.

Foram analisadas um total de 2349 células de crias de operária. No favo velho (FVE) foram investigadas 843 células em 8 colônias e do total de células analisadas, 181 células (21.5%) estavam infestadas pela varroa (Tab. 19). A maior proporção de células infestadas foi verificada neste tipo de favo em relação ao favo africanizado novo (FAFn), italiano novo (FITn) e cárnico novo (FCAn). No FAFn foram investigadas 769 células e a infestação média foi de 10.1% (n= 78). Nas células de cria de operária do FITn (n= 833), verificamos que 131 estavam infestadas pela varroa (15.2%). No FCAn, a

infestação média em células de crias foi de 19.3% (n= 113), apenas 586 células foram analisadas em 8 colônias (Tab. 19). A proporções de células de cria de operárias infestadas pela varroa foram significativamente diferentes nos quatro tipos de favos em estudo ($\chi^2 = 41.122$, $p < 0.001$ – teste para comparação de n proporções). Entre os favos novos essas proporções apenas não diferiram entre o FITn e FCAn ($\chi^2 = 2.812$, $p = 0.094$).

Em células infestadas por uma ou mais varroas adultas do FVE, verificamos que, em 77.9% das células as varroas haviam produzido descendentes, sendo a produção de descendentes nos favos FAFn e FCAn um pouco menores, apresentando proporções de 73.1% e 76.9% respectivamente. Nas células infestadas do FITn, a produção de descendentes foi ainda menor em relação aos outros favos, apresentando proporção de 68.7% (Tab. 19). As proporções de células infestadas com descendentes produzidos não apresentaram diferenças estatísticas entre os quatro tipos de favos ($\chi^2 = 4.397$, $p = 0.222$ – teste para comparação de n proporções). Por outro lado, verificamos no FVE que apenas em 21.5% das células infestadas as varroas não produziram descendentes. Foram observadas células infestadas sem descendentes dos favos FAFn e FCAn em proporções superiores em relação ao FVE (26.9% e 22.1% respectivamente). Não obstante, a maior proporção de células infestadas sem descendentes da varroa ocorreu nas células do favo novo FITn (31.3%). As proporções de células infestadas sem descendentes do ácaro não apresentaram diferenças estatísticas entre os quatro tipos de favos estudados ($\chi^2 = 4.397$, $p = 0.222$ – teste para comparação de n proporções).

O número de ácaros fêmeas adultos foi investigado nos diferentes tamanhos de células de crias (Tab. 19), tomando-se o cuidado de não confundi-lo com a fêmea jovem. Nas células infestadas do FVE, verificou-se que a proporção de ácaros fêmeas adultos foi de 32.6%, sendo superior às proporções de varroas adultas verificadas no FAFn, FITn e FCAn (14.8%, 19.7% e 24.4% respectivamente). As proporções do número de varroas infestando os diferentes tamanhos de células de cria apresentaram diferenças estatísticas entre si ($\chi^2 = 68.324$, $p < 0.001$ – teste para comparação de n proporções).

Ao considerar o número total de células infestadas com descendentes do ácaro, nota-se que as células menores do FVE contribuíram 2.5, 1.6 e 1.6 vezes mais ao aumento da população de varroa em relação aos favos novos FAFn, FITn e FCAn respectivamente (Tab. 19).

Foi verificada a taxa de reprodução total (TRT) nos quatro tipos de favos (FVE, FAFn, FITn e FCAn) em colônias de abelhas Africanizadas (Tab. 20). Com o número

total de descendentes produzidos foi calculada a taxa de reprodução total da varroa, obtendo-se TRT de 1.28, 0.98, 1.19 e de 1.58 para os favos FVE, FAFn, FITn e FCAAn respectivamente quando computamos todas as varroas adultas originais. Essas taxas de reprodução total do ácaro não apresentaram diferenças significativas entre si ($p= 0.074$, One-Way ANOVA), embora os favos FVE e FCAAn apresentaram TRT maiores.

Tabela 19 Dados de infestação e reprodução do ácaro *Varroa jacobsoni* obtidos de favos com diferentes tamanhos de células de crias de operárias em 8 colônias de abelhas Africanizadas (*Apis mellifera*).

	FVE	FAFn	FITn	FCAAn
Total de células Analisadas	843 (100%)	769 (100%)	833 (100%)	586 (100%)
*Total de células infestadas	181 (21.5%) a	78 (10.1%) b	131 (15.7%) c	113 (19.3%) ac
*Total de adultos de varroa infestando células	275 (32.6%) a	114 (14.8%) b	164 (19.7%) c	143 (24.4%) d
‡Número de células infestadas com descendentes	141 (77.9%) a	57 (73.1%) a	90 (68.7%) a	87 (76.9%) a
‡Número de células infestadas sem descendentes	39 (21.5%) a	21 (26.9%) a	41 (31.3%) a	25 (22.1%) a

FVE = favo velho; FAFn = favo africanizado novo; FITn = favo italiano novo; FCAAn = favo cárnico novo; O dado entre parênteses indica a frequência relativa (%) em relação ao número total de células analisadas* e número total de células infestadas‡. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas ($p< 0.05$, teste para comparação de duas proporções).

Tabela 20 Taxas de reprodução total (TRT) do ácaro *Varroa jacobsoni* obtidas de favos com diferentes tamanhos de células de crias de operárias, em colônias de abelhas Africanizadas (*Apis mellifera*).

	FVE		FAFn		FITn		FCAn	
Colônia	TRT	n	TRT	n	TRT	n	TRT	n
69	1.73 (2.71±1.60)	8	0.90 (1.80±0.83)	8	0.20 (1.00±0.50)	5	----	---
71	1.43 (2.38±1.23)	49	0.66 (1.33±0.52)	10	1.00 (1.85±1.15)	42	----	---
43	0.79 (1.83±0.75)	9	0.41 (1.25±0.50)	7	1.54 (2.13±0.92)	10	1.53 (2.36±0.81)	13
47	1.44 (2.45±0.83)	21	1.33 (2.00±0.95)	12	1.39 (1.92±0.86)	15	1.29 (3.10±1.10)	17
66	0.63 (2.00±0.76)	30	1.21 (2.54±1.04)	15	1.14 (2.08±1.17)	17	1.44 (2.43±1.37)	22
73	1.32 (2.08±1.31)	17	1.22 (2.20±1.30)	7	1.16 (2.00±1.55)	10	1.95 (2.43±1.21)	17
74	1.09 (2.52±1.12)	26	1.08 (2.25±0.75)	15	1.00 (2.35±0.84)	22	1.54 (2.45±1.59)	26
117	1.81 (2.45±1.35)	21	1.00 (2.50±0.58)	4	2.09 (2.88±1.13)	11	1.70 (2.43±1.28)	18
MG ±DP	1.28±0.42 a	181	0.98±0.31 a	78	1.19±0.54 a	131	1.58±0.23 a	113

FVE = favo velho; FAFn = favo africanizado novo; FITn = favo italiano novo; FCAn = favo cárnico novo; TRT = número de descendentes produzidos por fêmea adulta original; n = número de células infestadas; MG±DP = média geral ± desvio padrão. Número entre parênteses indica a média ± desvio padrão dos descendentes totais do ácaro em células com descendência para cada tipo de favo. Médias seguidas por letras semelhantes não diferem estatisticamente entre si (P>0.05) segundo a análise de variância seguida pelo teste de comparação múltipla de Tukey. A probabilidade das médias de TRT serem diferentes entre os quatro favos foi determinada usando ANOVA.

5 DISCUSSÃO

Historicamente, tem havido uma preocupação com o tamanho das células do favo de cria das abelhas *Apis mellifera*. O tamanho da célula do favo é um tema cuidadosamente tratado em vários trabalhos por Boudoux (1927, 1933) e Grout (1937a, 1937b). Grout, por exemplo, estudou colônias sobre favos feitos de lâminas de cera com 857, 763, 706 células/dm², encontrando que abelhas operárias maiores poderiam ser produzidas usando lâminas de cera com células alargadas e que o aumento no tamanho das abelhas produzidas foi quase proporcional ao aumento do tamanho da célula. Esse mesmo autor observou que, após quatro anos de experimentação na qual aproximadamente 60 colônias do apiário foram divididas em três grupos de colônias e cada uma com diferentes tamanhos de lâminas de cera, o tamanho da célula e o fato que algumas colônias pudessem ter abelhas maiores não surtiu efeito sobre a produção de mel. Embora seja fácil encontrar referências sobre o contrário, incluindo trabalhos russos como Lovchinovskaya (1930) que constatou que as abelhas criadas em células maiores pesaram mais, tiveram uma maior capacidade de carga e que dos resultados de uma estação, elas produziram mais mel. Hejtmanek (1960) registrou produção de mel de 173 colônias e mediu o comprimento da língua de cerca de 1600 abelhas operárias nessas colônias concluindo que não houve relação entre comprimento da língua e produção.

Existem fatores que podem afetar o peso das abelhas emergentes, tais como tamanho da célula, o número e idade de abelhas jovens, população da colônia, disponibilidade de néctar e pólen, doenças e condições climáticas (Winston, 1987). Ainda que a importância biológica de diferentes pesos do corpo não tenha sido bem estudada, o peso do corpo das operárias pode influenciar no seu rendimento, sendo que abelhas mais pesadas tendem a procurar mais alimento que operárias mais leves (Winston, 1987).

O tamanho da célula pode variar com a raça de abelha e a idade da colônia. Em raças de abelhas italianas *A. m. ligustica*, as células de operárias possuem geralmente 5.2-5.4 mm de diâmetro, enquanto que as células de zangões possuem de 6.2-6.4 mm (Von Frisch, 1974). As abelhas africanas *A. m. adansonii* constroem células de operárias e células de zangões de 4.8-4.9 mm e 6.0-6.3 mm de diâmetro respectivamente, e criam abelhas menores nessas células em relação às abelhas européias (Winston, 1987).

O tamanho da célula do favo onde as crias se desenvolvem é um fator que influencia a infestação do ácaro *Varroa jacobsoni* (Message & Gonçalves, 1995). A reprodução da varroa, um parasito de adultos e crias de *A. cerana* e *A. mellifera*, se verifica exclusivamente dentro das células de operárias e zangões dessas duas espécies de

abelhas (De Jong, 1988). Em *A. mellifera* o ácaro encontrou melhores condições de desenvolvimento e alcança altas taxas de infestação, causando graves conseqüências para a apicultura mundial (Morse & Gonçalves, 1979; De Jong et al., 1984). Muitos estudos foram iniciados no sentido de se conhecer melhor os fatores que podem afetar a infestação da varroa. Entre eles estão: condições climáticas (Ritter & De Jong, 1984; Moretto, 1988); raças de abelhas (Moretto, 1988); tamanho das células onde as larvas das abelhas se desenvolvem (Message & Gonçalves, 1995); tempo de desenvolvimento das crias das operárias (Moritz & Hanel, 1984; Message, 1986; Rosenkranz & Engels, 1994); comportamento de remoção do ácaro pelas abelhas adultas (Guerra Jr. et. al., 2000) e presença de realeiras na colméia que é um fator que altera a taxa de reprodução do ácaro nas células de operárias (De Jong, 1981). Abelhas recém-emergidas têm peso reduzido devido a presença dos ácaros em seus alvéolos, que sugam sua hemolinfa (De Jong & Gonçalves, 1981). O maior sucesso da varroa sobre as abelhas se deve, entre outras coisas, à capacidade do ácaro para produzir maior número de descendentes viáveis nas células de operárias de *A. mellifera* (De Jong, 1988).

A diferença entre abelhas européias e africanas ou abelhas Africanizadas tem estimulado uma grande quantidade de pesquisadores a determinar que fatores influenciam a preferência da varroa em vários tipos de células de cria. Operárias desenvolvidas em células de abelhas italianas apresentam uma maior infestação do que nas células de abelhas Africanizadas, independentemente da subespécie que as povoa (Message & Gonçalves, 1984). O ácaro varroa prefere larvas de operárias em células de operárias do tipo européias (mais alargadas) que larvas de operárias da mesma rainha em células de tamanho africanizado (Message, 1986). Zangões criados em células de operárias foram menos infestados do que quando desenvolvidos em suas próprias células, mas foram mais infestados do que operárias em células de zangões, indicando que há um fator inerente à larva de zangão causando essa diferença (Issa, 1985).

5.1 Análise das dimensões das células de cria não infestadas e infestadas por *Varroa jacobsoni* em diferentes tipos de favos.

Com base nos resultados das dimensões das células do favo velho (FVE) e dos favos novos africanizado (FAFn), italiano (FITn) e cárnico (FCAn) fica evidente que o

diâmetro da célula (DC) e o volume da célula (VC) são as variáveis que têm grande variação entre os diferentes favos de cria e entre as colméias estudadas.

Spivak et. al. (1988) citaram que o tamanho da célula é um indicador do grau de hibridização entre Africanizada e européia, confirmando a importância de estudos futuros. Segundo Spivak & Erickson (1992), o tamanho da célula das abelhas depende da origem genética destas abelhas, ou seja, se forem Africanizadas terão células menores, se européias células maiores. Quando 22 enxames de abelhas Africanizadas foram colocados em colônias com lâminas de cera alveolada européias, as células dos favos construídos tiveram em média 4.98 ± 0.123 cm/10 células e subsequentemente as mesmas abelhas construíram células naturais a qual não foram significativamente diferentes em tamanho, em relação a outras 62 colônias africanizadas que tinham apenas favos construídos naturalmente com média de 4.94 ± 0.107 cm/10 células e os resultados, quando se utilizaram diferentes colônias de abelhas Africanizadas, mostraram igualmente que as operárias Africanizadas das colméias selecionadas construíram favos com tamanhos das células similares (Spivak & Erickson, 1992). Erickson et. al. (1990) observaram que lâminas de cera alveolada com 700 células/dm² tiveram 10.7% mais células em relação aos favos com células de tamanho natural.

Medidas do diâmetro da célula do favo podem distinguir facilmente abelhas domésticas européias de abelhas Africanizadas menores, mas não são confiáveis para abelhas domésticas menores ou abelhas européias silvestres ou híbridas, entre rainhas européias e zangões africanizados ou vice-versa (Rinderer et. al., 1986a). Barbosa & Scott (1967) encontraram para a largura das células (medida entre as faces paralelas das células) uma média de 4.87 mm para as abelhas Africanizadas e Cosenza & Batista (1974) encontraram uma média de 4.82 mm também para as células de abelhas Africanizadas e 5.08 mm para abelhas caucasianas. Quezada-Euan & Paxton (1999) citaram que a medida de 10 células contíguas de operárias Africanizadas foi em média de 48.6 ± 0.022 mm ou 4.86 mm de diâmetro/célula e em abelhas européias foi de 52.0 ± 0.018 mm ou 5.2 mm de diâmetro. Neste trabalho, esta medida também corresponde ao diâmetro da célula, onde se encontrou uma média de 4.56 mm para as células do FVE, 4.84 mm para células do FAFn e 5.27 mm para as células do FCA n construídas naturalmente. Resultado similar foi registrado por Bianchini (1994) que encontrou uma média de 4.65 mm e 5.0 mm de diâmetro para as células presentes e construídas pelas abelhas respectivamente em colméias parentais muito infestadas pela

varroa e, de 4.85 mm e 5.12 mm para as células de cria nas colméias descendentes. Isto pode ser compreendido quando se considera que favos mais novos possuem uma menor propolização das células, o que pode estar causando a superioridade desta medida nos favos construídos naturalmente. Já Rinderer et. al. (1986a) citaram a medida da parede da célula como uma importante variável no tamanho final de 10 células de operárias Africanizadas, que foi de 4.9 cm, sendo que Rinderer et. al. (1982) encontraram esta mesma medida variando entre 4.8 e 4.9 cm/10 células. Com relação ao diâmetro da célula, Spivak et. al. (1998) citaram que as abelhas Africanizadas podem produzir células ligeiramente menores, constatando que células africanizadas possuem um diâmetro de 4.99 ± 0.086 mm, mas Loper (1993) encontrou 5.17 mm de largura; e compararam esse dado com os de outros autores que se referem ao diâmetro da célula estudado neste trabalho.

