

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

**“Aspectos reprodutivos de rainhas africanizadas (*Apis mellifera* L.):
influência do peso ao nascer no desempenho das colônias”**

DAIANA ALMEIDA DE SOUZA

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

RIBEIRÃO PRETO - SP

2009

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

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

**“Aspectos reprodutivos de rainhas africanizadas (*Apis mellifera* L.):
influência do peso ao nascer no desempenho das colônias”**

DAIANA ALMEIDA DE SOUZA

Orientador: Prof.Dr. Lionel Segui Gonçalves

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

RIBEIRÃO PRETO - SP

2009

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

DE SOUZA, DAIANA ALMEIDA

“Aspectos reprodutivos de rainhas africanizadas (*Apis mellifera* L.): influência do peso ao nascer no desempenho das colônias”; Orientador: Lionel Segui Gonçalves – Ribeirão Preto, 2009.

111p.:35il.

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

1. Abelhas africanizadas 2. Peso de rainhas 3. Fecundação natural. 4. Inseminação instrumental. 5. Seleção e melhoramento de abelhas.



Dedico à minha **Caixinha de fósforo:**

(Neco, Tingo, Xú e Gú)

À vocês que me apoiaram e me incentivaram em minhas decisões, mesmo quando elas representaram vossa angústia e preocupação!

Sem vocês, jamais teria acreditado que eu poderia!

Meus agradecimentos...

À **Prof. Dr. Kátia Peres Gramacho**, uma das primeiras pessoas que acreditou e apostou no meu trabalho. Muito obrigada pelos momentos de amizade, conselhos, críticas e principalmente pela credibilidade. Você sempre será a minha mãe científica;

Ao **Prof. Dr. Lionel Segui Gonçalves**, meu orientador, pelas mais belas lições de seriedade e profissionalismo, bem como pela credibilidade, dedicação, amizade e paciência nesta orientação;

Aos professores **Dr. Ademilson E. E. Soares, Dr. David De Jong, Dr. Klaus Hartfelder, Dra. Zilá Simões e Dra. Márcia Bitondi**, pela agradável convivência e sugestões dispensadas para o enriquecimento deste trabalho;

Aos Professores **Dr. Fábio de Melo Sene** (Biologia Evolutiva), **Dr^a. Isabel Alves do Santos** (Coevolução) e **Dr^a. Maria Dolors Piulachs** (Ovogênese em insetos), que em suas respectivas disciplinas passaram um pouco de seu conhecimento e experiência, contribuindo de maneira singular na realização e enriquecimento deste trabalho;

Ao **Prof. Dr. Kleber Del Claro** (Ecologia comportamental e de interações), pelas preciosas sugestões, auxílio e conselhos, de grande contribuição para a evolução deste trabalho;

Ao **Prof. João Maria Franco de Camargo** (Entomologia geral I), pela promoção da minha evolução pessoal e por ter me mostrado, mesmo inconscientemente, o quanto sou capaz de me superar e seguir em frente;

Ao **Prof. Dr. Carlos Alberto Garófalo** (Ecologia de Populações de Insetos), pelo valioso conhecimento passado, bem como pelas sugestões oferecidas e constante disposição em ajudar;

Às amigas, Chorinho e Queixinho (**Marina Grassi e Vanessa Bugalho**), pela ótima companhia e sincera amizade nesses dois anos. Obrigada por me ensinarem, que tão bom quanto sorrir, chorar também é um bom remédio;

Aos amigos **Michael Hrcir e Camila Maia** pela sincera amizade e companheirismos dedicados desde os finais de semanas de trabalho, aos necessários momentos de descontração. Obrigada pelas sugestões e auxílio prestados a este trabalho;

Aos queridos e sempre integrantes da “Família Gonçalves” **Michele Manfrini e Rogério Pereira**, pelos ensinamentos da arte de montar e manter uma colméia de observação, a **Gesline Almeida**, pela amizade e colaboração, e a **Tiago Franco**, pelas sugestões e disposição em ajudar de sempre. Muito obrigada a todos pela ajuda no desenvolvimento deste trabalho;

À querida amiga **Clycie Machado** e seus valiosos olhos de águia, pela ajuda e agradável companhia;

À técnica **Marcela Laure**, pela delicada e competente ajuda nas inseminações instrumentais e pelos momentos de risadas;

Aos técnicos **Adelino Penatti, Luiz Roberto Aguiar e Roberto Mazzuco**, pela preciosa ajuda de campo sem as quais este trabalho não teria se concretizado, assim como pelas conversas, conselhos e momentos de descontração, indispensáveis no decorrer dessa jornada;

À secretária do Programa de pós-graduação em Entomologia, **Renata Andrade Cavallari**, pelos auxílios burocráticos e paciência em ajudar;

Ao designer **Agamenon A. S. Segundo**, pelas preciosas e enroladas contribuições gráficas. Obrigada pela paciência e dedicação;

À fisioterapeuta **Poliana A. Souza**, pela atenção em manter-me fisicamente e psicologicamente forte nessa jornada. Obrigada pela consultoria à distância;

À **Briggited De Souza**, meu bebê fofinho, pelos preciosos momentos de diversão, cafunés, companhia e paciência com minhas broncas em dias difíceis;

À minha segunda Mãe **Maria das Graças** e à minha Avó **Maria Edésia**, por todo carinho e fervorosas orações, sem as quais não teria sequer iniciado essa jornada;

Ao meu Avô **Isaú Miranda** (“Mahatma Gandhi” pessoal), pelos seus ensinamentos, exemplos e por seu cuidado em me manter a salvo das más energias;

Ao meu irmão, **Umberto Júnior**, pelo incentivo, amizade e belíssimos momentos de diversão e discussões filosóficas (“É muito Piu, é piu demais!”);

À “Equipe Brother” (**Iuri Perrucho, Tiago Costa e Henrique Garrido**), pela mais sincera amizade e companheirismo, estando presentes em momentos preciosos e extremamente necessários. Amo cada um de vocês incondicionalmente;

Aos meus amores (**Carol, Vivi, Bia, Mama** e ao meu mais novo “abelhinho” **Luquinhas**). Vocês são abelhinhas que fazem parte da minha felicidade. Amo vocês;

Às amigas **Anna Carolina Ventura, Mariana Junqueira e Natália de Sá** pelo companheirismo e apoio nos momentos mais necessários em minha estada longe de casa. Amo vocês;

Aos queridos **Daiane Sampaio** (Piris), **Mariana** (Poia), **Lua Benício** (Perua) e **Lucas Adriel** (Cara pálida), grandes amigos e incentivadores. Amo vocês;

Aos queridos colegas do Departamento de Genética: Aline Makert, Aline Simoneti, Aline Turcato, Amanda Freire, Ana Durvalina Bontorim, Ana Rita Baptistela, Anete Lourenço, Carlos Lobo, Érika Tanaka, Fabrício Capelari, Fernanda Torres, Flávia Freitas, Francis Moraes, Ivan Akatso, Juliana Martins, Karina Guidugli, Liliane Macedo, Michele Prioli, Moisés Elias, Mônica Florecki, Omar Martinez, Paulo Emílio Alvarenga, Pedro Roberto Prado, Rodrigo Dallacqua, Sérgio Azevedo, Tathyana Mello, Vera Lúcia Figueiredo e Weyder Santana pela constante disposição em ajudar e momentos de conversas e risada nos corredores;

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

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

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

A todos vocês que prestaram sua contribuição para a realização de mais esta importante etapa da minha vida, a minha sincera gratidão!

Emoções

Composição: Roberto Carlos e Erasmo Carlos

Quando eu estou aqui
Eu vivo esse momento lindo
Olhando pra você (s)
E as mesmas emoções
Sentindo...

São tantas já vividas
São momentos
Que eu não me esqueci
Detalhes de uma vida
Histórias que eu contei aqui...

Amigos eu ganhei
Saudades eu senti partindo
E às vezes eu deixei
Você me ver chorar sorrindo...

Sei tudo que o amor
É capaz de me dar
Eu sei já sofri
Mas não deixo de amar
Se chorei ou se sorri
O importante
É que emoções eu vivi...

São tantas já vividas
São momentos
Que eu não me esqueci
Detalhes de uma vida
Histórias que eu contei aqui...

Mas eu estou aqui
Vivendo esse momento lindo
De frente pra você (s)
E as emoções se repetindo
Em paz com a vida
E o que ela me trás
Na fé que me faz
Otimista demais
Se chorei ou se sorri...

***O importante
É que emoções eu vivi!***

RESUMO

“Aspectos reprodutivos de abelhas rainhas (*Apis mellifera* L.): influência do peso ao nascer no desempenho das colônias”

A rainha é a progenitora de todos os integrantes da colônia de abelhas (*Apis mellifera* L.) através da qual são passadas as características hereditárias para seus descendentes, sendo de extrema importância nos programas de melhoramento genético apícola. A qualidade de uma rainha é determinada principalmente por fatores intimamente relacionados à sua estrutura reprodutiva, o que é refletido tanto no peso destas, como na atividade de postura e na sua longevidade. Por esse motivo, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do peso ao nascer de rainhas de abelhas africanizadas sobre os aspectos relacionados ao comportamento reprodutivo em rainhas fecundadas naturalmente e inseminadas instrumentalmente, bem como acompanhar o desenvolvimento e produtividade das colônias descendentes destas rainhas. Os experimentos foram realizados no Apiário Experimental do Departamento de Genética da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP, onde foram estabelecidas doze colônias de abelhas africanizadas divididas em quatro grupos: seis colônias com rainhas fecundadas naturalmente e seis inseminadas instrumentalmente, subdivididas em três colônias com rainhas leves (< 180 mg) e três com rainhas pesadas (> 200 mg), onde o peso foi registrado imediatamente após as rainhas emergirem. As rainhas leves e pesadas, fecundadas naturalmente, foram acompanhadas simultaneamente em colméias de observação, visando analisar o comportamento de acasalamento dos dois grupos, enquanto que as rainhas inseminadas instrumentalmente, de ambos os pesos, foram fecundadas com 6 µl de sêmen. Após as fecundações, todas as rainhas foram estabelecidas em caixas tipo núcleo, montadas a partir de biomassa semelhante. Vinte dias após a introdução das rainhas nos núcleos estas colônias foram avaliadas quinzenalmente, por meio de mapeamento dos quadros a fim de estimar a porcentagem de ovos, cria aberta, cria fechada e pólen estocado, assim como foram realizados teste de viabilidade de cria. O acompanhamento do tempo de expansão populacional foi estimado através do período necessário para transferência das colônias das caixas tipo núcleo (com três quadros e alimentador) para caixas tipo ninho (com nove quadros e alimentador). Na análise dos dados relacionados ao comportamento de acasalamento observou-se que as rainhas leves realizaram maior quantidade de vôos nupciais que as rainhas pesadas, sendo que 56% das nove rainhas leves realizaram mais de um vôo nupcial, enquanto que apenas 33% das nove rainhas pesadas realizaram mais de um vôo nupcial, embora esta diferença não tenha sido estatisticamente significativa. Constatamos ainda diferença de um dia na idade de realização de vôos de acasalamento, sendo que as rainhas leves saíram um dia antes, com idade média de $6,11 \pm 1,53$ dias, enquanto que para as rainhas pesadas essa média foi de $7,09 \pm 4,59$ dias. Esta diferença também foi observada na idade em que as rainhas iniciaram a ovoposição, que foi de $7,77 \pm 1,86$ dias para rainhas leves e $9,88 \pm 3,02$ dias para rainhas pesadas. Com relação à duração dos vôos nupciais e horário em que foram realizados, ambos

os grupos tiveram resultados muito semelhantes. As comparações das médias dos dados gerados pelos mapeamentos realizados em colônias com rainhas fecundadas naturalmente e inseminada instrumentalmente, mostraram diferenças estatisticamente significantes relacionada área de postura de ovos ($P = 0,117$) e área de cria fechada ($P = 0,003$), onde as colônias descendentes de rainhas pesadas apresentaram desempenho superior em relação as colônias com rainhas leves. Este melhor desempenho é representado ainda pela maior taxa de viabilidade de cria das colônias com rainhas pesadas, dado estatisticamente significativo. Atrelado a este fato, as colônias com rainhas pesadas mostraram-se ainda mais rápidas na expansão populacional, que colônias com rainhas leves, onde foi verificada uma diferença média de 24 dias a menos, pelas colônias descendentes de rainhas pesadas, para a transferência para caixas maiores tipo ninho. Quando comparamos as rainhas fecundadas naturalmente e inseminadas instrumentalmente, foi observada diferença média de um dia na idade em que iniciaram a ovoposição, sendo que as rainhas fecundadas naturalmente iniciaram com $9,31 \pm 2,49$ dias e as rainhas inseminadas instrumentalmente com $10,43 \pm 0,51$ dias. Observou-se também diferença estatisticamente significativa apenas para a variável área de postura ($P = 0,004$), onde as colônias com rainhas fecundadas naturalmente apresentaram médias superiores, muito embora esta diferença não tenha afetado o desenvolvimento geral das colônias com rainhas inseminadas instrumentalmente, o que foi representado pelo tempo de expansão populacional, igual entre as colônias com rainhas de ambos os tipos de fecundação. Conclui-se que a utilização da técnica de inseminação instrumental de abelhas é uma metodologia viável para a aplicação em programas de melhoramento apícola, uma vez que não encontramos diferenças no desenvolvimento entre colônias descendentes de rainhas inseminadas instrumentalmente e descendentes de rainhas fecundadas naturalmente. Tomando-se por base os principais resultados obtidos no presente trabalho concluímos que a utilização da característica fenotípica “peso da rainha acima de 200mg” como uma característica importante a ser adotada em programas de seleção e melhoramento de abelhas.

ABSTRACT**“Reproductive aspects of Africanized queens (*Apis mellifera* L.): influence of virgin queen weight at eclosion on colony performance”**

The queen is the progenitor of all the honey bee colony members. The quality of a queen is determined mainly by factors closely related to her reproductive structure, including weight, egg-laying activity and longevity. We evaluated the influence of adult eclosion weight on the reproductive behavior of naturally mated and instrumentally inseminated Africanized queens, and we monitored the development and productivity of colonies headed by these queens. Twelve colonies of Africanized honey bees were divided into two groups: six colonies with naturally mated queens and six with instrumentally inseminated queens; there were three light queens (<180 mg) and three heavy queens (> 200 mg) in each mating type group; queen weight was recorded immediately after the virgin queens emerged. The virgin queens in the naturally mated queens group were introduced into observation hives, to compare the mating behavior of the light and heavy queens. The other six queens were artificially inseminated with 6 μ l semen. After the inseminations, all of the artificially inseminated queens were introduced into four standard Langstroth frame nuclei, which were established with similar numbers of bees and brood area. Beginning 20 days after the introduction of these queens, the colonies were evaluated twice per month, by mapping combs to estimate the areas containing eggs, open and closed brood and stored pollen; the viability of the brood was also investigated. We observed the time it took to outgrow the nucleus boxes (three combs plus an internal frame-size feeder); the colonies were then transferred to 10 frame hives (with nine combs and a feeder). We observed that the light queens made more nuptial flights than heavy queens; five of the nine light queens made more than one nuptial flight, whereas only three of the nine heavy queens took more than a nuptial flight, though this difference was not significant. We also observed a one day difference in the age of queen when she made her mating flights; the light queens went on their first mating flights at a mean age of 6.11 ± 1.53 days, while for the heavy queens the mean was 7.09 ± 4.59 days. A similar tendency was observed in the age at which the queens started oviposition, which was 7.77 ± 1.86 days for light queens and 9.88 ± 3.02 days for heavy queens. The two types of queens had similar duration and time of day of nuptial flights. Heavy queens (both artificially and naturally inseminated) produced significantly more eggs ($P = 0.117$) and more sealed brood ($P = 0.003$) than did light queens. Brood viability was significantly greater in the colonies headed by heavy queens. Colony expansion was also faster in colonies with heavy queens. It took an average of 24 days less for the heavy-queen colonies to expand to a point that they needed to be transferred from the four-frame nucleus hives to the 10-frame standard hives. Oviposition by the naturally mated queens began earlier (9.31 ± 2.49 days) than by instrumentally inseminated queens (10.43 ± 0.51 days). Naturally mated queens laid significantly more eggs ($P = 0.004$), although this difference did not affect the rate of colony population expansion. We concluded that the use of instrumental

insemination of honey bees is a viable methodology for use in bee breeding programs, since we found no differences in development between colonies with artificially versus naturally inseminated queens. We also concluded that queen weight above 200 mg is a useful characteristic to select for in Africanized honey bees.