Estudos sugeriram que células com diâmetros menores resultaram em células reduzidas e abelhas menores em favos velhos devido à falta de espaço e à relativa deficiência de alimento. Abelhas criadas em favos velhos podem pesar até 19% menos que abelhas em favos novos e o diâmetro da célula de cria pode ser reduzido até 10% (Buchner, 1955). Tuenin (1927) estudou o diâmetro da célula em favos com idades diferentes e mostrou que em favos com 2, 6, 28, e 38 gerações de abelhas, o diâmetro da célula diminuiu de 5.26 mm para 4.99 mm. Em nosso estudo, verificamos que realmente há muita diferença entre o tamanho da célula do FVE (menor diâmetro e volume) e os tamanhos das células dos favos novos construídos naturalmente com diâmetros e volumes maiores, embora observa-se que o FVE possui alvéolos mais profundos. Contrariamente ao encontrado neste trabalho, na Alemanha foi demonstrado que entre favos novos e velhos, embora neste último o fundo da célula estava engrossado pelas gerações emergentes, o volume da célula não teve uma mudança muito grande devido ao alongamento das paredes laterais (Winston, 1987).

Message & Gonçalves (1995) encontraram volumes semelhantes aos deste trabalho de 195 μl (0.195 cm^3) para células de cria de abelhas Africanizadas, cujo diâmetro foi de 4.6 ± 0.14 mm e a infestação com varroa de 7.3% e para células européias maiores o volume foi de 260 μl (0.260 cm^3) com diâmetro de 5.1 mm e a infestação maior de 15.7%. Segundo Bianchini (1994), as médias dos volumes dos alvéolos presentes e construídos para as colméias parentais foram de $200.0 \pm 0.03 \text{ mm}^3$ e $199.0 \pm 0.03 \text{ mm}^3$ e, para as colméias descendentes foram de $190.0 \pm 0.02 \text{ mm}^3$ e

200.0±0.03 mm³ respectivamente. Verificou-se nesse estudo que a variação foi pequena entre e dentro das colônias estudadas, concordando com os volumes calculados neste trabalho entre as células infestadas e não infestadas para os favos novos construídos pelas operárias (Tab. 8).

Em nosso estudo ao se comparar as dimensões das células do FVE com as dos favos novos notou-se que, embora o FVE apresente DC menor, a PC é superior fazendo com que seu volume final seja ainda menor em relação aos favos novos e, em geral, observou-se que o volume depende mais do diâmetro que da profundidade da célula. Von Posern (1988) cita que o diâmetro das células de cera natural não muda do topo para a base e que as células de volumes maiores possuem mais alimento para a larva, levando-a a desenvolver mais rápido de modo que é possível que a maior quantidade de alimento faça com que o número de ácaros aumente, ou seja, que células com volume maior possuam uma maior infestação. Neste trabalho observou-se, pelo contrário, que os favos velhos, com volumes das células menores em relação aos volumes maiores dos favos novos, foram os que possuíam os maiores índices de infestação do ácaro, e isto foi confirmado estatisticamente.

Segundo os resultados obtidos neste trabalho, em cada tipo de favo, existe uma relação negativa entre o DC e a PC em células invadidas pela varroa. Calis & Boot (1993) registraram que ácaros invadiram células de operárias mais curtas com profundidade de aproximadamente 7 mm começando quase 34 horas antes do fechamento do alvéolo e em células de operárias com profundidade normal de aproximadamente 11 mm, os ácaros invadiram quase 22 horas antes do fechamento da célula. Períodos atraentes para invasão de células de cria pela varroa estão relacionados à distância crítica entre a larva e abertura da célula, sendo de 6.9 a 7.9 mm para células de operárias e entre 7.2 e 7.8 mm para células de zangões (Boot et. al., 1995). Goetz & Koeniger (1993) encontraram que uma distância de 7.0 – 7.5 mm é propícia para a invasão da varroa em células de crias de operárias. Finalmente, em células de cria com um diâmetro menor que outros (Calis et. al., 1993; Ramon et. al., 1993), a distância entre a larva e abertura da célula foi também provavelmente menor, porque uma vez que a larva tem ocupado inteiramente o fundo da célula, seu corpo só pode se expandir na direção da abertura da célula. Nesse caso, então, a distância crítica seria alcançada também mais cedo durante o desenvolvimento da larva nessas células. Existe, então, a idéia que a menor distância entre a larva e a abertura da célula nas células menores do

FVE estimula uma maior invasão do ácaro nessas células de cria e afeta o número de ácaros invadidos.

5.2 Estudo morfométrico das abelhas operárias recém emergidas em diferentes tamanhos de células de operárias.

Os resultados apresentados neste trabalho quando se utilizaram favos velhos (FVE) com células de crias relativamente muito reduzidas mostraram de maneira geral que é possível obter uma abelha maior através do uso de favos de crias novos construídos a partir de lâminas de cera artificial tipo italiano e de favos naturalmente construídos por abelhas cárnicas contendo as bases das células aumentadas. Portanto, confirmamos os trabalhos de Baudoux (1927), Lovchinovskaya (1930), Grout (1937b), Jagannadham & Goyal (1983), Spivak & Erickson (1992) e Quezada-Euán & Paxton (1999), nos quais abelhas criadas em células aumentadas são maiores que abelhas criadas em células menores.

Porém, os tamanhos das células de cria entre os favos novos usados neste experimento: favo africanizado novo (FAFn), favo italiano novo (FITn) e favo cárnico (FCAn) não foram suficientes para produzir uma abelha operária muito maior e aparentemente não afetou a variabilidade da abelha operária adulta. Estes resultados obtidos com os favos novos foram diferentes dos resultados apresentados por Baudoux (1934), Glushkov (1956) e Antonescu (1965) que encontraram abelhas significativamente maiores quando o tamanho da célula do favo de cria novo foi aumentado de 850 células/dm² ou 5.35 mm de diâmetro/célula a 700 células/dm² ou 5.75 mm/célula. Spivack & Erickson (1992) observaram também que a substituição de lâminas de cera alveolada comercial com células novas de maior tamanho (5.37 mm de diâmetro) por lâminas com células novas de menor tamanho, resultou em uma redução significativa da largura do tórax e da área da asa anterior em abelhas européias. Essas diferenças podem estar relacionadas aos diferentes tipos de favos novos usados para estudo. Em nossos experimentos utilizamos apenas lâminas de cera tipo italiano (diâmetro médio da célula de 5.13 mm) e favos cárnicos com uma média maior de 5.26 mm devido ao fato da raridade de encontrarmos em nosso apiário, em Ribeirão Preto, lâminas de cera alveolada com células de crias de operárias muitos maiores entre 5.5 e

5.8 mm de modo que houve a necessidade de que os experimentos fossem conduzidos com o material já existente em nosso centro de pesquisa em Ribeirão Preto.

Embora os dados apresentados neste estudo mostram que um aumento no tamanho das células, nas quais as abelhas são criadas, é acompanhado por um aumento no peso da abelha operária emergente, comprimento da asa anterior direita e largura de asa anterior, não temos certeza em relação às opiniões que sempre têm existido na qual a abelha de maior tamanho é uma abelha melhor. Considerando que o teste crucial para comprovar a eficiência da abelha é a produção de mel, mais dados experimentais são necessários para apoiar essas suposições.

Vários autores expressaram que uma abelha maior criada em células aumentadas (Baudoux, 1927, 1933; Antonescu, 1965) ou uma abelha mais pesada (Milne, 1980; Milne & Friars, 1984) poderia voar mais e teria também uma maior capacidade de levar e adquirir o néctar das flores para uma maior produção de mel. Embora não fossem observados tais parâmetros neste experimento, uma investigação mais extensa deveria ser feita sobre estas características. Visto que neste trabalho todos os quatros tamanhos de células foram colocados na mesma colônia e com progênie da mesma rainha, nenhuma indicação do aumento na habilidade da abelha para obter néctar, foi avaliada. Certamente, abelhas operárias de maior tamanho vêm de células maiores, porém, não existe nenhuma evidência de que uma colônia formada inteiramente de abelhas maiores produz maior quantidade de mel que uma colônia de abelhas menores (Erickson et. al., 1990).

É sabido que o aumento do tamanho da célula do favo, onde as abelhas operárias são criadas, é acompanhado por um aumento correspondente ao peso (Nogueira & Gonçalves, 1982; Message & Gonçalves, 1995), ao comprimento e largura da asa anterior direita (Daly & Morse, 1991; Rinderer et al., 1986b) e comprimento da probóscide (Michailov, 1927; Grout, 1937b). Outros exemplos são citados na literatura: Alpatov (1929) encontrou variações nas medidas da língua, asas, patas e tergitos de operárias criadas em favos contendo células de crias de diferentes tamanhos. Segundo Kulzhinshaya (1955), abelhas operárias emergentes criadas em células maiores (6 mm de diâmetro) tiveram maior reservatório de mel (+14.2%) e maior comprimento da língua, asa, tergito e esternitos (+23.0%) que abelhas criadas em células menores de 5.37 mm de diâmetro. Spivak & Erickson (1992) encontraram que a largura do tórax foi maior em abelhas desenvolvidas em células de maior tamanho tipo italiano de 5.37 mm de diâmetro

que em células naturais de menor tamanho de 5.08 mm (= 3.02 vs. 2.89 mm respectivamente) e a média da área da asa anterior foi também aumentada em abelhas que se desenvolveram em células de maior tamanho em relação às desenvolvidas em células menores.

Grout (1937b) estudou o comprimento da probóscide em três diferentes colônias observando na primeira colônia que o comprimento da probóscide foi aumentado em 2.1% pelo uso de células aumentadas, na segunda foi aumentado o comprimento da probóscide em 1.5% e no caso da terceira colônia o aumento foi de 1.4%, sendo o aumento médio máximo no comprimento da probóscide para as operárias das três colônias de 0.11 mm. Já Nogueira & Gonçalves (1982), comparando operárias desenvolvidas em células de zangões com aquelas desenvolvidas em células de operárias, verificaram que as primeiras apresentaram glândulas ácidas maiores e maior número de ovariolos em seus ovários. Em duas distintas raças de abelhas africanas, Crewe et. al. (1994) observaram que a *Apis mellifera scutellata* geralmente é maior que a *A. m. capensis* apresentando maior comprimento da probóscide (5.73 mm vs 5.47 mm) e maior largura da asa anterior (2.96 mm vs. 2.88 mm) respectivamente. Neste trabalho verificamos que o intervalo no tamanho da asa da abelha entre os tipos de favos foi considerável: o comprimento médio da asa anterior das operárias do FVE foi de 9.10 mm e de 9.32 mm para as operárias criadas nos favos novos FITn e FCAn. Neste sentido, as operárias aqui obtidas excederam o tamanho médio da asa em 8.67 mm e 9.15 mm como reportado por Rinderer et. al. (1993) para abelhas Africanizadas e européias silvestres, respectivamente. Segundo Daly et. al. (1995), o comprimento da asa anterior da abelha européia sob tratamento 1:1 (400 abelhas para cuidar 400 ovos) foi de 8.62 mm contra 9.24 mm para o tratamento 100:1 (40.000 abelhas para 400 ovos). Ao comparar os dados obtidos por Daly et. al. (1995) observa-se que o tamanho da asa foi ainda menor ao registrado neste experimento para os favos novos FAFn, FITn e FCAn.

Certamente, as abelhas silvestres da América do Sul constitui atualmente uma população a qual é morfológicamente muito diferente da população parental de *A. m. scutellata* da África do Sul (Buco et. al., 1987). Comparações de características individuais indicam que as abelhas Africanizadas são geralmente maiores em relação às raças africanas (Buco et. al., 1987). Porém, neste trabalho verificamos que as abelhas Africanizadas criadas nas células maiores do FITn e FCAn foram praticamente maiores do que as abelhas Africanizadas obtidas por outros autores (Tab. 21). Toda abelha

Africanizada (aquelas estudadas por Daly et. al., 1982 e Buco et. al., 1987) tem morfologia intermediária entre as raças africanas e européias. Não obstante, verifica-se que as duas medidas morfológicas das operárias criadas nos favos FITn e FCAn foram mais similares às abelhas européias do que às abelhas Africanizadas (Tab. 21).

Tabela 21 Médias do comprimento e largura da asa anterior direita em abelhas Africanizadas e abelhas européias obtidas por vários autores.

Fonte	Abelhas Africanizadas		Abelhas Européias	
	Comprimento (mm)	Largura (mm)	Comprimento (mm)	Largura (mm)
Boudoux (1934)	---	---	9.73	3.08
Grout (1937b)	---	---	9.90	3.36
Buco et. al. (1987)	8.69	2.93	---	---
Daly & Balling (1978)	8.65	2.94	9.12	3.08
Rinderer et. Al. (1987)	8.72	2.92	9.28	---
Rinderer et. Al. (1993)	8.73	3.01	9.15	3.13
Daly & Morse (1991)	8.29	2.84	9.63	3.18
Neste Estudo	9.32* 9.32 ⁺	3.49* 3.46 ⁺	---	---

*Abelhas do favo italiano (FITn); ⁺Abelhas do favo cárnico (FACn).

Os dados apresentados neste estudo não concordam com os resultados obtidos por outros autores (Baudoux, 1927, 1934; Lovchinovskaya, 1930; Antonescu, 1965; Vlasov, 1965). Baudoux (1934), por exemplo, registrou um aumento de 12% a 25% no comprimento da asa anterior direita à medida que o tamanho da célula de cria foi ampliado de 850 células/dm² a 700 células/dm². Spivak & Erickson (1992) observaram aumento de 10% na área da asa anterior quando o diâmetro da célula do favo foi aumentado de 5.08 mm a 5.37 mm. Porém, neste trabalho registramos aumentos de só 2.4% no comprimento da asa, quando as operárias foram criadas nos favos novos FITn e FCAn (diâmetro de 5.13 mm e 5.27 mm respectivamente) em relação às operárias criadas no FVE (diâmetro de 4.56 mm). Abelhas operárias criadas em células de zangões, quando comparadas com as operárias criadas em células menores de operárias, tiveram um aumento de apenas 2.9% nas glândulas ácidas (Nogueira & Gonçalves, 1982) e de 4.8% no comprimento da asa anterior (Michailov, 1927) comparando-se favoravelmente com os resultados deste trabalho. Grout (1937b) encontrou um acréscimo de apenas

1.5% no comprimento da asa anterior quando o tamanho da célula foi ampliado de 857 células/dm² a 706 células/dm². Os resultados igualmente se comparam com o aumento de 1.1% no comprimento da probóscide obtido de abelhas operárias criadas em favos novos quando comparado com abelhas criadas em favos velhos (Michailov, 1927).