Índice

Resumo:	ii
Abstract	iii
I. Introdução:	1
1.1. Sistema reprodutivo das rainhas	4
1. 2. Aspectos reprodutivos da rainha	8
1. 2. 1. Fecundação natural	8
1. 2. 2. Fecundação instrumental	13
1. 3. Desenvolvimento da colônia	16
1. 3. 1. Divisão do trabalho	16
1. 3. 2. Atividade da rainha	17
1. 3. 3. Ciclo de desenvolvimento da colônia	18
II. Objetivos:	21
1. Objetivo geral.	22
2. Objetivos específicos.	22
III. Materiais e Métodos:	23
3. 1. Local de estudo	24
3. 2. Produção das rainhas	25
3. 3. Avaliação dos aspectos envolvidos na fecundação natural	26
3. 4. Avaliação dos aspectos envolvidos na inseminação instrumental	28
3. 5. Acompanhamento do desenvolvimento das colônias	30
3. 6. Estimativa de viabilidade de cria	32
3. 7. Coleta dos dados climáticos	34
3. 8. Análise estatística	35
IV. Resultados:	36
4. 1. Avaliação dos aspectos envolvidos na fecundação natural	37
4. 1. 1. Número de vôos de reconhecimento	37
4. 1. 2. Número de vôos nupciais	39
4. 1. 3. Idade do primeiro vôo nupcial	40
4. 1. 4. Duração dos vôos de reconhecimento	42
4. 1. 5. Duração dos vôos nupciais	43
4. 1. 6. Horário dos vôos nupciais	44
4. 1. 7. Início da atividade de postura	46
4. 2. Avaliação dos aspectos envolvidos na inseminação instrumental	48
4. 3. Acompanhamento do desenvolvimento das colônias	51
4. 3. 1.1 Comparação entre as médias gerais	51
4. 3. 1.2 Comparação Par-a-Par	61
4. 3. 2. Estimativa de viabilidade de cria	63
4. 3. 3. Análises de correlação	65
4. 3. 4. Tempo de expansão colonial	68
4. 3.5. Avaliação da longevidade das rainhas	70
V. Discussão:	72
5. 1. Rainhas fecundadas naturalmente	73
5. 2. Rainhas inseminadas instrumentalmente	78
5. 3. Acompanhamento do desenvolvimento das colônias	81
VI. Considerações Finais:	90
VII. Referências Bibliográficas:	94

1. INTRODUÇÃO:

As colônias de abelhas africanizadas, *Apis mellifera*, são compostas basicamente por fêmeas divididas em duas castas, rainhas e operárias, possuindo ainda os machos, os zangões, cuja função centra-se na reprodução. A abelha rainha é a genitora de todos os integrantes da colônia, visto que é a única fêmea cujo sistema reprodutor apresenta-se perfeitamente desenvolvido. Entretanto, sua importância não é justificada apenas pelos genes que transferem para sua prole, como também pela contribuição direta que elas proporcionam à colônia. Esta contribuição é definida pela qualidade e quantidade de ovos que estas põem, assim como pelos feromônios que liberam, determinando alguns comandos, responsáveis pela homeostase dentro da colônia (Butler, 1960; Bienefeld & Pirchner, 1990). As operárias, não menos importantes, são responsáveis pela execução de todas as tarefas necessárias à manutenção e funcionamento da colônia, e em condições especiais realizam postura de ovos que darão origem a machos. Desta forma, o perfeito funcionamento de uma colônia depende da atividade conjugada entre rainha e operárias (Seeley, 1985; Laidlaw, 1998; Winston, 2003).

As rainhas são as progenitoras das colônias e através destas são passadas as características hereditárias que compõe o genótipo de todas as operárias. No entanto, as características de interesse produtivo não podem ser estimadas somente via rainha. O impacto da qualidade da progenitora tem de ser avaliado também por meio da sua prole, a qual executa as tarefas da colônia, ditando a produtividade desta. A estimativa da herdabilidade das características de interesse econômico à apicultura, bem como a adaptação e a aplicação das novas técnicas e modelos de melhoramento, até então desenvolvidas para outros modelos agrícolas, são importantes para o desenvolvimento da apicultura (Moritz, 1986; Moritz & Southwick, 1987; Engelsdorp & Otis, 2000).

A apicultura com abelhas africanizadas se encontra em um amplo processo de desenvolvimento no Brasil. Um bom exemplo centra-se no nordeste brasileiro, que aos poucos vem se tornando uma importante região produtora de mel e já participa significativamente das exportações brasileiras,

principalmente do mel orgânico (Gonçalves, 2004 a). No entanto, apesar do desenvolvimento registrado nos últimos anos existe ainda uma enorme carência de informações a respeito da biologia das abelhas africanizadas bem como o grande potencial produtivo gerado pelo uso sustentável destas no Brasil.

Segundo Gonçalves & Kerr (1970) a vida média das rainhas africanizadas em condições tropicais brasileiras é em torno de oito meses, o que significa que o apicultor terá as rainhas de suas colônias substituídas naturalmente, no mínimo uma vez ao ano. Em condições tropicais a vida fértil da rainha é reduzida, em função do ciclo contínuo de produção de cria durante todo ano, pois nestas regiões não existem diapausas, períodos cuja atividade de postura é diminuída, como ocorrem em colônias de regiões temperadas (Kerr et. al., 1970; Weaver, 1979). Entretanto, nos apiários brasileiros, em destaque no nordeste do país, pouco se investe na troca periódica das rainhas velhas, cuja produtividade é reduzida, por rainhas novas e vigorosas (Rf. Gonçalves, L. S., informação pessoal).

De acordo com Winston (1979), em condições naturais, as abelhas africanizadas tendem a utilizar larvas de maior idade para a produção de novas rainhas, resultando em rainhas menores e mais leves. Tal preferência seria em função do menor período de desenvolvimento e redução do tempo em que a colônia passa órfã até que a nova rainha esteja reprodutivamente ativa. Esta opção, entretanto, pode reduzir a qualidade destas rainhas e comprometer o desempenho das colônias.

Os apiários brasileiros, especialmente no nordeste do país, são compostos basicamente por colônias oriundas de capturas na natureza, provenientes de enxameações reprodutivas, as quais possuem rainhas velhas. Isso porque na enxameação reprodutiva, uma nova rainha é produzida, e esta permanece na colônia de origem, enquanto a rainha velha enxameia com parte da colônia a fim de fundar uma nova colônia. As rainhas velhas tendem a ser naturalmente substituídas, após o estabelecimento da nova colônia, havendo muitos fatores que influenciam no sucesso da fecundação natural da nova rainha. No entanto ocorrem também enxameações por abandono devido às

condições climáticas e ambientais adversas (temperatura, escassez de alimento e/ou água *etc.*), atingindo índices de abandono de até 50% no nordeste (Gonçalves, 2004 b). Se o apicultor não introduzir rainhas novas nestes enxames ou se houver problemas na substituição natural da rainha, o enxame pode ser enfraquecido e até extinto por falta de rainha (Teixeira, 1993; Silva, 1993; Silva *et.al.* 1996; Souza, 2001; Gonçalves, 2004 b, 2009).

Deixando de substituir as rainhas velhas por rainhas novas selecionadas, além de correr o risco de perder suas colônias, o apicultor perde ainda a oportunidade de melhorar a qualidade genética destas colônias. A troca natural das rainhas dentro de um mesmo apiário pode levar as novas rainhas a cruzarem com zangões de parentesco muito próximo, provenientes deste mesmo apiário, causando o endocruzamento ou acasalamento consanguíneo, o que pode reduzir viabilidade da colônia.

Uma grande quantidade de rainhas velhas num apiário pode afetar ainda a produtividade total das colônias pois, dependendo da idade, as rainhas começam a diminuir a produção de cria, em função do esgotamento dos gametas contidos na sua espermateca. Tal fato resulta em queda na taxa populacional de operárias, enfraquecendo a colméia e provocando grave declínio da produtividade (Pereira, *et. al.*, 2000). O desenvolvimento de pesquisas voltadas para a melhoria das características das rainhas, e conseqüentemente das colônias, bem como sua aplicação em programas de melhoramento genético, é fundamental para o avanço da apicultura brasileira, uma vez que visa o aperfeiçoamento da qualidade produtiva destas abelhas, em especial as abelhas africanizadas, subespécie amplamente difundida na America latina (Francoy, 2007).