A tendência geral das constantes estatísticas das medidas obtidas neste trabalho nos quatro tipos de favos revelaram os seguintes fatos: (1) A medida do peso das operárias emergentes teve uma variação muito grande entre os favos estudados e, em geral, correlaciona-se com as medidas das asas para os favos com maior tamanho da célula; (2) O comprimento da asa das abelhas do FAFn e FCAn é correlacionado significativamente com apenas duas variáveis: diâmetro (DC) e volume da célula (VC) das três dimensões medidas nas células de crias; (3) A largura da asa anterior, enquanto correlaciona significativamente com o comprimento da asa, não mostra nenhuma tendência em correlacionar significativamente com profundidade da célula (PC) nos quatro tipos de favos e com DC e VC nos FVE, FAFn e FITn, não obstante, correlaciona moderadamente com o peso apenas nos favos FAFn e FITn; (4) A variação do peso da operária emergente (PA) foi maior no caso das operárias nascidas dos favos FAFn e FITn e menor no caso das operárias do FVE e FCAn. As variações no comprimento da asa foram maiores no caso das abelhas do FITn e FAFn e menores no caso das abelhas nascidas dos favos FVE e FCAn. As variações na largura da asa foram maiores no caso das abelhas do FITn e FCAn e menores no caso das operárias dos favos FVE e FAFn. Dado que o comprimento da asa anterior mostrou correlação significativa com as dimensões DC e VC nos favos FAFn e FCAn, é interessante notar que a variação das medidas, entre os favos novos construídos naturalmente, teve a mesma tendência. Encontramos certas peculiaridades nas correlações, particularmente no caso da largura da asa com DC e VC nos favos novos. Por exemplo, embora o comprimento da asa esteja correlacionado significativamente com as variáveis DC, VC e PA nos favos FAFn e FCAn, a largura da asa não apresentou correlação significativa com essas variáveis nos favos FAFn e FITn e em alguns casos com PA no FCAn. De especial interesse na análise de correlação foi o fato que apenas no caso das operárias criadas no FVE, o comprimento e a largura da asa não apresentaram-se correlacionadas significativamente com DC, PC, VC e PA, já o comprimento com as variáveis DC, VC, e PA nos favos naturais novos, as correlações foram significantes.

Grout (1937b) mostrou que há altas correlações entre o comprimento da asa e o comprimento da proboscide e entre o comprimento e a largura da asa em operárias criadas em lâminas de cera com diferentes tamanhos de células de cria (857, 763 e 706 células/dm²). Nogueira & Gonçalves (1982) encontraram uma correlação estatisticamente significativa ($r= 0.434$) entre o peso da operária e o tamanho da glândula ácida apenas para as operárias criadas em células de zangões. Estudos anteriores também mostraram correlações altamente significantes entre a morfologia das operárias e o nível de defensividade de sua colônia (Stort, 1974; Spivak et al., 1988; Quezada-Euán & Paxton, 1999). Adicionalmente, colônias de abelhas Africanizadas com alta variação morfológica tiveram um tamanho da célula menor (Spivak et al., 1988; Quezada-Euán & Paxton, 1999). Recentemente, foi encontrado que o tamanho da célula e a variabilidade morfológica da abelha operária mudaram consideravelmente através das gerações de abelhas, sendo que na geração F₁ as dimensões das células construídas por operárias entre dois grupos de abelhas Africanizadas experimentais foram semelhantes e estatisticamente não diferiu entre ambos grupos de abelhas, não obstante, através da geração F₃ os valores para tamanho da célula e morfometria da abelha foram intermediários entre ambos grupos diferindo significativamente e, correlações altamente significantes foram encontradas entre as variáveis morfológicas das operárias e o diâmetro da célula através das gerações subsequentes (Quezada-Euán & Paxton, 1999). Pignata (1990) mostrou que há correlação entre o comprimento da glossa das Africanizadas e a quantidade de alimento coletado e sugeriu seleção para comprimento da glossa no sentido de se obter colônias mais produtivas.

Neste trabalho percebeu-se que enquanto as abelhas operárias esticaram normalmente as paredes laterais das células dos favos novos e imediatamente utilizaram as células para propósito de desenvolvimento das larvas ou armazenamento de alimento, foram observadas dificuldades em relação à postura da rainha nas células de cria novas dos favos FITn e FCAn de maior tamanho. As observações constataram que, enquanto as abelhas operárias, aparentemente, não tiveram nenhum problema em diferenciar os quatro tamanhos de células, a rainha mostrou maior tendência em preferir as células menores para oviposição, principalmente as células de cria do FVE.

Nossa observação concorda com as experiências conduzidas por Lovchinovskaya (1930) e Grout (1931, 1937a) que demonstraram que, quando favos contendo células normais e favos com células aumentadas foram colocados em uma mesma colônia, as

abelhas operárias aparentemente não diferenciaram os distintos tamanhos de células, mas a abelha rainha reconheceu esta diferença e não botou ovos nas células aumentadas. Não obstante, tais observações foram diferentes à obtida por Harbo (1991) que conduziu suas pesquisas utilizando três tipos de lâminas de cera com diferentes tamanhos de células: 711 células/dm² ou 5.7 mm de diâmetro; 857 células/dm² ou 5.2 mm de diâmetro e 1004 células/dm² ou 4.8 mm de diâmetro para determinar seu efeito sobre a quantidade de crias de operárias, concluindo que as colônias de lâminas alveoladas com células maiores (711 células/dm²) ocuparam áreas maiores de crias do que colônias com lâminas de cera alveolada de células menores (857 células/dm²), no entanto, os dois grupos nunca diferenciaram-se quanto ao número de células de cria. Recentemente, Hassan & Aly (1998) conduziram três testes para avaliar o efeito da idade dos favos sobre as atividades das abelhas através do uso de colméias com favos de diferentes idades (0 a 5 anos) e os resultados indicaram que as colônias com favos novos, construídos naturalmente, fizeram com que as rainhas botassem mais ovos e desenvolvessem áreas maiores de crias operculadas em comparação com as colméias com favos velhos. Da mesma maneira, Berry & Delaplane (2001) encontraram que áreas de crias operculadas foram significativamente maiores em colônias com exclusivamente favos novos (1115.3 cm²) do que em colônias com favos velhos (907.0 cm²), sendo o contrario ao observado em nosso experimento em colônias de abelhas Africanizadas. Portanto, experimentos adicionais sobre as atividades das crias deveriam ser feitos nas mesmas colônias fornecidas com favos contendo células aumentadas e favos velhos ao longo de um período de duas ou mais estações.

5.3 Análise do peso das abelhas operárias Africanizadas emergidas de favos com diferentes tamanhos de células de crias.

Os resultados deste trabalho indicaram que à medida que se aumenta o tamanho da célula do favo de cria, há um acréscimo no peso da operária emergente. Isto ocorreu nas operárias desenvolvidas nos três tipos de favos novos: favo africanizado novo (FAFn), favo italiano novo (FITn), e favo cárnico (FCAn) e as diferenças foram estatisticamente significantes quando comparadas com o menor peso das operárias do favo velho (FVE) com diâmetro e volume da célula menor (Tab. 13).

O aumento de peso da abelha operária adulta tem uma estreita relação com o uso de lâminas de cera alveolada tipo italiano e de favos construídos naturalmente por abelhas cárnicas com tamanho das células aumentadas, o que também foi observado por outros autores (Alpatov, 1929; Baudoux, 1934; Grout, 1937b; Gotze, 1930; Glushkov, 1956). Os resultados aqui obtidos também coincidem com o trabalho de Harbo (1991), o qual utilizando 3 lâminas de cera alveolada com diferentes tamanhos de células de crias: 711 células/dm² ou 5.7mm (tamanho comercial Thorne); 857 células/dm² ou 5.2 mm e 1004 células/dm² ou 4.8mm (tamanho similar das abelhas Africanizadas) encontrou que células maiores produziram abelhas maiores, sendo a diferença entre operárias nascidas das células maiores e tamanho mediano de 6 mg (113 e 107 mg) no primeiro experimento e a diferença entre abelhas operárias das células maiores e menores no segundo experimento de 11 mg (117 e 106mg).

Nowakowski (1969) reportou que o peso da operária emergente é diretamente proporcional ao volume da célula onde as crias se desenvolvem. Segundo Boudoux (1934), favos contendo 1050 células/dm² possuem um volume médio da célula de 192 mm³ e peso da abelha emergente de 108 mg em comparação com favos novos de 800 células/dm² que apresentam maior volume da célula (277.0 mm³) e consequentemente peso da abelha adulta maior (129.0 mg). Neste trabalho, comparando o menor volume da célula do FVE (média de 220.12 mm³) em relação ao favo cárnico novo com volume da célula maior (279.6 mm³), verifica-se que as abelhas emergidas do FVE com células reduzidas atingiram menor peso.

Nogueira & Gonçalves (1982) verificaram que operárias desenvolvidas em células de zangões foram mais pesadas (106.6 mg) que operárias das mesmas colônias criadas em células de operárias (95.7 mg). Baseado na informação de que as células de operárias Africanizadas são menores do que das abelhas européias, Message & Gonçalves (1995), usando pequenos pedaços de favos (+/-300 células) tipo africanizado e italiano na mesma colônia, encontraram que o peso médio das pupas de operárias Africanizadas de 18-19 dias de idade foi de 99.2 mg com diâmetro da célula de 4.50 a 4.60 mm em relação ao peso das pupas de operárias criadas em células maiores (valor de 108.2 mg) com diâmetro de 4.90 a 5.10 mm. Já para Barbosa & Scott (1967), o peso das abelhas recém-nascidas é muito variado (85-100 mg) devido, provavelmente, à diferença no volume de alimento oferecido à larva. Nogueira (1979) encontrou em Ribeirão Preto (Estado de São Paulo) uma média de peso para operárias africanizadas emergidas em

células de operárias de 95.62 ± 0.009 mg ficando muito similar ao peso encontrado neste trabalho para as abelhas criadas nos FITn e FCAn; já Sommer (1982), no mesmo apiário, obteve uma média de peso ao nascer de 90.6 mg, reduzindo um pouco a diferença. Segundo Otis (1982), as operárias de colméias européias têm peso maior (129.5 mg) do que as de colméias africanizadas (93.1 mg). Igualmente, abelhas caucasianas criadas em favos com abertura externa da célula de 5.08 mm foram mais pesadas (93.6 mg) que as abelhas Africanizadas (81.3 mg) criadas em favos com menor abertura da célula do favo (4.82 mm) construída pelas mesmas abelhas Africanizadas (Cosenza & Batista, 1974).

Neste trabalho observou-se que a significativa ($P < 0.001$) superioridade do peso das abelhas criadas nas células novas maiores (FAFn, FITn e FCAn) em relação às abelhas criadas nas células menores do FVE pode ser promovido pela diferença na alimentação das crias. Crias de operárias desenvolvidas em células maiores deveriam receber mais visitas de abelhas nutrizas, aumentando assim o peso das abelhas adultas emergentes (Message & Gonçalves, 1995). Segundo Kulzhinshaya (1955), larvas criadas em células com abertura maior (6.0 mm) receberam 21.1% mais alimento e 21.4% mais proteína que larvas criadas em células normais (5.37 mm), e os adultos emergidos das células maiores tiveram pesos 10.4% mais altos em relação às larvas criadas nas células normais. Levin & Haydack (1951) e Bilash (1977) sugeriram que a população da colônia é um fator importante que influencia a quantidade de alimento dado à larva e consequentemente o peso das abelhas adultas. Um trabalho realizado por Eishchen et. al. (1982) sugeriu que em um pequeno número de operárias nutrizas (200 abelhas) para cuidar uma grande quantidade de crias (400 ovos) a nutrição foi inadequada e abelhas adultas mais leves e de vida curta foram criadas nessas células, encontrando uma correlação positiva significativa ($r = 0.755$) entre o número de operárias nutrizas e o peso da progênie das abelhas operárias por elas criadas. Da mesma maneira, Daly et. al. (1995) encontraram que operárias criadas em uma proporção 0.5:1 (200 nutrizas para cuidar de 400 ovos) foram consequentemente menores que operárias criadas a 100:1 (40.000 nutrizas para 400 ovos).

O maior peso das abelhas emergentes em favos novos também pode ser explicado pela diferença no diâmetro e volume médio da célula entre os dois tipos de favos usados neste estudo de diferentes idades. Com a idade do favo de cria, o diâmetro da célula diminui devido aos casulos acumulados e ao material fecal que são depositados pelas larvas e pupas que se desenvolvem dentro da célula (Winston, 1987). Michailov (1927)

mostrou que o tamanho da célula quando reduzido pelas gerações emergentes (redução de 5.9% no diâmetro devido a 16 e 18 gerações) foi acompanhado por uma redução significativa no tamanho das abelhas emergentes, porém, constatou que ao reduzir o diâmetro da célula em apenas 3% não houve uma redução significativa no tamanho do corpo das abelhas e que a profundidade da célula não mostrou nenhuma influência sobre o tamanho da abelha, concluindo que para obter uma abelha maior, através do uso de lâminas de cera artificial, se deveria prestar particular atenção ao diâmetro da célula e não à profundidade da célula. Tuenin (1927), ao pesar abelhas emergentes de favos dos quais 2, 6, 28, e 38 gerações tinham previamente emergido no experimento, verificou que o peso diminuiu com o número de gerações de 126.1 mg para 106.9 mg, concluindo então que como o número de gerações de abelhas que emergiram das células se tornou mais numeroso, as abelhas resultantes ficaram menores como indicado pelo peso das abelhas emergidas. Buchner (1955) determinou que o peso médio das abelhas recém-emergidas no favo velho, na qual 68 gerações tinham emergido, foi aproximadamente 19% menor (96.1 mg) que os favos controles (118.3 mg). Em nosso estudo, abelhas criadas em favos novos (FITn e FCAn) pesaram cerca de 8.9% mais que aquelas criadas em favos velhos, a qual é semelhante ao encontrado por Abdellatif (1965), onde abelhas operárias criadas em favos velhos, na qual 70 gerações de abelhas foram criadas, tiveram uma redução de 8% de peso corpóreo. Nossos resultados também comparam-se favoravelmente ao obtido por Berry & Delaplane (2001) a qual operárias criadas em favos novos tiveram um aumento de peso de 8.3% mais em relação às criadas em favos velhos.