1.1. Sistema reprodutivo das rainhas

O sistema reprodutor da rainha é composto por uma câmara vaginal que se conecta, por meio de um oviduto, a uma bolsa esférica, denominada de espermateca. Quando a rainha copula com os zangões, todo sêmen fica alojado nesse ducto, até que ocorra a completa migração dos espermatozoides para a espermateca. Este sêmen estocado permanece na espermateca por

toda a vida fértil da rainha, sendo utilizado gradativamente na fecundação dos ovócitos, não havendo reabastecimento em novas cópulas. Quando o sêmen se esgota, a colônia entra em processo de substituição natural e produção de uma nova rainha.

A maneira como o sêmen, dos vários zangões com os quais as rainhas acasalam, é estocado na espermateca suscita, até então, um intenso debate gerado por duas vertentes de opinião. A primeira defende que a migração dos espermatozóides e estoque do sêmen de cada zangão ocorre em forma de “pacotes”, ou seja, o sêmen dos zangões não se mistura durante a migração, assim como permanecem estocados em “pacotes” na espermateca (Taber, 1955; Martinho, 1979; Kerr, *et.al.* 1980; Almeida, 1985). Desta maneira, à medida que a rainha produz os ovos ela vai esgotando um “pacote” por vez, de forma que essa mudança de pacotes de espermatozóide pode ser detectada na mudança de fenótipo das operárias de tempos em tempos, comprovado por Martinho (1979). A segunda vertente defende que no momento da migração dos espermatozóides para a espermateca, o sêmen dos zangões mistura-se homogeneamente, sendo estocado desta forma (Page & Metcalf, 1982; Moritz, 1983; Page *et. al.*, 1984).

A estrutura reprodutiva da rainha comporta também dois ovários, onde desenvolvem-se 180 a 200 ovariolos, os quais originarão uma grande quantidade de ovos ao longo da vida das rainhas (Snodgrass, 1956). A vida reprodutiva das rainhas inicia posteriormente ao amadurecimento destes ovariolos, o que ocorre aproximadamente sete dias após estas emergirem. O completo desenvolvimento dos ovários das rainhas ocorre somente após acasalamento, quando se inicia a vitelogênese e a maturação dos oócitos, as células dos ovariolos que originarão os ovos (Patrício & Cruz-Landim, 2000; Tanaka & Hartfelder, 2004).

O peso da rainha encontra-se intimamente relacionado ao desenvolvimento dessas estruturas reprodutivas. Baseado nisso, estima-se que o peso da rainha ao nascer consiste em um possível indicador da qualidade reprodutiva bem como da longevidade destas, já que se supõe que rainhas com maior espermateca possuem uma maior longevidade em função do

armazenamento de uma quantidade superior de gametas, necessário a fecundação e produção de operárias (Winston, 2003).

Existem alguns fatores externos que influenciam no peso ao nascer das rainhas. A quantidade de alimento depositado nas realeiras durante o desenvolvimento larval, a idade das larvas que irão originar as rainhas e o tamanho das realeiras onde estas se desenvolvem, estão entre os principais fatores que influenciam no tamanho e peso das rainhas, além da influência genotípica (Eckert, 1934; Weaver, 1957; Woyke, 1971). De acordo com Weaver (1957), rainhas produzidas com larvas de operárias com 1 e 2 dias de idade, após eclosão, resultam em rainhas normais, com o sistema reprodutor perfeitamente desenvolvido, enquanto que rainhas produzidas com larvas a partir de 3 dias de idade podem apresentar indivíduos intermediários, com características de rainhas e de operárias, ao que denomina-se inter-casta. Woyke (1971) observou que a idade das larvas com as quais as rainhas eram produzidas estava diretamente relacionada ao peso das rainhas, ao emergirem, e conseqüentemente às suas estruturas reprodutivas, diâmetro e volume da espermateca e número de ovariolos. De acordo com este autor, cada dia incrementado na idade da larva utilizada resulta em diminuição do diâmetro e volume da espermateca assim como o número de espermatozóides estocados após fecundação.

Woyke (1967) em pesquisas com rainhas virgens européias pesando 207, 189, 172, 144 e 119 mg verificou que existe relação entre o peso das rainhas e o volume da espermateca, concluindo que as rainhas mais pesadas possuíam maior volume da espermateca do que as rainhas mais leves, 1,23 mm³; 1,15 mm³; 1,00 mm³; 0,89 mm³ e 0,62 mm³, respectivamente aos pesos. Quanto ao número de espermatozóides encontrados na espermateca de rainhas fecundadas naturalmente, este autor concluiu também, que as rainhas produzidas a partir de larvas mais novas (1 a 2 dias), que resultam em rainhas mais pesadas, apresentavam maior quantidade de espermatozóides na espermateca (média de 5,4 a 5,7 milhões de espermatozóides) do que rainhas produzidas de larvas com 3 e 4 dias de vida, mais leves (média entre 1,5 e 3,5 milhões de espermatozóides).

Muito embora, Corbella e Gonçalves (1982), não tenham encontrado correlações significativas entre o peso da rainha ao emergir e o volume da espermateca, estes autores verificaram certa tendência a um maior volume da espermateca em rainhas de maior peso. Medina (1993), em estudos com abelhas africanizadas, comparou três grupos de rainhas de pesos distintos (leves, médias e pesadas) em relação ao diâmetro e volume da espermateca, no qual encontrou correlação positiva significativa entre estas variáveis e o peso, de maneira semelhantes aos dados encontrados por Kahya e colaboradores (2008), com *A. m. caucasica*, corroborando com os dados de Woyke (1967; 1971).

Outra estrutura que estima-se que esteja relacionada ao peso da rainha são os ovariolos. Hoopingarner & Farrar (1959), em trabalho com *A. m. ligústica*, demonstraram que o peso das rainhas é controlado geneticamente e que existe relação entre o peso do corpo e o número de ovariolos. Já em trabalhos realizados no Brasil com abelhas africanizadas não foram identificadas correlações positivas significantes entre o peso das rainhas ao emergirem e o número de ovariolos para esta subespécie (Corbela e Gonçalves, 1982 e Medina, 1993). De forma semelhante, Kahya e colaboradores (2008), em trabalho com *A. m. caucasica*, não encontraram correlação positiva entre o peso total das rainhas e o peso dos ovários destas após acasalarem-se.

Kerr e colaboradores (1970), ao realizarem pesquisas comparativas, em Piracicaba – SP, com rainhas italianas e africanizadas fecundadas naturalmente, obtiveram vida média de 7,4 meses para as italianas e 8,4 meses para as africanizadas. Embora não tenham feito uma pesquisa direcional sobre o efeito do peso das rainhas na longevidade, estes autores sugerem que quanto maior o peso da rainha maior a sua longevidade e a partir de então, estes pesquisadores tem recomendado aos apicultores o uso de rainhas com mais de 200 mg, independente da raça.

As abelhas rainhas africanizadas normalmente são menores do que as européias, o que nos leva a crer que estas tenham uma menor longevidade. Entretanto, de acordo com Teixeira (1993) embora as rainhas européias

apresentem maior peso ao emergir, as africanizadas apresentam um maior ganho de peso após o acasalamento, possivelmente relacionada ao estoque de maior quantidade de sêmen. Observa-se que essa questão não se apresenta totalmente esclarecida, havendo a necessidade de melhores estudos sobre a relação peso das rainhas africanizadas e longevidade destas assim como a influência dessa variável sobre o desenvolvimento de suas colônias, para melhor aproveitamento produtivo desta subespécie.

1.2. Aspectos reprodutivos da rainha

1.2.1. Fecundação Natural

As rainhas de *Apis mellifera* acasalam-se no ar, durante vôos realizados logo no início de suas vidas. Quando o sistema reprodutor das rainhas está completamente maduro, aproximadamente sete dias após emergirem, estas voam em direção à zonas de congregação (espaços aéreos que reúnem uma grande quantidade de zangões) onde ocorrem as cópulas. A fecundação ocorre em um ou mais vôos nupciais, que são, geralmente, precedidos por vôos de reconhecimento de curta duração. (Ruttner, 1956; Oldroyd *et. al.*, 1995; Palmer & Oldroyd, 2000; Koeniger & Koeniger, 2007). Alguns dias após estes vôos, a rainha inicia a atividade de postura dos ovos e daí por diante suas atividades limitam-se, basicamente, ao interior da colônia (Hammann, 1957; Woyke, 1964).

Durante os vôos nupciais, as rainhas copulam com uma grande quantidade de zangões. Alguns autores estimam que esse número de cópulas, em, *A. mellifera*, pode variar de 17 a 18 machos (Adams *et. al.*, 1977; Lobo e Kerr, 1993; Franck *et. al.*, 2000), enquanto outros encontraram médias mais baixas, variando de 10 a 12 machos (Cornuet *et. al.*, 1986; Estoup *et. al.*, 1994). Entretanto, Kraus e colaboradores (2005) encontraram uma frequência de cópulas bastante superior, que variava de 7 até 40 cópulas por rainhas. Esta diferença de estimativa deve-se basicamente as variadas subespécies com as quais foram realizadas estas pesquisas, que apresentam algumas diferenças, no que diz respeito às dimensões das estruturas reprodutivas, e a capacidade de estoque de sêmen.

Este comportamento poliândrico das rainhas do gênero *Apis* há muito tempo desperta grande curiosidade entre estudiosos. Esta curiosidade centra-se principalmente no número de cópulas efetuadas e como se dá o controle, pela rainha, deste número. Atualmente existem duas hipóteses bem discutidas a respeito do processo evolutivo e de fixação deste comportamento. Uma diz respeito à limitação de esperma ou quantidade de sêmen que preenche a espermateca das rainhas e outra relaciona-se aos benefícios gerados pelo aumento da variabilidade genética entre as operárias da colônia, de acordo com o número de cópulas realizadas pelas rainhas (Palmer & Oldroyd, 2000).

Uma das primeiras propostas a respeito da hipótese de limitação de esperma foi abordada por Cole (1983) em sua revisão a respeito da evolução da poliandria. Esta teoria defende que a realização de muitas cópulas, ou alta poliandria, surge da necessidade de preencher ao máximo a espermateca das rainhas, principalmente em espécies cujos machos produzem quantidade reduzida de sêmen, garantindo maior longevidade e vigor das rainhas e das colônias (Frank, *et. al.*, 2002; Kraus *et. al.*, 2004). As rainhas acasalam-se durante um período muito breve, em seus primeiros dias de vida, e estocam o sêmen destas cópulas, utilizando-o até o fim da vida fértil (Winston, 1987). Em função disso, acredita-se que quanto maior a rainha, maior a quantidade de cópulas e de sêmen armazenado.

Baseando-se nessa teoria, a frequência de acasalamentos estaria relacionada a quantidade de sêmen que cada zangão proveria, bem como à capacidade de armazenamento de sêmen, e conseqüentemente à variação de tamanho das rainhas e sua espermateca (Tarpy & Page, 2000). Essa relação, tamanho *versus* frequência de acasalamentos mostra-se comum dentro do gênero *Apis*. Rainhas de *Apis dorsata*, conhecidas também como abelhas gigantes, são as que realizam mais cópulas por vôo de acasalamento, de 47 a 106 acasalamentos por rainhas desta espécie, sendo a maior a taxa de poliandria dentro do gênero (Moritz, *et. al.*, 1995; Oldroyd *et. al.*, 1996; Wattanachaiyinhcharoen, *et al.*, 2003). De maneira antagônica, *A. florea* e *A. andreniformis*, menores fêmeas reprodutivas do gênero, mencionadas muitas vezes como abelhas anãs, copulam com uma média de cinco zangões, cada

rainhas (Oldroyd *et. al.*, 1995; Oldroyd *et al.*, 1997), muito embora outros autores cogitem a possibilidade de que seja ainda menor o número de zangões com os quais estas rainhas copulam (Koeniger *et al.*, 1989). Acredita-se que esta relação entre o tamanho corporal e o número de cópulas também esteja presente nas variações que ocorrem em cada espécie do gênero *Apis*, sendo necessárias maiores investigações que sustente essa suposição.

Outra hipótese bastante discutida a respeito da poliandria no gênero *Apis* centra-se na diversidade genética da população e nos benefícios proporcionados por essa heterogeneidade, gerada pelas múltiplas cópulas, com zangões com diversas origens (Keller & Reeve, 1994; Schlüns *et. al.*, 2005). Estima-se que quanto maior o número de zangões com os quais as rainhas copulam, maior a diversidade de genótipos entre as operárias filhas. Seguindo esse pensamento, tais vantagens superariam os altos custos da realização de mais de um vôo de acasalamento, e em função destas vantagens este comportamento se fixou nas populações atuais. A cada saída, as rainhas estariam expostas a riscos como a predação, doenças sexualmente transmissíveis, ou ainda das rainhas se perderem, especialmente em apiários onde existe uma grande quantidade de colônias próximas uma das outras (Koeniger *et. al.*, 1994; Oldroyd, *et. al.*, 1997; Crozier & Fjerdingstad, 2001; Kraus *et. al.*, 2005).

Mais de doze hipóteses já foram geradas em torno do processo evolutivo e de fixação do múltiplo acasalamento, baseados nos benefícios gerados para colônia em função da diversidade genética (Palmer & Oldroyd, 2000; Oldroyd & Fewell, 2007). Dentre as mais aceitas e discutidas citam-se:

Aumento do desempenho da colônia:

Tal hipótese baseia-se na premissa de que uma maior heterogeneidade de genótipos entre as operárias confere a colônia uma maior diversidade de comportamentos na divisão de tarefas (Fuchs & Schade, 1994; Oldroyd *et. al.*, 1994; Fuch & Moritz, 1999). Na organização de tarefas em insetos sociais, cada operária seleciona qual atividade desempenhar baseando-se numa interpretação própria dos estímulos a respeito da necessidade da colônia. Essa

organização funciona a partir do princípio de que cada operária responde de maneira diferente a estes estímulos, sendo que algumas possuem uma maior percepção para determinada necessidade, enquanto outras são melhor estimuladas por outra carência da colônia. Isso impede que um grande contingente de abelhas respondam de maneira semelhante a um só estímulo e concentrem-se apenas em uma atividade, deixando de realizar outras tarefas também importantes. Essa resposta diferenciada aos estímulos da colônia é possibilitada pela existência de várias subfamílias, vários genótipos distintos, dentro de uma mesma colônia advindos do múltiplo acasalamento (Fewell, & Bertram, 1999; Fewell, 2003; Oldroyd & Fewell, 2007). Desta forma, a diversidade genética atua de maneira a diferenciar a intensidade das respostas de cada operária aos estímulos gerados pela colônia, fazendo com que esta responda melhor as flutuações do meio.

Maior flexibilidade e tolerância a mudanças ambientais:

A diversidade de genótipos entre as operárias, filhas de rainhas altamente poligâmicas, confere as colônias maior capacidade de resiliência frente às flutuações ambientais, como por exemplo a diminuição do fluxo de alimento causada pelas mudanças das estações do ano (Crozier & Page 1985; Oldroyd *et. al.*, 1992; Page *et. al.*, 1995).

Resistência a patologias:

A propagação de patógenos é muito comum dentro das colônias de abelhas em função da alta densidade populacional no interior destas (Sherman *et. al.*, 1988). Parasitas e patógenos são melhores adaptados a genótipos mais comuns, os quais são mais fáceis de invadir e se proliferar entre os demais membros semelhantes (Sherman *et. al.*, 1998). Uma vez que uma colônia apresenta grande diversidade de genótipos entre seus membros, essa heterogeneidade pode representar uma barreira para os patógenos que encontrarão maior dificuldade em se proliferar em genótipos novos (Kraus & Page, 1998).