5.4 Análise do peso das abelhas operárias Africanizadas infestadas pelo ácaro *Varroa jacobsoni*.

Neste trabalho encontramos que à medida que se diminui o tamanho da célula do favo ocorre uma diminuição de peso da operária parasitada pelo ácaro. Igualmente, verificamos que para cada tipo de favo existem diferenças estatísticas significantes ($p < 0.001$) entre o peso das operárias africanizadas infestadas e as não infestadas (sem ácaros).

A perda de peso tem uma restrita relação com a intensidade de infestação (Grobov, 1977; De Jong et. al., 1982a; Guerra Jr., 2000). Uma consequência disso é que

ocorre uma diminuição do tempo de vida da operária, acarretando prejuízos à colônia dependendo da intensidade de infestação (De Jong & De Jong, 1983).

Os ácaros são encontrados nas abelhas em lugares onde a quitina é mais frágil, como as membranas intersegmentares e a articulação das asas, sendo que eles podem passar facilmente de uma abelha adulta para outra (Crane, 1978). Uma baixa infestação nas crias de operárias, um a dois ácaros, aparentemente não interfere no desenvolvimento da colônia (Morse & Gonçalves, 1979; Moretto, 1988). Daly et. al. (1988) encontraram que abelhas infestadas com um ou dois ácaros não apresentaram nenhuma mudança no exoesqueleto, enquanto que abelhas infestadas com mais de quatro ou cinco ácaros aparecem com o exoesqueleto modificado. Marcangeli et. al. (1992b) verificaram malformações em asas de abelhas Africanizadas e européias, quando as crias foram infestadas com cerca de seis ácaros. Existem registros de casos onde a infestação com varroa ocasiona além de malformações em diversos órgãos, como asas, patas, abdômen e tórax (Shabanov et. al., 1978; De Jong & Gonçalves, 1981; De Jong et. al., 1982a), redução do tamanho, peso, atividade de coleta, resistência a outras doenças (Gonçalves, 1987); e diminuição da longevidade da abelha relacionada com a intensidade da infestação, ou seja, número de ácaros/célula (Sadov, 1976); observando-se também o aumento da mortalidade de pupas (Akratanakul & Burgett, 1975). Anshakova et. al. (1978) encontraram que abelhas operárias emergentes infestadas com varroa pesaram 71.1 ± 3.3 mg comparado com 89.0 ± 3.9 mg para abelhas saudáveis criadas em células sem varroa, e que 3% das abelhas operárias com ácaros tiveram as asas deformadas.

Segundo Sadov (1976), o peso do corpo de uma larva parasitada é diminuído e a proporção de proteína é reduzida de 15% a 20%. Issa & De Jong (1981) citaram que a larva de operária tem que ter um peso mínimo variando de 57.5 mg a 119.0 mg para ser parasitada. Em um trabalho realizado por Bianchini (1994), as abelhas operárias recém nascidas das colméias parentais P1 (mais infestadas) e P2 (menos infestadas com varroa) atingiram o peso mínimo de infestação, ou seja, tiveram peso de 79.0 mg e 82.8 mg, respectivamente. Neste experimento, observou-se também que as operárias infestadas de todos os favos em estudo atingiram o peso mínimo entre 78.9 mg para o favo velho (sendo o mais infestado) e 86.5 mg para o favo italiano novo, podendo ser parasitadas pela varroa.

Segundo De Jong et. al. (1982b), as abelhas recém-emergidas que se desenvolveram em células com ácaros (de 0 a 8 ácaros/célula) tiveram uma redução de

peso de 6.3% a 25% respectivamente, quando comparadas com as abelhas não infestadas. De Jong & De Jong (1983) encontraram que o número de ácaros por abelha (varroa na cria) tem uma correlação negativa com a longevidade e peso das operárias emergidas. Neste trabalho, verificou-se que as operárias emergidas do favo velho com maior nível de infestação quando comparadas com as de menor nível de infestação (favo africanizado novo) possuíam um menor peso ao nascer (Tab. 15). Nossos dados diferem dos obtidos por Bianchini & Nogueira-Couto (1997), que em relação aos níveis de infestação por varroa, encontraram diferenças significativas afetando a viabilidade da cria de africanizada, mas não em relação ao peso ou longevidade das operárias.

Beetsma et. al. (1989) verificaram que as operárias provenientes de colméias infestadas, em relação às controle, possuíam um menor peso ao nascer. Guerra Jr. (2000), que infestou artificialmente crias de operárias (desde a fase L5 recém operculada até pupa de olho escuro e tórax pigmentado) com 1, 3 e 5 ácaros/célula (além do controle sem ácaros) encontrou que a medida que aumenta o parasitismo, ocorre uma diminuição de peso (estatisticamente significante) e uma tendência a um aumento na concentração protéica total (embora não significante).

Segundo Couto (1987), o peso médio das operárias recém emergidas em colméias altamente infestadas que não receberam ração foi de 92.7 ± 13.3 mg. Ao compararmos os dados obtidos por Couto (1987) e os deste trabalho, observa-se que os pesos das operárias infestadas foram menores nos quatro tipos de favos e para todas as colméias em estudo.

5.5 Verificação dos índices de infestação do ácaro *Varroa jacobsoni* nos quatro tipos de favos com diferentes tamanhos de células de cria de operária.

Nossos resultados demonstram claramente que as células do favo velho (FVE) são mais atrativas à fêmea de varroa que as células novas construídas naturalmente pelas abelhas: favo africanizado novo (FAFn), favo italiano novo (FITn) e favo cárnico novo (FCAn). Isto sugere que os ácaros respondem ao tipo ou idade da célula do favo de operária e é possível que os ácaros utilizem esses fatores para discriminar os diferentes tamanhos de células de crias. Porém, os ácaros podem estar respondendo a outros

fatores além do tipo ou idade da célula do favo ao selecionar entre células de crias velhas e novas.

Neste estudo, ao se comparar o diâmetro das células infestadas e o diâmetro das não infestadas, para cada tipo de favo, onde as células infestadas tiveram diâmetros maiores e profundidades menores, verificamos claramente a mesma tendência de maior preferência do ácaro por invadir células maiores como demonstrado por Message & Gonçalves (1995), quando um pedaço de favo tipo europeu foi implantado dentro de um favo tipo africanizado, cujo diâmetro da célula de maior tamanho tipo europeu (5.0 a 5.1 mm) atraiu mais varroa ainda quando as larvas nos dois tipos de células vieram da mesma rainha. Fuchs (1990) estudou a invasão de células de crias de operárias e de zangões encontrando uma maior ocorrência de varroa em células maiores de zangões. Larvas de zangões desenvolvidas em células de zangões tiveram mais ácaros que aquelas desenvolvidas em células de operárias e para larvas de zangões desenvolvidas em células de operárias a taxa de infestação foi significativamente maior que para larvas de operárias desenvolvidas em células de zangões (Issa et. al., 1993). Fêmeas adultas de varroa invadem as células de operárias e de zangões justamente antes da operculação da célula; entre 15-20 h antes da operculação para células de operárias e 40-50 h para células maiores de zangões, tais períodos de atração estão relacionados com a distância crítica entre a larva e a abertura da célula de 6.9 a 7.9 mm para células de operárias e de 7.2 a 7.8 mm para células de zangões (Boot et. al., 1995). Em favos plásticos, ácaros invadiram células de operárias 6 h antes da operculação, enquanto que em favos de operárias construídas naturalmente o período de invasão foi de 14 h, assumindo que a construção e a forma da célula artificial de operária causa mais curta fase de apreensão do ácaro antes da operculação podendo ser a causa da reduzida infestação em células de crias de plásticos (Wieting & Ferenz, 1991). Calis et. al. (1993), Goetz & Koeniger (1993) e Beetsma et. al. (1999), igualmente, encontraram mais ácaros em células de crias de operárias de menor altura.

Não obstante, ao compararmos neste estudo os índices de infestação em células de cria entre os diferentes tipos de favos, onde a maior infestação pela varroa foi encontrada nas células menores do FVE (com menor diâmetro) em relação às células dos favos novos (FAFn, FITn, FCAn) com maiores diâmetros, os resultados inesperadamente indicaram o contrário em relação aos trabalhos citados anteriormente (Message & Gonçalves, 1995; Issa et. al., 1993; Calis et. al., 1993; Calis & Boot, 1993), sendo os

mesmos difíceis de explicar já que o FVE (com muitas gerações de abelhas) atraiu mais varroa, embora ter células reduzidas com menor diâmetro geral e menor volume. Nossos resultados diferem, igualmente, aos obtidos por Erickson et. al. (1998) onde as infestações de *Acarapis woodi* foram significativamente mais alta em colônias com favos novos que aquelas colônias com favos velhos (5.2% vs 1.2% respectivamente). Recentemente, Hassan (2000) também mostrou que ácaros fêmeas de varroa parasitando crias de operárias em favos novos tiveram um maior potencial para reprodução que aquelas produzidas em favos velhos. Em adição às observações verificadas neste trabalho, maior número de varroas foram encontradas em células menores quando a atratividade da cria pelo ácaro foi testada em células com diferentes diâmetros (Calis et. al., 1993; Ramon et. al., 1993).

A distribuição dos ácaros também tem sido encontrada em diferentes tipos de células contendo o mesmo tipo de larva (Beetsma et. al., 1999). De Jong & Morse (1988) encontraram mais ácaros em células de operárias de maior elevação acima da superfície do favo do que em células de crias normais. Da mesma forma, De Ruitjer & Calis (1988) encontraram mais varroas em células de crias de operárias com o fundo da célula levantada artificialmente com cera.

É bem sabido que o favo velho contém numerosos contaminantes que são coletados e absorvidos pela cera com o tempo e podem ser prejudiciais para a saúde da cria (Berry & Delaplane, 2001). Neste estudo verificamos que as células do favo velho atraíram mais fêmeas adultas do ácaro que os favos novos, concordando com Koenig et. al. (1986) que associaram o favo velho com o aumento da incidência de “Chalkbrood”. Também o favo velho é associado às doenças como a nosemose (Bailey & Ball, 1991) e a loque americana (Gilliam, 1985), as quais são disseminadas de uma colônia para outra por favos de cera contaminados. Igualmente, células do favo velho podem conter feromônios da cria (Free & Winder, 1983), de modo que o ácaro varroa pode ser sensível a esse elemento e influenciar sua preferência para invadir essas células específicas.

Nossos resultados, considerando apenas os favos novos estudados, indicam uma significativa ($P < 0.001$) superioridade de infestação nas células do FCAn em relação aos FITn e FAFn, podendo essa diferença ser devido a um maior número de visitas de abelhas nutrizas nas crias de operárias desenvolvidas nas células maiores do FCAn aumentando assim a probabilidade de transferência dos ácaros às células para infestar a

cria. Segundo Message & Gonçalves (1995), células de cria menores, construídas por abelhas Africanizadas, foram menos infestadas pela varroa em relação às células maiores construídas por *Apis mellifera ligustica*. Fuchs (1990) encontrou uma redução na intensidade de atração na larva de zangão quando foram cuidadas com menor intensidade próximo ao final da produção de zangão. Além do estímulo físico, larvas nessas células podem também contribuir com outros estímulos, tal como feromônios. Le Conte et. al. (1989) isolaram e identificaram alguns esteres promovendo uma forte resposta de atração na fêmea de varroa e essas substâncias foram isoladas em crias de zangões e também estão presentes nas crias de operárias, mas em quantidades menores.

5.6 Taxas reprodutivas do ácaro *Varroa jacobsoni* em diferentes células de crias de operárias.

No presente trabalho verificamos que houve significativamente ($p < 0.001$) mais fêmeas adultas originais em células menores infestadas do favo velho (FVE) do que nas células infestadas dos favos novos de maiores tamanhos: favo africanizado (FAFn), favo italiano (FITn) e favo cárnico (FCAn).

Não obstante, considerando apenas os favos novos FAFn, FITn e FCAn, verificamos que houve ligeiramente mais varroas adultas originais nas células maiores (FITn e FCAn) que em células infestadas menores do FAFn (Tab. 19). Neste caso, o resultado foi semelhante ao obtido por Message & Gonçalves (1995) em colônias de abelhas Africanizadas no Brasil, onde um maior número de fêmeas adultas foram encontradas em favos com células maiores construídas por abelhas européias que em células menores de abelhas Africanizadas.

Neste experimento observamos também uma alta proporção de fêmeas adultas do ácaro que entraram nas células de crias e não deixaram descendentes (Tab. 19). Esta proporção foi a mesma nos quatro tipos de células, sugerindo que a baixa taxa de fertilidade não se deve apenas ao tipo de favo de cria usado, mas sim a outros fatores. A alta taxa de infertilidade do ácaro tem sido observada em abelhas Africanizadas (De Jong, 2000; Corrêa-Marques, 2000; Ritter & De Jong, 1984; Camazine, 1986) e em abelhas européias na América do Sul (Ruttner et. al., 1984; Marcangeli et. al., 1992a).

O aumento no número de varroas adultas infestando a célula de cria diminui o número de filhas fêmeas efetivamente produzidas por varroa adulta (Fuchs &

Langenbach, 1989; Donzé et. al., 1996). Essa diminuição pode ser devido a três causas: produção de poucos ovos por cada varroa adulta original, não produção de ovos de algumas mães e reprodução normal de outras ou combinação de ambas (Martin, 1995). Neste trabalho verificamos um fato interessante para o caso do favo velho, onde as células infestadas apresentaram maiores infestações múltiplas e maior número de células com descendentes (77.9%) em relação aos favos novos. Infestações múltiplas são observadas em infestações elevadas, porém quanto maior o número de varroas infestando a célula, maiores são as conseqüências para a população da abelha (De Jong et. al., 1982b; De Jong & De Jong, 1983).

Quando analisamos a reprodução da varroa, verificamos maior produção média de descendentes totais nas células de cria de operária dos favos FVE e FCAn infestadas pela varroa adulta. Foi encontrada uma produção média de 2.30 e 2.53 descendentes/varroa adulta em células infestadas do FVE e do FCAn respectivamente, sendo superior ao encontrado para abelhas Africanizadas no Brasil por Message & Gonçalves (1995) que foi de 1.93 para células menores africanizadas e 2.24 para células maiores européias. No entanto, foram inferiores ao reportado por Medina & Martin (1999) que foi de 4.8 em células de operárias de abelhas Africanizadas no México e 4.9 em abelhas européias, e por Côrrea-Marques (2000) que encontrou uma média de 4.1 descendentes/fêmea adulta em colônias de abelhas Africanizadas no Brasil.

Neste trabalho verificamos que a taxa de reprodução total (TRT) do ácaro variou entre os tipos de favos estudados, não apresentando diferenças significativas entre si ($p= 0.074$). Os resultados foram semelhantes ao encontrado por Davidsson (1992), uma vez que o mesmo utilizou três lâminas de cera alveolada diferentes: 640, 770 e 900 células/dm² em colônias de abelhas européias, indicando que a taxa de reprodução do ácaro (considerando fêmeas adultas férteis e não férteis) não foi substancialmente influenciado pelo tamanho da célula sobre a cria da abelha operária.

Quando computamos todas as varroas adultas originais nas células infestadas, a taxa de reprodução total (TRT= número de descendentes produzidos/número total de varroas originais) para os FVE, FAFn, FITn e FCAn foi de 1.28, 0.98, 1.19 e 1.58 respectivamente. Isto demonstra que os valores são inferiores aos encontrados em abelhas Africanizadas por Moretto et. al. (1997) de 1.83 e por Corrêa-Marques (2000) de 3.08, mas superiores ao reportado por Bianchini (1994) de 0.74 em colméias parentais muito infestadas pela varroa.

A taxa de reprodução efetiva (TRE) não foi considerada neste trabalho já que foram usadas células com abelhas operárias emergentes de modo que nesta fase não é possível contar deutoninfas + fêmeas jovens do ácaro e fazer diferenciação entre filhas e mãe. Segundo Corrêa-Marques (2000), a deutoninfa não é viável e a fêmea jovem só será viável se o macho (irmão) estiver vivo e se houve a cópula com fecundação, portanto, não foi possível fazer este tipo de avaliação.

6 CONCLUSÕES

- O tamanho da célula de cria é um fator determinante no tamanho da abelha operária adulta e abelhas significativamente maiores foram obtidas através do uso de favos novos (tipo italiano e cárnico) contendo células de crias aumentadas em relação às abelhas do favo velho com células menores.
- O tamanho da célula de cria entre os favos novos aparentemente não afeta a variabilidade das medidas morfométricas das operárias. É evidente, porém, que o tamanho da célula só não é suficiente para produzir uma abelha muito maior. É razoável manifestar que a seleção e criação de abelhas junto à aplicação de fatores extrínsecos como o tamanho da célula podem concluir notáveis resultados nesta direção.
- O peso da abelha operária emergente, o diâmetro da célula e o volume da célula tendem dar a maior correlação com o comprimento da asa anterior direita.
- A utilização de favos novos permitiu a constatação de que à medida que aumenta o tamanho da célula do favo (diâmetro e volume), o peso das abelhas operárias emergentes aumenta.
- As abelhas compensaram a redução da abertura da célula ao produzir células mais profundas e vice versa para acomodar o desenvolvimento da abelha.
- Há uma relação positiva entre as dimensões das células, principalmente, o diâmetro e o volume da célula dos favos novos com o peso das abelhas operárias emergentes, mas no favo velho não houve relação entre o peso e as medidas de diâmetro e volume.
- Nas células de cria infestadas pela varroa, apenas o volume da célula do favo africanizado novo e do favo italiano novo correlaciona-se positivamente com o peso das abelhas infestadas.

- Abelhas operárias emergentes de favos velhos (com maiores infestações) apresentam menores pesos ao nascer, comparadas com os pesos das abelhas emergentes em favos novos (com menores infestações).
- O peso das abelhas infestadas foi reduzido em relação às não infestadas em 14.9% nos favos FVE e FAFn e em 13.0% e 16.6% nos favos FITn e FCAn respectivamente.
- Nas células de cria infestadas e não infestadas, o diâmetro da célula correlaciona-se negativamente com a profundidade. Observou-se, para cada tipo de favo, que células com diâmetros maiores e profundidades menores foram preferidas pelo ácaro e foram as variáveis que tiveram maior influência sobre a reprodução e infestação do ácaro *Varroa jacobsoni* nas diferentes células de cria.
- Células de cria do favo velho atraíram mais fêmeas adultas de varroa que os favos novos, de modo que ao utilizar favos velhos em colméias de abelhas Africanizadas o índice de infestação e a taxa de reprodução total do ácaro foi aumentada. O favo africanizado novo apresentou um índice de infestação menor, o que demonstra que a dinâmica populacional deste parasita depende do tipo de favo usado nas colônias.
- A taxa de reprodução total (TRT) foi maior nas células do favo velho e do favo cárnico novo em relação aos favos novos africanizado e italiano.

Embora o tamanho da célula de cria seja importante, características inerentes às larvas, ao favo ou ao alimento nas células de operárias do favo velho podem ter uma importante influência de atração à varroa. Nós esperamos que os resultados obtidos neste trabalho possam contribuir no futuro para o entendimento de possíveis mecanismos de resistência à varroa com o tamanho da célula do favo nas abelhas *Apis mellifera*.

7 BIBLIOGRAFIA

- ABDELLATIF, M.A. (1965). Comb cell size and its effect on the body weight of the worker bee, *Apis mellifera* L. *Am. Bee J.* 105: 86-87.
- AKRATANAKUL, P. (1975). Biology and systematics of bee mites of the family Varroidae (Acarina: Mesostigmata). M.S. Thesis-Corvallis, Oregon University / USA, p.64.
- AKRATANAKUL, P. & BURGETT, M. (1975). *Varroa jacobsoni*: a prospective pest of honeybees in many parts of the world. *Bee World*. 46(3): 119-21.
- ALPATOV, W.W. (1929). Biometrical studies on variation and races of the honeybee *Apis mellifera* L. *Quart. Rev. Biol.* 4(1): 1-58.
- ALVES, S.B., FLECHTMANN, C.H., ROSA, A.E. (1978). *Varroa jacobsoni* Oud., 1904. (Acari: Mesostigmata, Varroidae) also in Brazil. *Ecossistema* 3: 78-79.
- AMAPARÁM, D.C.; AVALOS, L.M.R.; DEHAIBES, S.R. (1992). Primer reporte en México del ácaro *Varroa jacobsoni*, causante de la varroasis de la abeja melífera (*Apis mellifera*). *Memorias VI Seminario Americano de Apicultura*. Oaxtepec, Morelos. Ed. Secretaria Agropecuaria e Recursos Hidraulicos, México 9-11.
- ANTONESCU, C. (1965). The efficiency of the use of enlarged cells honey-combs in the conditions of Romania. XX Jubilee Apimondia Congress. Aug., pages 575-677.
- ANSHAKOVA, O.V., BOBKOVA, V.V., GROBOV, O.F., KORJOVA, L.M., LANGHE, A.B., MIKITIUK, V.V., NATZKII K.V., STOLBOV N.M., TATSKII, V.M. (1978). Contributions to biological study of *Varroa jacobsoni* and its influence on honey bees. In: XXVI Int. Congr. Apic. 26, Adelaide, pp. 439-441.
- BAIRAK, O.V. (1976). The orientation of female mites (Varroa). In: Varroasis, a honeybee disease. Bucharest: Apimondia Publishing House, p. 39-40.

- BARBOSA DA SILVA, RM. & SCOTT, WN. (1967). Sobre a binômia da *Apis* Afro-Européia do Brasil. *Bol. Ind.Anim.*, Nova Odessa, 24: 199-208.
- BEETSMA, J., DE VRIES, R., YEGANEH, B.E., TABRIZI, M.E., BANDPAY, V. (1989). Effects of *Varroa jacobsoni* on colony development, worker bee weight and longevity and brood rearing. In: *Proc. Meet. EC-Experts' Group, Udine, Italy, 28-30 Nov. 1988, R. Cavalloro ed. C.E.C.*, pp. 163-170.
- BEETSMA, J., BOOT, J.W., CALIS, J. (1999). Invasion behaviour of *Varroa jacobsoni* Oud. from bees into brood cells. *Apidologie*. 30: 125-140.
- BAILEY, L. & BALL, B.V. (1991). Honey bee pathology. Harcourt Brace Jovanovich; Sidcup, Kent, UK, pp. 193.
- BERRY, J.A. & DELAPLANE, K.S. (2001). Effects of comb age on honey bee colony growth and brood survivorship. *J. Apic. Res.* 40: 3-8.
- BETTS, A. (1932). The structure of comb. *Bee World*. 4: 37-38.
- BIANCHINI, M.L. (1994). Estudos de fatores genéticos e ambientais na resistência ao ácaro, ectoparasita, *Varroa jacobsoni*, pelas abelhas africanizadas. Jaboticabal, Dissertação (Mestrado em Zootecnia)-Faculdade de Ciência Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal - UNESP. 87 p.
- BIANCHINI, M.L. & NOGUEIRA-COUTO, R.H. (1997). Viabilidade das crias, peso ao nascer e longevidade das operárias adultas africanizadas (*Apis mellifera*), infestadas com o *Varroa jacobsoni*. *Ars. Vet.* 13(3): 275-283.
- BILASH, N.G. (1977). Quality of bees reared in colonies of different strength. *Proc. XXVI Int Beekeep. Congr.* Bucharest: 282-286.

- BOECKING, O., RATH, W., DRESCHER, W. (1992). *Apis mellifera* removes *Varroa jacobsoni* and *Tropilaelaps clareae* from sealed brood cells in the tropics. *Am. Bee J.* 132: 732-734.
- BOOT, W.J., CALIS, J.N., BEETSMA, J. (1992). Differential periods of varroa mite invasion into worker and drone cells of honey-bees. *Exp. Appl. Acarol.* 16: 295-301.
- BOOT, W.J., BEETSMA, J., CALIS, J.N.M. (1994). Behavior of varroa mite invasion invading honey bee brood cells. *Exp. Appl. Acarol.* 18: 371-379.
- BOOT, W.J., DRIESSEN, R.S., CALIS, J.N.M., BEETSMA, J. (1995). Further observations on the correlation between attractiveness of honey bee brood cells to *Varroa jacobsoni* and the distance from larva to cell rim. *Entomologia Experimentalis et Applicata.* 76: 223-232.
- BOOT, W.J., SCHOENMAKER, J., CALIS, J.N.M. (1995a). Invasion of *Varroa jacobsoni* into drone brood cells of the honey bee, *Apis mellifera*. *Apidologie* 26: 109-118.
- BOOT, W.J., VANBAALEN, M., SABELIS, M.W. (1995b). Why do varroa mites invade worker brood cells of the honey bee despite lower reproductive success?. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 36: 283-289.
- BOOT, W.J., TAN, N.Q., DIEN, P.C., HUAN, L.V., DUNG, N.V., LONG, L.T., BEETSMA, J. (1997). Reproductive success of *Varroa jacobsoni* in brood of its original host, *Apis cerana*, in comparison to that of its new host, *A. mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Bull. Entomol. Res.* 87: 199-126.
- BOUDOUX, U. (1927). Agrandissement des abeilles. *L'Apiculture Rationale.* 11:87-89.
- BOUDOUX, U. (1933). The influence of cell size. *Bee World.* 4: 37-41.
- BOUDOUX, U. (1934). The influence of cell size. *Bee World.* 5: 2-5.

- BUCCO S.M., RINDERER T.E., SYLVESTER H.A., COLLINS A.M., LANCASTER V.A., CREWE, R. (1987). Morphometric differences between South American africanized and South African (*Apis mellifera scutellata*) honey bees. *Apidologie*. 18: 217-222
- BUCHNER, R. (1955). Effect on the size of workers of restricted space and nutrition during larval development (translated title). *Wilhelm Roux Archiv. fur Entwicklungsmechanik der Organismen*. 146: 544-579
- BUCHLER, R. & DRESCHER, W. (1990). Variance and heritability of the capped developmental stage in european *Apis mellifera* and its correlation with increased Varroa infestation. *J. Apic. Res.* 29: 172-176
- BURIOLLA, A.H. & GONÇALVES, L.S. (1983). The effect of colony on the rate of infestation by the mite *Varroa jacobsoni*. Abstracts of 29th International Apicultural Congress, Apimondia Publishing House, Bucarest, Romania. p.89
- BUTTEL-REEPEN, H.V. (1906). Apistica. Beitrage zur systematic, biologie, sowie zur geschichtlichen und geographischen verbreitung der honigbiene (*Apis mellifera*), ihrer variataten und der ubrigen apisarten. *Mitt. Zool. Mus. Berlin* 3: 17-201.
- CAMAZINE, S. (1986). Differential reproduction of the mite *Varroa jacobsoni* (Mesostigmata: Varroidae) on africanized and European honey bees (Hymenoptera: Apidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 79: 801-803.
- CALIS, J.N.M. & BOOT, W.J. (1993). Behavior of varroa mites invading honey bee brood cells of diferent sizes. *Proceedings of the first International Conference on the Asian Honey Bees and Bee Mites*. p. 499-509.
- CALIS, J.N.M, BOOT, W.J., BEETSMA, J. (1993). Behavior of *Varroa* mites invading honey bee brood cells of different sizes. In: L.J. Connor, T. Rinderer, H.A Sylvester and S. Wongsiri (Editors), *Asian apiculture*. Wicwas Press, Cheshire CT, USA, pp. 499-509.

- CLAERR, G. (1978). *Varroa* an approaching plague for european beekeeping? *Australas. Beekeeper*. 80(1): 10-15
- COBEY, S. & LAWRENCE, T. (1988). *Varroa* mite: potencial methods of control. *Am. Bee J.* 160: 112-117.
- COLLINS, A.M., RINDERER, T.E., HARBO, J.R., BROWN, M.A. (1984). Heritabilities and correlations for several characters in the honey bee. *J. Hered.* 75: 135-140.
- COLIN, M.E., & GONZÁLEZ-LOPEZ, M.D. (1986). Treatment of Varroatosis of the honey bee: chemotherapy, other control measures and the prospects for biological control. *Rev. Sc. Tecn. Off. Int. Epizoot.* 8: 689-697.
- COGGSHALL, W.L. & MORSE, R.A. (1984). Beeswax. Production, hatching, processing and Products. Wiewas Press. Ithaca, New York. Pp. 192
- COSENZA, G.W. & BATISTA, J.S. (1974). Morfometria da *Apis mellifera adansonii* (abelha africanizada) da *Apis mellifera caucasiana* (abelha caucasiana) e suas híbridadas. *Ciênc. Cult.* 26(9): 864-866.
- CORNUET, J.M., FRESNAYE, J., TASSECOURT, L. (1975). Discrimination et classification de populations d'abeilles a partir de caractères biométriques. *Apidologie* 6: 145-187.
- CORRÊA-MARQUES, M.H. (2000). Reprodução do ácaro *Varroa jacobsoni* em colônias de abelhas africanizadas *Apis mellifera* no Brasil. Ribeirão Preto, Dissertação (Doutorado em Ciências- Área: Entomologia) – FFCLRP - USP. 113 p.
- COUTO, L.A. (1987). Efeito do fornecimento da rações sobre a produção de cria e alimento e sua herdabilidade em colméias de *Apis mellifera* infestadas com o ácaro *Varroa jacobsoni*. Jaboticabal, (Mestrado em Zootecnia - Melhoramento Genético Animal). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, UNESP. 132 p.