Maior viabilidade da cria:

A poliandria reduz as chances de acasalamentos consanguíneos diminuindo as chances da ocorrência de machos diplóides (Page, 1980; Crozier & Page, 1985; Tarpy & Page, 2002). Abelhas do gênero *Apis*, são organismos haplo-diplóides, o que significa dizer que suas colônias são compostas por indivíduos diplóides (fêmeas, rainha e operárias) e haplóides (machos). O sexo destes animais é determinado por um locus que, em heterozigose, origina abelhas fêmeas viáveis, em hemizigose origina machos viáveis, mas em homozigose, resulta na formação de machos diplóides, inviáveis em condições naturais. Esta homozigose é letal, uma vez que estes organismos são ingeridos pelas operárias, num processo de canibalismo, ainda na fase larval, aproximadamente 72 horas após sua eclosão (Woyke, 1963; Page, 1980). A alta taxa de poliandria contribui, portanto na redução da probabilidade de acasalamentos consanguíneos e conseqüentemente na redução da cria inviável.

Uma vez que a rainha é a única fêmea reprodutiva dentro de uma colônia, observa-se que o perfeito desenvolvimento da colônia está intimamente relacionado à qualidade destas (Hatch *et. al.*, 1999). Este potencial é mensurado através dos aspectos referentes ao vôo nupcial (sucesso dos vôos, números de vôos, número de zangões com os quais acasalam ou ainda a quantidade de sêmen estocado), bem como suas características pós-fecundação (taxa de postura, qualidade e viabilidade da cria, ou ainda a quantidade de feromônios exalados, o que estimula as atividades das operárias) (Gilley *et. al.*, 2003). Uma vez que rainhas pesadas apresentam uma maior capacidade de estoque de sêmen, supõe-se que estas rainhas acasalem-se com maior número de zangões, logo aumentando a diversidade genética entre suas filhas. Entretanto, poucos trabalhos com abelhas africanizadas abordam a influência do peso das rainhas, não só com relação a sua maior qualidade reprodutiva, mas também com a qualidade das colônias que estas rainhas produzem.

1.2.2. Fecundação instrumental

A inseminação instrumental surgiu da necessidade de se controlar a procedência dos zangões com os quais as rainhas se acasalam, já que em fecundações naturais, as rainhas copulam no ar com um grande número de machos advindos de várias origens. Esse controle pode ser realizado através do método de cruzamentos em estações de fecundação, clareiras, ilhas ou culturas agrícolas, onde as áreas são controladas e isentas de zangões indesejáveis nos acasalamentos, mediante capturas com caixas iscas. Dependendo das condições ambientais e da topografia da região, estas técnicas podem apresentar certo nível de controle. Estes locais são completamente isolados, distantes de outros apiários, onde são colocadas colônias com vasta população de zangões de origem e características de interesse controladas (Camargo, 1972; Martinho, 1979). Entretanto essa técnica não isola totalmente a presença de zangões provenientes de colônias naturais que estejam no entorno dessas áreas, não permitindo o controle individual dos cruzamentos, tornando esta técnica menos precisa que a técnica de inseminação instrumental que garante 100% de controle nos acasalamentos.

Muitas pesquisas foram realizadas até que se chegasse à eficiente técnica de inseminação atual. Estima-se que as pesquisas a respeito da técnica de inseminação tenham iniciado por volta do ano de 1887 com o trabalho de MacLain, no entanto somente em 1927 essa técnica foi realizada com algum sucesso por Watson (Gonçalves, 1970, 1976; Cobey, 1983). A partir de então, vários estudos foram realizados visando o aprimoramento da técnica para utilização comercial desse procedimento. O precursor da técnica atual, amplamente utilizada, foi descrita Mackensen & Tucker (1970), o qual consiste numa câmara de contenção e de anestesia (onde a rainha é colocada) ganchos dorsal e ventral (para abertura da câmara vaginal), uma sonda (para manipular a válvula que encobre o oviduto) e por fim, uma seringa com o sêmen coletado (Mackensen, 1948, 1954; Laidlaw, 1949 a, b).

Hoje em dia, existem diversos modelos de aparelhos de inseminação com variadas modificações (Gonçalves, 1972, 1976; Mackensen & Tucker,

1970; Camargo & Gonçalves, 1971; Cobey *et. al.*, 1986; Kaftanoglu & Peng, 1986). No Brasil, essa técnica foi inicialmente introduzida pelo Professor Warwick E. Kerr, em meados de 1960, que utilizava o equipamento descrito por Laidlaw com a adaptação do modelo de seringa desenvolvida por Mackensen. A partir de 1970, o professor Lionel S. Gonçalves e colaboradores elaboram modificações da técnica visando melhoramento e praticidade da metodologia, tendo inclusive desenvolvido um novo instrumental baseado em parafusos micrométricos em vez das cremalheiras, bem como outras melhorias na técnica, como novas micro-seringas e uma nova mini-seringa para múltiplas inseminações (Gonçalves & Brites, 1970; Francoy & Gonçalves, 2004). Essa técnica consistiu em uma importante ferramenta utilizada no controle de acasalamentos em programas de melhoramento genético de abelhas.

No entanto, apesar do grande avanço das pesquisas em torno desse procedimento tecnológico, algumas inquietações ainda perduram, relacionadas a qualidade das rainhas fecundadas instrumentalmente, bem como das colônias gerada por estas. Por esse motivo, estudos vêm sendo realizados com objetivo de averiguar as possíveis diferenças entre rainhas fecundadas naturalmente e inseminadas instrumentalmente, sobretudo quanto à produtividade e desempenho da colônia e a longevidade das rainhas. Autores como Harbo & Szabo (1984; Harbo, 1986 a, b) encontraram um desempenho inferior das rainhas fecundadas instrumentalmente, especialmente no que diz respeito à área de cria, produtividade de mel e longevidade, quando comparadas a rainhas de fecundação natural. De acordo com estes autores, rainhas fecundadas naturalmente apresentavam maior ganho de peso, e este ganho de peso apresentou correlação positiva com a taxa de postura da rainha. Entretanto, a metodologia de inseminação utilizada por estes autores levanta questionamentos, especialmente relacionado à quantidade de sêmen, idade da rainha quando inseminadas e a forma como estas eram armazenadas, após a inseminação.

Já Woyke (1971) encontrou desempenho semelhante entre colônias descendentes de rainhas inseminadas instrumentalmente e de rainhas fecundadas naturalmente, embora tenha observado que as médias de área de

cria e produção de mel mostraram-se ligeiramente superiores em colônias com rainhas fecundadas naturalmente. Posteriormente, Pritsch & Bienefeld (2002), em mesma comparação, constatou similar desempenho das colônias de ambos os grupos de rainhas, corroborando aos dados de vários autores de diferentes regiões do mundo (Nelson & Laidlaw, 1988; Cobey, 1998, Al-Qarni *et. al.*, 2003).

Algumas pesquisas recentes, cujos métodos retificam algumas falhas de procedimento com relação à quantidade de sêmen, a idade com a qual as rainhas são inseminadas bem como manipulação destas após a inseminação instrumental, apontam desempenho superior de colônias descendentes de rainhas inseminadas instrumentalmente, relacionado principalmente a produção de mel de colônias com rainhas inseminadas instrumentalmente (Szalai, 1995; Cermák, 2004).

Esta diversidade de resultados chama atenção para o cuidado com a metodologia utilizada nas inseminações, a fim de se evitar que variáveis não controladas venham a interferir na avaliação do desempenho das rainhas. De acordo com Al-Qarni e colaboradores (2003), o desempenho das rainhas inseminadas instrumentalmente pode ser comprometido pela forma como estas são estocadas, como por exemplo, a utilização de bancos de rainhas (uma vez que o cuidado dispensado pelas operárias pode não ser igual para todas as rainhas estocadas), idade das rainhas quando são inseminadas, entre outros. Quando a idade da rainha é muito avançada implica em uma degeneração gradual de parte sistema reprodutor. A quantidade e qualidade do sêmen, introduzido nas rainhas, pode influenciar no início da ovoposição e na quantidade da cria após determinado período bem como na longevidade das rainhas. Quanto menor a quantidade de sêmen introduzido, menor será o tempo de ovoposição da rainha e conseqüentemente menor será a longevidade destas, uma vez que as operárias normalmente tendem a substituir a rainha quando esta diminui a postura.