- COUTO, L.A. (1991). Produção de alimento e cria em colméias de *Apis mellifera* infestadas com *Varroa jacobsoni* em regiões canavieiras. Jaboticabal, Tese (Livre Docência) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, UNESP. 131 p.
- CRANE, E. (1978). The varroa mite. *Bee World*. 59(4): 164-67.
- CREMONEZ, T. M. & DE JONG, D. (2000). Queen presence affects Varroa infestations. Abstract Book II, XXI International Congress of Entomology, Brazil, August 20-26, 2000. p. 868.
- CREWE, R.M., HEPBURN, H.R., MORITZ, R.F. (1994). Morphometric analysis of 2 Southern African races of honey bee. *Apidologie*. 25: 61-70.
- DADANT & SONS, (1975). The hive and the honey bee. Edited by Dadant and Sons, Hamilton, Illinois, 540 pp.
- DALY, H.V. (1990). Variation in worker brood cell widths and comb orientation in an exposed honeybee nest in Berkeley, California. *Pan-Pacific Entomol.* 66: 208-211.
- DALY, H.V. (1992). A statistical and empirical evaluation of some morphometric variables of honey bee classification. In Sorensen J.T., Footitt, R. (eds) *Ordination in the study of morphology, evolution and systematic of insects: applications and quantitative genetic rationals*. Elsevier, Amsterdam, Netherlands, pp. 127-155.
- DALY, H.V. & BALLING, S.S. (1978). Identification of africanized honey bees in the western hemisphere by discriminant analysis. *J. Kans. Entomol. Soc.* 51: 857-869.
- DALY, H.V., DANKA, R.G., HOELMER, K., RINDERER, T.E., BUCO, S.M. (1995). Honey bee morphometrics: linearity with respect to body size and classification tested with european worker bees reared by varying ratios of nurse bees. *J. Apic. Res.* 34(3): 129-145.

- DALY, H.V., HOELMER, K., NORMAN, P., ALLEN, T. (1982). Computer-assisted measurement and identification honey bees (Hymenoptera: Apidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 75(6): 591-594.
- DALY, HV, DE JONG, D., STONE, N.D. (1988). Effect of parasitism by *Varroa jacobsoni* on morphometrics of africanized worker honey bees. *J. Apic. Res.* 20: 254-57.
- DALY, HV. & MORSE, R.A. (1991). Abnormal sizes of worker honey bees (*Apis mellifera*) reared from drone comb (Hymenoptera: Apidae). *J. Kans. Entomol. Soc.* 64: 193-196.
- DAVIDSSON, M. (1992). The influence of cell size in Varroa reproduction. A Study made at The Swedish University of Agricultural Science as an examination paper. In: <http://www.algonet.se/~beeman/research/cell.htm>
- DE GUZMAN, L.I. & RINDERER, T.E. (1999). Identification and comparison of *Varroa* species infesting honey bees. *Apidologie*. 30: 85-95.
- DE JONG, D. (1981). Effect of queen cell construction on the rate of invasion of honeybee brood cells by *Varroa jacobsoni*. *J. Apic. Res.* 20: 254-57.
- DE JONG, D. (1984). Current knowledge and open questions concerning reproduction in the honeybee mite *Varroa jacobsoni*. In: Engels et.al. (Ed.) *Advances Invertebrate Reproduction*. Amsterdam, Elsevier, Science Publishers, 547-552.
- DE JONG, D. (1988). *Varroa jacobsoni* does reproduce in worker cells of *Apis cerana* in South Korea. *Apidologie*. 19: 241-244.
- DE JONG, D. (1990). Mites: Varroa and other parasites of brood. In: Morse, R.H.; Nowogrodzki, R. (Ed) *Honey Bee Pests, Predators and Diseases*. 2. Ed, Ithaca, Cornell University Press, 200-218.

- DE JONG, D. (2000). Varroa tolerance in Africanized and European honey bees in Brazil. *IV Encontro sobre abelhas*. 6-9 de Setembro, Ribeirão Preto, SP, Brasil. pp 180-186.
- DE JONG, D. & DE JONG, PH. (1983). Longevity of africanized honey bees (Hymenoptera: Apidae) infested by *Varroa jacobsoni*. *J. Econ. Entomol.* 76: 766-68.
- DE JONG, D. & GONÇALVES, L.S. (1981). The Varroa problem in Brazil. *Am. Bee J.* 121: 186-89.
- DE JONG D., GONÇALVES L.S., MORSE R.A. (1984). Dependence on climate of the virulence of *Varroa jacobsoni*. *Bee World* 65: 117-121.
- DE JONG, D., MESSAGE, D., ISSA, M.R. (1985). The influence of cell size on infestation rates by the mite *Varroa jacobsoni*. Abstracts from the XXX International Apicultural Congress, Apimondia, Oct. 10-16, Nagoya, Japan.
- DE JONG, D. & MORSE, R. A. (1988). Utilisation of raised brood cells of the honey bee, *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae), by the mite *Varroa jacobsoni* (Acarina: Varroidae). *Entomologia Generalis* 14: 103-106.
- DE JONG, D.; MORSE, R.A.; EICKWORT, G.C. (1982a). Mite pests of honey bees. *Ann. Rev. Entomol.* 27: 229-252.
- DE JONG, D., DE JONG, P.H., GONÇALVES, L.S. (1982b). Weight loss and other damage to developing worker honeybees from infestation with *Varroa jacobsoni*. *J. Apic. Res.* 21: 165-67.
- DE JONG, D. & SOARES, A.E. (1997). An isolated population of Italian bees that has survived *Varroa jacobsoni* infestation without treatment for over 12 years. *Am. Bee J.* 137: 742-745.

- DELFINADO, M.D. (1963). Mites of the honey bees in South-East Asia. *J. Apic. Res.* 2: 113-114.
- DELFINADO, M.D. & BAKER, E.W. (1974). Varroidae, a new family of mites on honey bees (Mesostigmata: Acarina) *J. Wash. Acad. Sci.* 64: 4-10.
- DELFINADO-BAKER, M. & HOUCK, M.A. (1989). Geographic variation in *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae): application of multivariate morphometric techniques. *Apidologie* 20: 345-358.
- DE RUIJTER, A. & CALIS, J.N.M. (1988). Distribution of *Varroa jacobsoni* female mites in honey bee worker brood cells of normal and manipulated depth (Acarina: Varroidae). *Entomologia Generalis* 14: 107-109.
- DE RUIJTER, A. (1986). Reproduction of *Varroa* mites during successive brood cycles of the honey bee. In: Meeting of the EC Experts Group/BAD. *Proceedings Homburg European Research on Varroasis control.* p. 63-67.
- DONZÉ, G. & GUERIN, P.M. (1994). Behavioral attributes and parental care of *Varroa jacobsoni* parasiting honeybee brood. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 34: 305-319.
- DONZÉ, G.; HERRMANN, M.; BACHOFEN, B., GUERIN, P.M. (1996). Effect of mating frequency and brood cell infestation rate on the reproductive success of the honeybee parasite *Varroa jacobsoni*. *Ecol. Entomol.* 21: 17-26.
- DONZÉ, G.; FLURI, P., INDORF, A. (1998). A look under the cap: the reproductive behaviour of varroa in the capped brood of the honeybee. *Am. Bee J.* 138: 528-533.
- DUSTMANN, J.H. (1993). Natural defense mechanisms of a honey bee colony against diseases and parasites. *Am. Bee J.* 133(6): 431-434.

- DZIERZON, J. (1882). *Rationelle Bienenzucht* (English translation). pp. 350
- ECHAZARRETA, C.M & PAXTON, R. J. (1997). Comparative colony development of africanized and european honey bees (*Apis mellifera*) in lowland neotropical Yucatan, Mexico. *J. Apic. Res.* 36: 89-103.
- ECKERT, J.E. (1934). Studies in the number of ovarioles in queen honey-bees in relation to body size. *J. Econ. Entomol.* 27: 629-635.
- EISHCHEN, F.A., ROTHENBUHLER, W.C., KULINCEVIC, J.M. (1982). Length of life and dry weight of worker honeybees reared in colonies with different worker-larva ratios. *J. Apic. Res.* 21(1): 19-25.
- ENGLAND, D.G. (1971). Varroaosis. *Am. Bee J.* 111: 468.
- ERICKSON, E.H., ATMOWIDJOJO, A., KING, A., KING, J. (1998). Effect of "New" vs. "Old" wax brood combs on honey bee tracheal mites populations in North Dakota. *Am. Bee J.* 138: 672-673.
- ERICKSON, E.H.; LUSBY D.A., HOFFMAN G.D., LUSBY E.W. (1990). On the Size of Cells. Speculations on foundation as a colony management tool. *Glean. Bee Cult.* 118(2): 98-101; 118(3): 173-174.
- ERICKSON, E.H., KING, A., KING, J. (1996). Natural suppression of honey bee tracheal mites in North Dakota: A five year study. *Am. Bee J.* 136: 365-367.
- FERNÁNDEZ, N. (1994). Varroasis en la provincia de Buenos Aires. In: Anais del IV Congreso Iberoamericano de Apicultura. Rio Cuarto/Córdoba-Argentina 27-38.
- FLOTTUM, K. (1998). Beekeeping on the Fringe, with Ed and Dee Lusby. *Glean. Bee Cult.* – Vol. January. Tucson, AZ. Pages 34-35

- FUCHS, S. (1990). Preference for drone brood cells by *Varroa jacobsoni* Oud. in colonies of *Apis mellifera carnica*. *Apidologie* 21: 193-199.
- FUCHS, S. & LANGENBACH, K. (1989). Multiple infestation of *Apis mellifera* brood cells and reproduction in *Varroa jacobsoni* Oud. *Apidologie* 20: 257-266.
- FUCHS, S. & MULLER, K. (1986). Invasion of honeybee brood cells by *Varroa jacobsoni* in relation to the age of the larvae. In Meeting of the EC/Experts Group/BAD. Proc. Hamburg European Research on Varroasis control. p.77-9.
- FREE, J.B. & WINDER, M.E. (1983). Brood recognition by honey bee (*Apis mellifera*) workers. *Anim. Behav.* 31: 539-545.
- GILLET-CROIX, (1927). Historique du grossissement des abeilles. *L'Apiculture Rationnelle*. 11(4): 87-89.
- GILLIAM, M. (1985). Microbes from apiarian sources: *Bacillus* spp. in frass of the greater wax moth. *J. Invertebr. Pathol.* 45: 218-224
- GLUSHKOV, N.M. (1956). Experiments on combs with enlarged cells. *Pchelovodstvo* 33(5): 32-40
- GOETZ, B & KOENIGER, N. (1993). The distance between larva and cell opening triggers broodcell invasion by *Varroa jacobsoni*. *Apidologie* 24: 67-72.
- GONÇALVES, L.S., DE JONG, D., NOGUEIRA, R.H. (1982). Infestation of feral honey bee colonies in Brazil by *Varroa jacobsoni*. *Am. Bee J.* 122: 249-251.
- GONÇALVES, L.S. (1996). Abelhas africanizadas: Uma praga ou um benefício para a apicultura Brasileira? *Anais do II Encontro sobre abelhas*. Ribeirão Preto – SP, Brasil. 6-9 de Junho. pp. 165-170.

- GONÇALVES, L.S. (1998). Principais impactos biológicos causados pela africanização das abelhas *Apis mellifera* e perspectivas da apicultura Brasileira. *Anais do III Encontro sobre abelhas*. Ribeirão Preto – SP, Brasil. 11-14 de Junho. pp. 31-36.
- GONÇALVES, L.S. (1987). O combate à Varroa em todo o mundo. *Apic. Bras.* p.31-35.
- GONÇALVES, L.S. & KERR, W.E. (1970). Noções sobre genética e melhoramento em abelhas. *Anais do I Congresso Brasileiro de Apicultura*: 8-36. Florianópolis, SC.
- GONÇALVES, L.S., STORT, A.C., MALASPINA, O., MOURA DUARTE, A.F. (1981). Study on sineacar effectiveness in controlling *Varroa jacobsoni*. *Apidologie* 12: 289-297.
- GOTZE, G. (1930). Variabilitats und zuchtungsstudien an der honigbiene mit besonderer berucksichtigung der langrusseligkeit. *Archiv fur Bienenkunde* 11(5-6): 1-95.
- GROBOV, O.F. (1977). *Varroasis* in bees. In *Varroasis, a honey bee disease*. Bucharest: Apimondia Publishing House. pp. 48-90.
- GROUT, R.A. (1931). A biometrical study of the influence of size brood cell upon the size and variability of the honey bee (*Apis mellifera* L.). M. S. Thesis, Iowa St. College. Ames, Iowa. pp. 180.
- GROUT, R.A. (1937a). The influence of size of brood cell upon the size and variability of the honey bee (*Apis mellifera* L.). *Res Bull. Agric. Exp. Stat.*, Iowa St. College. Ames, Iowa 218: 260-280.
- GROUT, R.A. (1937b). Influence of size of brood cell upon size and variability of the honey bee. *J. Econ. Entomol.* 30(2): 345-354.
- GROOT, A.P. (1953). Protein and amino acid requirements of the honeybee (*Apis mellifera* L.). *Physiol. Comp. Oecol.* 3: 1-90.

- GUERRA, Jr. J.C. (1994). Resisência das abelhas africanizadas, italianas e híbridas F1 e retrocruzados, ao ácaro *Varroa jacobsoni*. Ribeirão Preto, Dissertação (Mestrado em Genética) - Faculdade de Medicina de RP, USP. 110 p.
- GUERRA, Jr. J.C. (2000). Comportamento de remoção de crias de operárias africanizadas (*Apis mellifera*) infestadas com o ácaro *Varroa jacobsoni* e alguns aspectos envolvidos no parasitismo. Ribeirão Preto, Dissertação (Doutorado em Genética) - Faculdade de Medicina de RP, USP. 100 p.
- GUERRA, Jr. J.C., GONÇALVES, L.S., DE JONG, D. (2000). Africanized honey bees (*Apis mellifera*) are more efficient at removing worker brood artificially infested with the parasitic mite *Varroa jacobsoni* Oud. than are Italian bees or Italian/Africanized hybrids. *Gen. Molec. Biol.* 23(1): 89-92.
- GUNTHER, C.E.M. (1951). A mite from a beehive on Singapore Island (Acarina: Laelapidae). *Proceeding of the Linnean Society of New South Wales* 76: 155-157.
- HANEL, H. (1983). Effect of juvenile hormone III on the reproduction of *Varroa jacobsoni*. *Apidologie* 14: 137-142.
- HANEL, H. & KOENIGER, N. (1986). Possible regulation of the reproduction of honey bee mite *Varroa jacobsoni* (Mesostigmata: Acari) by a host's hormone: juvenile hormone III. *J. Insect. Physiol.* 32: 791-798.
- HARBO, J.R. (1991). Effect of cell size on quantity of brood and weight of worker bees. *Am. Bee J.* 131: 776.
- HARBO, J.R. (1992). Breeding honey bees (Hymenoptera: Apidae) for more rapid development of larvae and pupae. *J. Econ. Entomol.* 85: 2125-2130.
- HASSAN, R.A. (2000). Studies on some factors affecting Varroa mite reproduction. Abstracts from the 2nd International Conference on Africanized Honey Bees and Bee Mites. April 10-12, 2000 in Tucson, AZ. *Am. Bee J.* 140(9): 745.

- HASSAN, R.A. & ALY, A.M. (1998). Relation between the age of beeswax combs and honey bee activities. *Ann. Apic. Sci.* Special Issue 3: 1043-1053.
- HEJTMANEK, J. (1960). A study of tongue in bees. *Včelárství*. 13 (4): 50.
- HERBERT, E.W., SYLVESTER, H.A., VANDERBERG, J.D., SHIMANUKI, H. (1988). Influence of nutritional stress and the age of adults on the morphometrics of honey bees (*Apis mellifera*). *Apidologie* 19(3): 221-229.
- IFANTIDIS, M.D. (1991). Reexamination of reproduction parameters of the mite *Varroa jacobsoni* Oudemans. Proc. Intern. Symp. Recent Res. On bee Pathol. Gent, Belgium 1990. W. Ritter ed., Apimondia, Bucharest, 20-26.
- IFANTIDIS, M.D. (1983). Ontogenesis of the mite *Varroa jacobsoni* in worker and drone honeybee brood cells. *J. Apic. Res.* 22: 200-206.
- IFANTIDIS, M.D. (1988). Some aspects of the process of *Varroa jacobsoni* mite entrance into honeybee brood cells. *Apidologie* 19(4): 387-396.
- INTERNATIONAL BEE RESEARCH ASSOCIATION. (1997). *Varroa!* Fight the mite. *Bee World* 78: 37.
- ISSA, MRC. (1985). Estudo da preferencia do ácaro *Varroa jacobsoni* por zangões de abelhas *Apis mellifera*. Tesis de Mestrado. Ribeirão Preto-SP - USP. 183 p.
- ISSA, MRC. (1994). A relação parasita-hospedeiro entre *Varroa jacobsoni* e a abelha africanizada. In: X Congresso Brasileiro de Apicultura, Goiás, Anais. Goiás, Confederação Brasileira de Apicultura. P. 171-174.
- ISSA, M.R.C. & DE JONG, D. (1981). Estudo do peso e idade larval de abelhas *Apis mellifera* L. infestadas pelo ácaro *Varroa jacobsoni*. *Genet. Evo.* p. 674.

- ISSA, M. R., DE JONG D., GONÇALVES, L.S. (1993). Reproductive strategies of the mite *Varroa jacobsoni* (Mesostigmata, Varroidae): Influence of larva type and comb cell size on honey bee brood infestation rates. *Brazil. J. Genetics* 16(1): 219-224.
- ISSA, M.R, DE JONG, D., GONÇALVES, L.S. (1985). Study of the preference of the mite *Varroa jacobsoni* for *Apis mellifera* drones. Abstracts from the XXX International Apicultural Congress, Apimondia, Oct. 10-16, Nagoya, Japan.
- JAGANNADHAM, G. & GOYAL N. P. (1983). Morphological and behavioural characteristics of honeybees workers reared in combs with larger cells. 2nd Int. Conf. Apic. Trop. Climates, New Dehli, India. pp. 238-253.
- KELLOGG, V. (1906). Variation in parthenogenetic insects. *Science* 24: 695-9.
- KERR, W.E., GONÇALVES, L.S., STORT, C., BUENO, D. (1967). Biological and genetical information on *Apis mellifera adansonii*. XXI st. International Apicultural Congress.
- KERR, W.E. (1967). The history of the introduction of africanized bees to Brazil. *S. Afr. Bee*. 39: 3-5.
- KOENING, J.P., BOUSH, G.M., ERICKSON, E.H. (1986). Effect of type of brood comb on chlk brood disease in honey bee colonies. *J. Apic. Res.* 25: 58-62.
- KOENINGER, N., KOENINGER, G., WIJAYAGUNASEKARA, H.H. (1981). Beobachtngen uber die Anpassung von *Varroa jacobsoni* an ihren naturlichen wirt *Apis cerana* in Sri Lanka. *Apidologie* 12: 37-40.
- KOSHEVNIKOV, G.A. (1900-1905). Materials to the natural history of the honey bee. Vol. I and II. Moscow, Soc. des Amateurs des Sciences Naturalles.
- KOTOGYAN, A.M. & MARTIROSYAN, L.M. (1958). The production and economic importance of larger bees. *Byull. Armyansk. Inst. Zhivotn. Vet.* 2: 32-34.

- KRAUS, B., VELTHUIS, H.H., TINGEK, S. (1998). Temperature profiles of the brood nests of *Apis cerana* and *Apis mellifera* colonies and their relation to varroosis. *J. Apic. Res.* 37: 175-181.
- KRAUS, B. & PAGE, R.E. (1995). Population growth of *Varroa jacobsoni* Oud. in Mediterranean climates of California. *Apidologie* 26: 149-157.
- KULAGIN, N.M. (1906). Die lange des bienenrussels. *Zool. Anz. Bel.* 29.
- KULIKOV, N.S. (1965). Varroasis of bees. *Pchelovodstvo*. 11: 15-16.
- KULZHINSHAYA, K.P. (1955). The role of the food factor in the growth of bees. *Pchelovodstvo* 5: 36-37.
- LANGHE, A.B. & NATZKII, K.V. (1976). The mite Varroa and methods of controlling it. In: Varroasis a honeybee disease. (Harnaj, V., ed) Apimondia Publishing House, Bucharest, pp. 40-46.
- LEE, P. C. & WINSTON, M.L. (1985). The effect of swarm size and date of issue on comb construction in newly founded colonies of honeybees (*Apis mellifera*). *Can. J. Zool.* 63(3): 524-527.
- LE CONTE, Y., ARNOLD, G., DESENFANT, P.H. (1990). Influence of brood temperature and hygrometric variations on the development of the honey bee ectoparasite *Varroa jacobsoni* (Mesostigmata: Varroidae). *Environ. Entomol.* 19(6): 1780-1785.
- LE CONTE Y., ARNOLD G., TROUILLER J., MASSON C., CHAPPE B., OURISSON G. (1989). Attraction of the parasitic mite *Varroa* to the drone larvae of honey bees by simple aliphatic esters. *Science* 245: 638-639.
- LE CONTE, Y. & ARNOLD, G. (1988). Effect of the brood temperature on the development of *Varroa jacobsoni*. Present status of varroatosis in Europe and

- progress in the varroa mite control, *Proc. Meet. EC-Experts'Group, Udine 1988*, R. Cavalloro ed. C.E.C., Luxembourg, pp. 93-95.
- LE CONTE, Y. & CORNUET, J.M. (1988). Variability of the post-capping stage duration of the worker brood in three different races of *Apis mellifera*. Present status of varroatosis in Europe and progress in the varroa mite control, *Proc. Meet. EC-Experts'Group, Udine 1988*, R. Cavalloro ed. C.E.C., Luxembourg, pp. 171-174.
- LEVIN, C.G. & COLLISON, C.H. (1990). Broodnest temperature differences and their possible effect on drone brood production and distribution in honeybee colonies. *J. Apic. Res.* 29: 35-40.
- LEVIN, M.D. & HAYDAK, M.H. (1951). Seasonal variation in weight and ovarian development in the worker honey bee. *J. Econ. Entomol.* 44: 54-57.
- LOUIS, J. & LEFEBVRE, J. (1971). Les races d'abeilles 1. Détermination par l'analyse canonique (étude préliminaire). *Biometrie-Praximetrie* 12: 19-60.
- LOPER, G.M.L. (1993). Size of cells (mm) and of bees (grams/10) from feral honey bee colonies in S. Arizona. *Am. Bee J.* 133(12): 866-7
- LOVCHINOVSKAYA, M.J. (1930). The enlargement of the bee by means of her education to the combs with the enlarged cells and the effect of this enlargement on the nectar load of the honey stomach. (Trans. Title). *Opitnaja Paseka*, 314-321.
- LUSBY, D. (1997). Arizona beekeeper believes smaller size cell diameter is the answer to mite problems, *Am. Bee J.*, December, Page 837-838.
- MARCANGELI, J. A., EGUARAS M.J., FERNÁNDEZ, M.A. (1992a). Reproduction of *Varroa jacobsoni* (Acari: Mesostigmata: Varroidae) in temperature climates of Argentina. *Apidologie* 23: 57-60.

- MARCANGELI, J., MONETTI, L., FERNANDEZ, N. (1992b). Malformations produced by *Varroa jacobsoni* on *Apis mellifera* in the province of Buenos Aires, Argentina. *Apidologie* 23: 399-402.
- MARIN, M. (1978). World spread of Varroa disease. *Apiacta*, Bucharest, 13: 163-6.
- MATHESON, A. (1996). World bee health update. *Bee World* 77: 45-51.
- MARTIN, S.J. (1994). Ontogenesis of the mite *Varroa jacobsoni* Oud. in worker brood of the honeybee *Apis mellifera* under natural conditions. *Exp. Appl. Acarol.* 18: 87-100.
- MARTIN, S. J. (1995). Reproduction of *Varroa jacobsoni* in cell of *Apis mellifera* containing one or more mites and the distribution of these cells. *J. Apic. Res.* 34: 187-196.
- MARTIN, S.J. (1998). A population model for the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* in honey bee *Apis mellifera* colonies. *Ecological Modelling* 109: 267-281.
- MARTYNOV, W.A. (1901). A bee colony exclusively with drone combs. (In Russian) *Proceedings of the Moscow Agricultural Academic*, v. 7, no. 1.
- MEDINA, L.M. (1998). Frequency and infestation levels of the mite *Varroa jacobsoni* in managed honey bee (*Apis mellifera*) colonies in Yucatan, México. *Am. Bee J.* 138: 125-127.
- MEDINA, L.M. (2000). Reproducción del ácaro *Varroa jacobsoni* y factores de tolerancia hacia este parásito em abejas africanizadas (*Apis mellifera*) en Yucatan, México. *Anais do IV Encontro sobre Abelhas, Ribeirão Preto, Brasil.* p. 164-171.
- MEDINA, L.M. & MARTIN, S.J. (1999). A comparative study of *Varroa jacobsoni* reproduction in worker cells of honey bees (*Apis mellifera*) in England and africanized bees in Yucatan, Mexico. *Exp. App. Acarol.* 23: 659-667.

- MERRILL, J.H. (1922). The correlation between some physical characters of the bee and its honey storing ability. *J. Econ. Entomol.* 15(2): 125-129.
- MESSAGE, D. (1986). Aspectos reprodutivos do ácaro *Varroa jacobsoni* e seus efeitos em colônias de abelhas africanizadas. Ribeirão Preto, Dissertação (Mestrado em Ciências) - Faculdade de Medicina de RP, USP. 146 p.
- MESSAGE, D. & GONÇALVES, L.S. (1983). Tamanho da células: um provável mecanismo de resistência de abelhas africanizadas ao ácaro ectoparasita *Varroa jacobsoni*. *Cienc. Cult.* 35(7): 711.
- MESSAGE, D. & GONÇALVES L.S. (1984). Effect of the size of worker cells on reproduction of *Varroa jacobsoni* and on the weight of infested and uninfested pupae 17-18 days old. *Adv. Invertebr. Reprod.* 3: 613
- MESSAGE, D. & GONÇALVES, L.S. (1995). Effect of the size of worker brood cells of africanized honey bees on infestation and reproduction of the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* Oud. *Apidologie* 26: 381-386.
- MICHAILOV, A. S. (1926). On the increasing variability of the honey bee from north to south. *Opytnaja Paseca* 12: 13-14.
- MICHAILOV, A. S. (1927). Workers of *Apis mellifera* reared in drone cells. (Trans. Title) *Rev. Russe. Ent.* 21(3-4): 151-162.
- MICHENER, C.D. (1975). The brazilian bee problem. *Ann. Rev. Entomol.* 20: 399-416.
- MILLER, C.C. (1910). A study of natural honey-comb. Size of cells. *Glean. Bee Cult.* 5: 52-55
- MILNE, C.P. Jr. (1980). Laboratory measurement of honey production in the honeybee. Pupal weight of the worker. *J. Apic. Res.* 19: 176-178

- MILNE, C.P. Jr. & FRIARS, G. W. (1984). An estimate of the heritability of honeybee pupal weight. *J. Hered.* 75: 509-510
- MITCHELL, C. (1970). Weights of workers and drones. *Am. Bee J.* 110: 468-469
- MIRZA, E. (1962). Data concerning the size of cells in S.R.R. honey-combs, in "Apiculture" 2: 10-14.
- MONTIEL, J.C. & PIOLA, G.A. (1977). A new enemy of bees. In Varroatosis a honey bee disease. (Harnaj, V. ed) Apimondia Publishing House, Bucharest, 36-38.
- MORETTO, G. (1988). Efeito de diferentes regiões climáticas brasileiras e de tipos raciais de abelhas *Apis mellifera* na dinâmica de populações do ácaro *Varroa jacobsoni*. Ribeirão Preto, Dissertação (Mestrado em Genética) - Faculdade de Medicina de RP, USP. 108 p.
- MORETTO G., GONÇALVES L.S., DE JONG, D. (1991). The effects of climate and bee race on *Varroa jacobsoni* Oud. infestations in Brazil. *Apidologie* 22: 197-203.
- MORETTO G., GONÇALVES, L.S., DE JONG, D. (1997). Relationship between food availability and the reproductive ability of the mite *Varroa jacobsoni* Oud. in africanized bee colonies. *Am. Bee J.* 137: 67-69.
- MORITZ, R.F.A. & HANEL, H. (1984). Restricted development of the parasitic mite *Varroa jacobsoni* Oud. in the cape honeybee *Apis mellifera capensis*. *Esch. Z. Ang. Ent.* 97: 91-95.
- MORITZ, R.F.A. & MAUTZ, D. (1992). Development of *Varroa jacobsoni* in colonies of *Apis mellifera capensis* and *Apis mellifera carnica*. *Apidologie* 21: 53-58.
- MORSE, R.A. & GONÇALVES, L.S. (1979). Varroa disease, a threat to world beekeeping. *Glean. Bee Cult. Medicina*, p.179-81, 202.