1.3. Desenvolvimento da colônia

1.3.1. Divisão do trabalho

O funcionamento ou desempenho das colônias de abelhas ocorre por meio da divisão de tarefas entre as operárias, orientada de acordo com a idade destas, ao que se denomina polietismo etário. Dentre as atividades de manutenção do ninho, as de maior destaque são: a alimentação e cuidado da cria e da rainha, executada pelas operárias mais jovens; limpeza, construção e guarda, atividades realizadas por operárias com idade intermediária; e forrageamento, executado pela operárias mais velhas, ou campeiras. Para tal, estas operárias possuem morfologia, fisiologia e comportamentos característicos para cada faixa etária, que vão evoluindo e modificando-se à medida que estas operárias envelhecem (Seeley, 1982; 1985). Essas modificações podem ser observadas, por exemplo, no desenvolvimento das glândulas mandibulares das operárias na fase inicial da vida adulta, necessária para alimentação da rainha e da cria (Winston, 1987), tendo sua função modificada para a secreção de substâncias de alarme em operárias guardas, em abelhas mais velhas (Costa-Leonardo, 1980); desenvolvimento das glândulas cerígenas, em idades mais avançadas, indispensáveis para produção da cera usada na construção dos favos da colméia e consequente expansão desta (Cruz-Landim, 1963); e no desenvolvimento das glândulas hipofaríngeas, responsáveis pela produção da enzima invertase, necessária à conversão dos néctares florais em mel (Simpson, 1960; Simpson & Cherry, 1969).

A permuta temporal das tarefas envolve processos de desenvolvimento e reabsorção de glândulas, necessárias à execução destas atividades. Estas variações estão vinculadas a cascatas hormonais que funcionam de acordo com as necessidades e estímulos gerados pelo ambiente da colônia, o que incita as operárias a mudarem de tarefa. O hormônio juvenil é um hormônio diretamente ligado a divisão temporal do trabalho, cuja ação está diretamente relacionada às transições de tarefas (Robinson, 1992; Robinson & Vargo, 1997). Em abelhas nutrízes, os títulos de hormônio juvenil encontram-se nos maiores níveis na hemolinfa das operárias, enquanto que a sua biossíntese em

abelhas forrageiras é bastante reduzida, confirmando a importância desse hormônio na transição de tarefas dentro das colônias (Le Conte, *et. al.*, 2001).

Embora o polietismo etário baseie-se na evolução temporal das operárias para cada atividade, existe certa plasticidade em relação à idade com a qual as operárias realizam cada atividade (Michener, 1974). Essa flexibilidade envolve atrasos ou adiantamento das mudanças comportamentais e fisiológicas de acordo com as condições ambientais (Robinson, 1992). Essas condições dizem respeito às carências da colônia, ao fluxo de alimento e condições climáticas (Huang & Robinson, 1996). Por exemplo: se aumenta o fluxo natural de alimento e a demanda por forrageiras for alta, algumas operárias nutrizas podem começar a executar a atividade de coleta antes do tempo, da mesma forma que em caso de necessidade de mais abelhas nutrizas, operárias forrageiras podem vir a desempenhar esta atividade, mesmo com idade avançada. Desta forma, essa plasticidade permite que as colônias respondam de maneira mais eficiente as mudanças ambientais internas e externas da colônia (Robinson, 1992; Huang & Robinson, 1996).

1.3.2. Atividade da rainha

A rainha possui uma importância decisiva no desenvolvimento e crescimento da colônia. A qualidade de uma rainha é determinada por três fatores, de grande importância para o progresso das colônias: quantidade de ovos ovopositados, a qualidade da cria que originam e a influência ambiental e capacidade de comando destas. Os dois primeiros fatores são determinados pela alta atividade de postura de ovos e produção de ampla área de cria viável. Segundo Boch & Jamieson (1960), as rainhas mais pesadas possuem maior atividade de postura que rainhas mais leves, chegando à conclusão de que o peso destas fêmeas era significativamente correlacionado com a área de cria.

A quantidade de cria aberta, além de resultar em uma forte população, é responsável ainda por estimular as operárias ao forrageamento. O feromônio exalado pela cria, originado da glândula mandibular destas, consiste em um dos estímulos das operárias à coleta de pólen. De acordo com Pankiw e colaboradores (2004 b), a adição de sintéticos de feromônio de cria, estimula o

maior forrageio pelas operárias, assim como a diminuição da faixa etária com a qual as operárias iniciam a atividade de coleta de alimento, confirmando a ação indutora destes feromônios. Ainda de acordo com estes autores, o aumento da liberação do feromônio de cria estimula o maior consumo de pólen pelas operárias nutrizas para a alimentação das larvas. Estima-se que o maior fluxo de pólen na colônia, por causa dos feromônios da cria, seja canalizado para o aumento da biomassa da colônia. Tal evento ocorreria devido ao maior fornecimento de comida para as rainhas pelas nutrizas, o que estimularia uma maior taxa de postura e conseqüente aumento da cria e da população (Pankiw, 1998 a; Pankiw, 2004 a; Pankiw & Page, 2001; Le Conte, *et. al.*, 2001).

Sabe-se que as rainhas possuem uma grande quantidade de feromônios, produzido pela glândula mandibular. Dentre os compostos químicos presentes neste feromônio, o mais importante é o ácido 9-oxo-*trans*-2-decenoico, comumente chamado de “feromônio da rainha” (Carvalho *et. al.*, 2001). Acredita-se que o feromônio da rainha esteja envolvido no mecanismo de divisão temporal do polietismo, da mesma forma que os feromônios da cria (Hellmich *et. al.*, 1985). De acordo com Pankiw e colaboradores (1998 b), o feromônio da rainha funciona como um moderador das tarefas internas e externas de maneira a modelar as mudanças fisiológicas que ditam as permutas das atividades. Essa modulação ocorre por meio do controle dos títulos de hormônio juvenil na hemolinfa, envolvido na mudança das castas temporais (Robinson, 1992).

1.3.3. Ciclo de desenvolvimento da colônia

O progresso e expansão de uma colônia baseiam-se em um mecanismo cíclico (Figura 1), onde a rainha, através dos feromônios, pela produção da cria e da população, estimula a produtividade da colônia, enquanto as operárias através do desempenho das atividades de manutenção do ninho zelam pelo crescimento e progresso deste.

O funcionamento da colônia ocorre por meio de um sistema de “feed back” envolvendo a atividade da rainha e as condições ambientais internas e externas do ninho. Quando uma colônia é liderada por uma rainha de boa qualidade, com grande estoque de sêmen e alto nível poliândrico, espera-se uma alta taxa de ovoposição e cria viável, resultando em uma população vigorosa, que é a força de trabalho para manutenção e sucesso da colônia, assim como maior resiliência às alterações ambientais. Como já citado anteriormente, as operárias são estimuladas ao forrageio tanto pelos feromônios da rainha, quanto das crias. Logo, quanto maior a área de cria, maior o estímulo à atividade das forrageiras, ao mesmo tempo que, quanto maior o fluxo de alimento, maior será a alimentação à rainha, estimulando-a ainda mais para a produção de cria.