- NEEDHAM, G.R. (1988). Status report on *Varroa jacobsoni*. *Am. Bee J.* 128: 106-110.
- NIELSEN D.I., EBERT P.R., HUNT G.J., GUZMAN-NOVOA E., KINNEE S.A., PAGE R.E. (1999). Identification of africanized honey bees (Hymenoptera: Apidae) incorporating morphometrics and an improved polymerase chain reaction mitotyping procedure. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 92: (2) 167-174
- NOGUEIRA, R.H.E. (1979). Estudo da glândula ácida de rainhas e operárias de *Apis mellifera*. Ribeirão Preto, 111 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP.
- NOGUEIRA, R.H. & GONÇALVES, L.S. (1982). Study of gland size and type in *Apis mellifera* workers emerged from drone cells. *Brazil. J. Genetics.* 1: 51-59.
- NOWAKOWSKI, R. (1969). Relation between the volume of a comb cell and the number of generations and weight of worker bees reared in it. *Zesz. Nauk. Wyzsz. Szk. Roln. Wrocl.* 16: 65-73.
- NOWOGRODZKI, R. (1984). Division of labor in the honeybee colony. *Bee World* 65: 109-116.
- OLDROYD, B., RINDERER, T.E., BUCO, S. (1991). Heritability of morphological characters used to distinguish european and africanized honey bees. *Theoretical and Applied Genetics* 82(4): 499-504.
- OTIS, G.W. (1982). Weights of worker honeybees in swarms. *J. Apic. Res.* 21: 88-92.
- PHILLIPS, E.F. (1929). Variation and correlation in the appendages of the honeybee. N.Y. (Cornell) Ag. Exp. Sta. Memoir 121: 1-52.
- PIGNATA, M.I.B. (1990). Análise genética e morfológica do aparelho bucal de algumas espécies de abelhas da família Apidae. Dissertação de Mestrado, Instituto de Biociências de Rio Claro – UNESP. pp. 122

- QUEZADA-EUÁN, J.J.G. & PAXTON, R.J. (1999). Rapid intergenerational changes in morphology and behaviour in colonies of africanized and european honey bees (*Apis mellifera*) from tropical Yucatan, Mexico. *J. Apic. Res.* 38(1-2): 93-104.
- RAMON, H., VAN LAERE O., IFANTIDIS M. (1993). Size of comb cell and reproduction of *Varroa jacobsoni*, in Connor L.J., Rinderer T., Sylvester H.A., Wongsiri S. (Eds.), *Asian Apiculture*, Wicwas Press, Cheshire CT, pp. 521-529
- RATH, W. (1992). The key to Varroa: the drones of *Apis cerana* and their cell cap. *Am. Bee J.* 132: 329-331.
- RATH, W. & DRESCHER, W. (1990). Response of *Apis cerana* Fabr. towards brood infested with *Varroa jacobsoni* Oud. and infestation rate of colonies in Thailand. *Apidologie* 21: 311-321.
- REHM, J. & RITTER, W. (1989). Sequence of the sexes in the offsprings of *Varroa jacobsoni* and the resulting consequences for the calculation of the developmental period. *Apidologie* 20: 339-344.
- RINALDI, A.J., POPOLIZIO, E.R., PAILHE, L.A. (1971). Indices alares, tarsales y glosales en tres razas de abejas. Univ. de Tucumán. Argentina, *Miscelanea* 41: 1-10.
- RINALDI, A.J., POPOLIZIO, E.R., PAILHE, L.A. (1972). Mediciones en panales naturales y muestreo de abejas. *1º Cong. Bras. Apic.* (Florianópolis, SC., 1970) ed. H. Weise, pp. 234-237. Santa Catarina, Brazil.
- RINDERER, T.E. (1986). Africanized bees: the africanization process and potencial range in the United States. *Bull. Entomol. Soc. Am.* 32: 222-277
- RINDERER TE., BUCO S.M., ROUBIK W.L., DALY, H.V., STELZER J.A., RIGGIO R.M., BAPTISTA F.C. (1993). Morphometric identification of africanized and european honey bees using large reference populations. *Apidologie* 24: 569-585.

- RINDERER T.E., TUCKER, K.W., COLLINS, A.M. (1982). Nest cavity selection by swarms of africanized and european honey bees. *J. Apic. Res.* 21: 98-102
- RINDERER T.E., SYLVESTER A., BROWN, M.A., VILLA J.D, PESANTE D., COLLINS A.M. (1986a). Field and simplified techniques for identifying africanized and european honey bees. *Apidologie* 17: 33-48
- RINDERER TE., SYLVESTER H. A, COLLINS A.M., PESANTE, D. G. (1986b). Identification and European honey bees: effects of nurse-bee genotype and comb size. *Bull. Entomol. Soc. Am.* 32(3): 150-152.
- RINDERER T.E., SYLVESTER A., BUCO, S.M., LANCASTER, V.A, HERBERT, E.W., COLLINS A.M., HELLMICH, H. (1987). Improved simple techniques for identifying africanized and european honey bees. *Apidologie* 18: 179-196.
- RITTER, W. & DE JONG, D. (1984). Reproduction of *Varroa jacobsoni* Oud. In Europe, the middle East and tropical South America. *Zeitschrift fur Angewandte Entomologie* 98: 55-57.
- RITTER, W. (1981). Varroa disease of the honeybee *Apis mellifera*. *Bee World* 62(4): 141-153.
- ROSENKRANZ, P. (1986). Factors affecting Varroa reproduction in colonies of *Apis mellifera*: A comparison of africanized and european honey bees. Arbeitsgemeinschaft der Institute fur Bienenforschung E. Abstr. Varroa Workshop in Fedalfing/Starnberg, p. 16.
- ROSENKRANZ, P. (1999). Honey bee *Apis mellifera* tolerance to *Varroa jacobsoni* Oud. in South America. *Apidologie* 30: 159-172.
- ROSENKRANZ, P. & ENGELS, W. (1994). Infertility of *Varroa jacobsoni* female after invasion into *Apis mellifera* worker brood as a tolerance factor against varroatosis. *Apidologie* 12: 289-297.

- ROSENKRANZ, P., ISSA, M., RACHINSKY, A., STRAMBI, A., STRAMBI, C. (1988). Honeybee-Varroa relationships: a comparison of africanized and carniolan colonies. Present status of varroatosis in Europe and progress in the varroa mite control, *Proc. Meet. EC-Experts'Group, Udine 1988, R. Cavalloro ed. C.E.C., Luxembourg*, pp. 193-199
- ROOT, A. I. (1974). ABC and XYZ of bee culture. A. I. Root Company, Medina, Ohio, pp. 134-137.
- ROOT, A. I. (1978). ABC and XYZ of bee culture. A. I. Root Company (publs.), Medina, Ohio.
- RUTTNER, F. (1988). Biogeographic and taxonomy of honeybees. Springer-Verlag, Heidelberg.
- RUTTNER, F. (1983). Varroatosis in honeybees: Extent of infestation and effects. In *Proceeding of a meeting of the EC Experts Group (Cavalloro, R. ed), A.A. Balkma/Rotterdam*, 7-13.
- RUTTNER, F., MARX, H., MARX, G. (1984). Beobachtungen uber eine mogliche Anpassung von *Varroa jacobsoni* an *Apis mellifera* in Uruguay. *Apidologie* 15: 43-62
- SADOV, AV. (1976). A study of the female Varroa mite. *Pchelovodstvo*. 8: 15-16
- SEELEY, T.D. & MORSE R.A. (1976). The nest of the honey bee (*Apis mellifera*). *Insectes Sociaux* 23(4): 495-512.
- SHABANOV, M., NEDYALKOV, ST., TOSHKOV, AL. (1978). Varroatosis - A dangerous parasitic disease on bees. *Am. Bee J.* 118: 402-3.
- SMITH, F.G. (1961). Races of honeybees in East Africa. *Bee World* 42: 255-260.

- SMIRNOV, A.M. (1978). Research results obtained in USSR concerning aetiology, pathogenesis, epizootiology, diagnosis and control of Varroa disease in bees. *Apiacta*. Bucharest, 13: 149-162.
- SOMMER, P.S.M. (1982). Fatores que afetam a ontogenia do comportamento em *Apis mellifera*. Ribeirão Preto, 128 p. Tese (Mestrado em Genetica) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP.
- SPIVAK M., RANKER T., TAYLOR O.R., TAYLOR W., DAVIS L. (1988). Discrimination of africanized honey bees using behavior, cell size, morphometrics, and a newly discovered isozyme polymorphism. In *Africanized honey bee and Bee Mites*, ed. G. R. Needham, R. E. Page, Jr., M. Delfinado-Baker, D.E. Bowman, pp 313-324. Ellis Horwood Limited, Chichester, England.
- SPIVAK, M. & ERICKSON, J.R. (1992). Do measurements of worker cell size reliably distinguish africanized from european honey bees (*Apis mellifera* L.)? *Am. Bee J.* 132: 252-55.
- SPIVAK, M. (1992). The relative success of africanized and european honey bees over a range of life-zones in Costa Rica. *J. Appl. Ecol.* 29: In press.
- STEINER, J. (1993). Verteilung von *Varroa jacobsoni* im drohnenfreien bienenvolk (*Apis mellifera carnica*). *Apidologie*. 24: 45-50.
- STEINER, J., GONÇALVES, L.S., POMPOLO, S.G., TAKAHASHI, C.S. (1982). Citogenetics of the acari *Varroa jacobsoni*. *Rev. Brasil. Genet.* 5: 841-844.
- STORT, A.C. (1974). Genetic study of the aggressiveness of two subspecies of *Apis mellifera* in Brazil. 1: Some tests to measure aggressiveness *J. Apic. Res.* 13: 33-38.
- STORT, A.C. (1979). Estudo genético de caracteres morfológicos e suas relações com o comportamento de defesa de abelhas do gênero *Apis*. Tese de Livre Docência – Instituto de Biociências, UNESP. Rio Claro. 179 p.

- SYLVESTER, A.H. & RINDERER T.E. (1987). Fast africanized bee identification system (FABIS) manual. *Am. Bee J.* 127: 511-516.
- TABER, S. & OWENS, C.D. (1970). Colony founding and initial nest design of honeybees, *Apis mellifera* L. *Anim. Behav. Res.* 18: 625-632.
- TABER, S. & POOLE, H.K. (1973). Caste determination in honeybees: The production of queen worker intermediates. *J. Apic. Res.* 12: 111-116
- THOMPSON, D.W. (1961). On growth and form. Cambridge University Press (an abridged edition edited by John Tyler Bonner), p. 107-119.
- TUENIN, T.A. (1927). Variation in bees and their organs. *Am. Bee J.* 67: 1-19
- VAN ESCH, J. & BEETSMA, J. (1986). Reproduction of "standard" *Varroa* mites in relation to their preceding stay in adult bees of different age and function. *In Meeting of the EC Experts Group/BAD*. Proceedings. Hamburg. European Research on Varroasis control. p. 57-62.
- VLASOV, V.N. (1965). An experiment with bees from enlarged cells. *Pchelovodstvo* 85(8): 8-10
- VON POSERN, H. (1988). The synthetic comb, a new weapon to fight the Varroa mite? *Am. Bee J.* 698-702.
- VON FRISCH, K. (1974). Animal architecture. New York and London. First edition. pp 306
- WEAVER, N. (1957). Effects of larval age on dimorphic differentiation of the female honey bee. *Ann. Ent. Soc. Amer.* 50: 283-294.

- WEITING, J. & FERENZ H. J. (1991). Behavioral study on the invasion of honey bee brood by the mite *Varroa jacobsoni* on wax combs and ANP combs. *Am. Bee J.* 131(2): 117-118.
- WIESE, H. (1970). Abelhas africanizadas, suas características e tecnologia do manejo. *Annais do 1º Congresso Brasileiro de Apicultura*. Florianópolis, SC. 95-108.
- WINSTON, ML. (1987). The biology of the honeybee. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, London , England, pp.281
- WINSTON M.L., DROPKIN J., TAYLOR O.R. (1981). Demography and life history characteristics of two honey races. *Oecologia* 48: 407-413
- WOYKE, J. (1977). The density of bristles covering the wings as discrimination value between african and other races of honey bee. *In: African Bees: Taxonomy, Biology and Economic Use* (Fletcher DJC, ed) Apimondia, Pretoria, 15-24.

ABSTRACT

The purposes of the present work were: 1. To determine the effect of different sizes of worker brood cells in new and old combs built naturally by Africanized and European bees on the weight and morphology of emerging worker honey bees in africanized honey bee colonies (*Apis mellifera*). 2. To examine the influence of the smaller worker cells of the old comb in relation to new cells built by Africanized bees and larger new cells built by European races on the infestation and reproduction rates of the mite *Varroa jacobsoni*. We used eight Africanized honey bee colonies. Four types (sizes) of brood combs were placed in each colony: new Africanized comb (NAC), new Italian comb (NIC), new Carniolan comb (NCC) and old Africanized brood comb (OC), that had thickened brood cell walls and relatively small comb cells. Three measurements were made for 80-100 worker brood cells in each comb: Cell width (CW), cell depth (CD), and emerging bee weight (BW). Cell volume (CV) was calculated from CW and CD. The bees were weighed and then preserved in a 70% ethanol. The length and width of the right fore wing were measured for each individual bee. We studied the infestation and the reproduction rates of the mite in four types of combs with different kinds of worker brood cells, to verify possible variations in the infestation by varroa. The comb cell measurements CW and CV differed significantly among the various types of combs. We found that the OC cells (4.56 mm) had a significantly ($p < 0.001$, One-Way ANOVA) smaller diameter than the NIC cells (5.13 mm) and NCC cells (5.27 mm). An opposite trend was found for cell depth, which was significantly smaller in NIC (11.62 mm) and NCC (11.64 mm) than OC (12.22 mm). For the different types of brood combs, the cell depth increased as the cell diameter decreased, in other words, the bees compensated the reduced cell width by producing deeper cells to accommodate the developing bee. The OC cells had a significantly smaller volume (220.12 mm^3) than the NIC cells (264.82 mm^3) and NCC cells (279.59 mm^3) ($p < 0.001$, One-Way ANOVA). The worker bees reared in OC had a significantly shorter fore wing (9.10 mm) than in the new worker combs NAC (9.26 mm), NIC (9.32 mm) and NCC (9.32 mm). Fore wing width, was also significantly smaller for workers from OC combs (3.31 mm), than from NAC, NIC and NCC combs (3.43 mm, 3.49 mm and 3.46 mm, respectively). The right fore wing length and width of the emerging workers bees differed significantly among the four types of combs ($p = 0.014$ and $p = 0.003$ respectively, One-Way ANOVA). In summary, the wing size of the emerging worker bees increased with increasing volume and diameter of the comb cell. The bees from the OC comb had significantly smaller fore wings (both length

and width) than those from NAC comb ($p < 0.05$, Tukey Test). The same was true for workers from NIC and NCC combs. The mean weights of the worker bees among the different types of brood combs were: 88.12 mg, 92.67 mg, 95.82 mg and 96.89 mg for OC, NAC, NIC and NCC respectively. There was an increment in bee weight as the diameter of the cell increased. Bee weights from the different types of combs were significantly different ($p < 0.001$, One-way ANOVA). Bees infested during the brood phase with the mite *Varroa jacobsoni* weighed on average 14.9% less than uninfested bees. The varroa infestation rates differed significantly among the four types of combs ($\chi^2 = 41.122$, $p < 0.001$). The varroa infestation was significantly ($p < 0.001$) higher in OC cells ($20.6 \pm 6.4\%$) than in NAC cells ($10.4 \pm 4.2\%$) and NIC cells (14.7% , $p = 0.003$). The mean infestation rate in NIC cells did not differ significantly ($p = 0.094$) from the infestation rate in NCC cells (19.2%). The infestation rate in OC cells was not significantly different from that of NCC cells ($p = 0.347$). Within each colony the OC comb was generally twice as infested with varroa as NAC. The total varroa reproduction rate (TRR) was 1.28, 0.98, 1.19 and 1.58 for the OC, NAC, NIC and NCC combs respectively, when we included all the original adult females ($p = 0.074$, One-way ANOVA). The OC cells attracted more varroa than new comb cells, even though the OC cells had a smaller diameter. Though cell size is important, characteristics inherent to the larvae, to the comb or the food in the OC worker cells apparently have an overriding influence on attractiveness to the varroa mite.