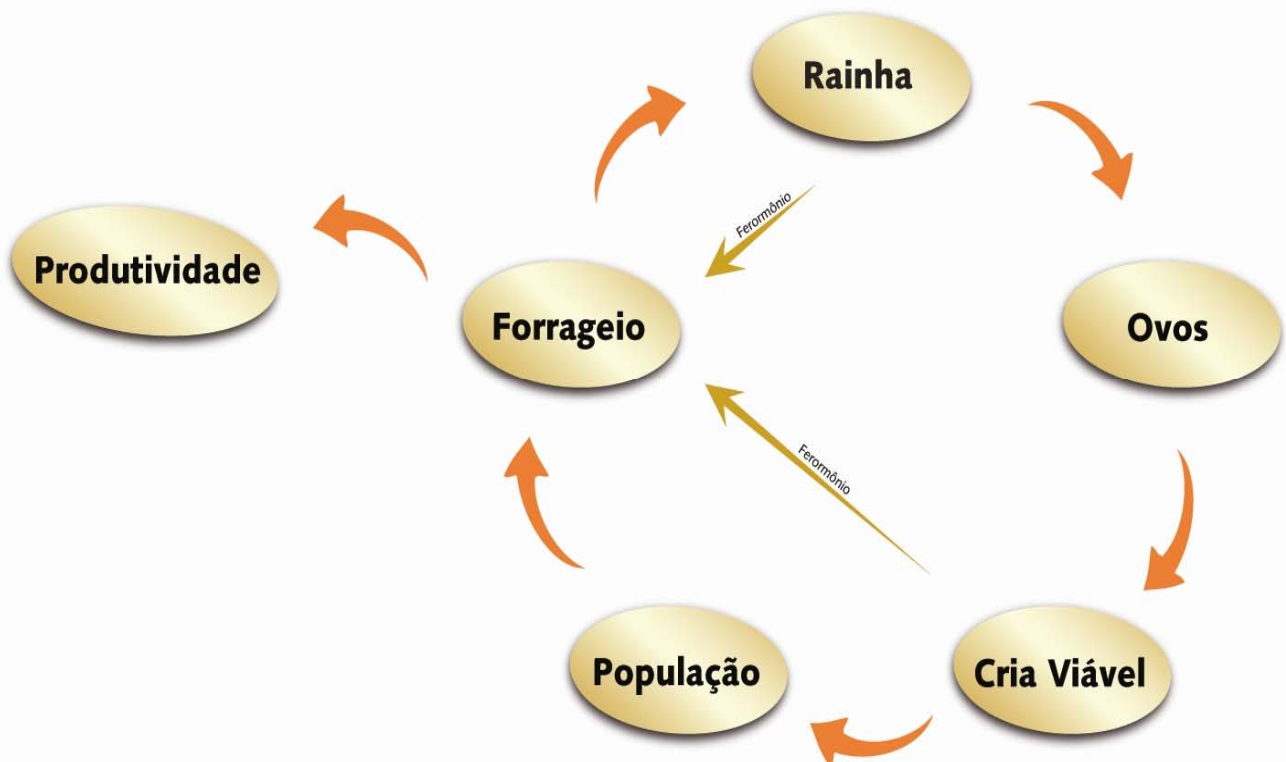


Figura 1: Ciclo de desenvolvimento de colônias de *Apis*.

A quebra ou enfraquecimento de qualquer um dos passos desse ciclo provoca uma reação em cadeia, afetando de forma significativa a produtividade da colônia. Quanto maior a população mais promissora será a colônia,

enquanto que, quanto menor a população, mais fraca ela se torna. Colônias fracas e com rainhas de baixa fecundidade, cujo contingente de operárias é muito baixo, terão seu desenvolvimento comprometido em dois sentidos: menor atividade forrageira, uma vez que possuem poucas operárias no ninho como um todo e, conseqüentemente, menor quantidade de cria, em função da quantidade reduzida de alimento, do número reduzido de abelhas nutrizas para alimentação e termorregulação da colônia, comprometendo o desenvolvimento da cria e futuro da colônia.

Desta forma, o perfeito entendimento da biologia e ciclo de desenvolvimento das colônias, adequado as condições ambientais de cada localidade onde se realiza a atividade apícola, é de extrema importância para o avanço e produção desta atividade. O aprofundamento nos estudos a respeito da influência do peso das rainhas virgens nas fecundações naturais e inseminações instrumentais, no desempenho e produtividade das colônias, bem como na longevidade destas, consiste em uma importante medida para a obtenção de linhagens de rainhas africanizadas com elevada qualidade reprodutiva voltadas aos programas de melhoramento genético de abelhas. Estima-se que desenvolvimento de linhagens de abelhas selecionadas comandadas por rainhas mais prolíficas e com grande longevidade auxiliará no aumento da produtividade das colônias, contribuindo assim na expansão e fortalecimento do agronegócio apícola no país.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Muito embora, diversas pesquisas venham sendo desenvolvidas a respeito das abelhas africanizadas, *Apis mellifera* L., no Brasil, fazem-se necessários ainda, estudos a respeito da biologia reprodutiva e potencial produtivo dessas abelhas, de forma a incrementar as pesquisas desenvolvidas até então e a sua aplicação em programas de melhoramento genético. Por este motivo, o presente trabalho tem por objetivo principal estudar a influência do peso ao nascer de rainhas de abelhas africanizadas sobre os aspectos reprodutivos destas, tanto em rainhas de fecundação natural, como em rainhas inseminadas instrumentalmente, assim como no desenvolvimento, na longevidade e na produtividade das colônias descendentes destas rainhas.

2.2. Objetivos específicos

- ✓ Comparar as características de vôos de rainhas leves (menores de 180 mg) e pesadas (acima de 200 mg);
- ✓ Comparar o início da ovoposição das rainhas de ambos os grupos de peso e que foram fecundadas naturalmente e inseminada instrumentalmente;
- ✓ Comparar parâmetros de desenvolvimento e produção de colônias descendentes de rainhas de cada um dos grupos;
- ✓ Comparar a taxa de viabilidade de cria descendente de ambos os grupos de rainhas;
- ✓ Comparar a longevidade das rainhas dos grupos estabelecidos;

3. MATERIAIS E MÉTODOS:

3.1. Local de estudo

O presente trabalho desenvolveu-se no apiário experimental do Departamento de Genética da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP e nos laboratórios integrados Apilab (Figura 2, A e B). Para tal foram utilizadas colônias de abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.) capturadas na natureza, para as análises das características de fecundidade e longevidade das rainhas bem como acompanhamento dos aspectos envolvidos no desenvolvimento das colônias descendentes por estas rainhas.

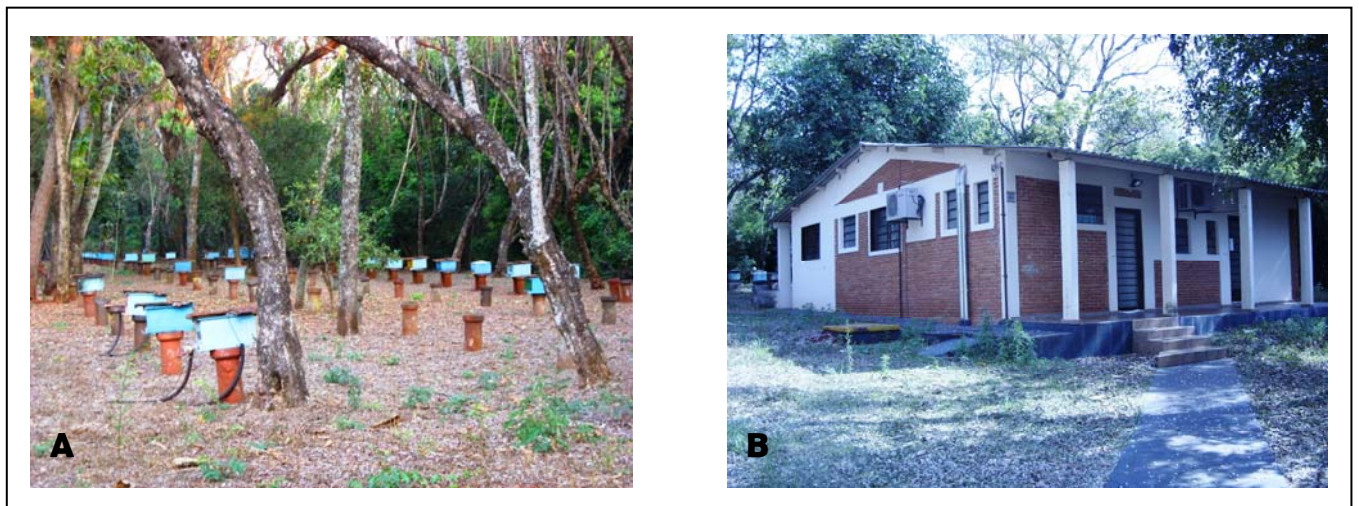


Figura 2: A) Apiário experimental do Departamento de Genética da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP. B) Instalações do laboratório Apilab, no mesmo Departamento.

3.2. Produção das rainhas

Foram produzidas rainhas de abelhas africanizadas pelo método de transferência de larvas de operária de 1 a 2 dias de vida (Figura 3), coletadas de quadros de crias de colônias instaladas no apiário experimental da USP de Ribeirão Preto. Visando minimizar a variação de genótipos entre as rainhas produzidas, foi tomado o cuidado de se realizar transferências sempre a partir de uma colônia matriz. Logo, todas as rainhas avaliadas neste trabalho são filhas de uma mesma rainha-mãe. O desenvolvimento das larvas transferidas foi realizado em Mini-recrias modelo Ribeirão Preto (Francoy *et. al.* 2005) (Figura 4).

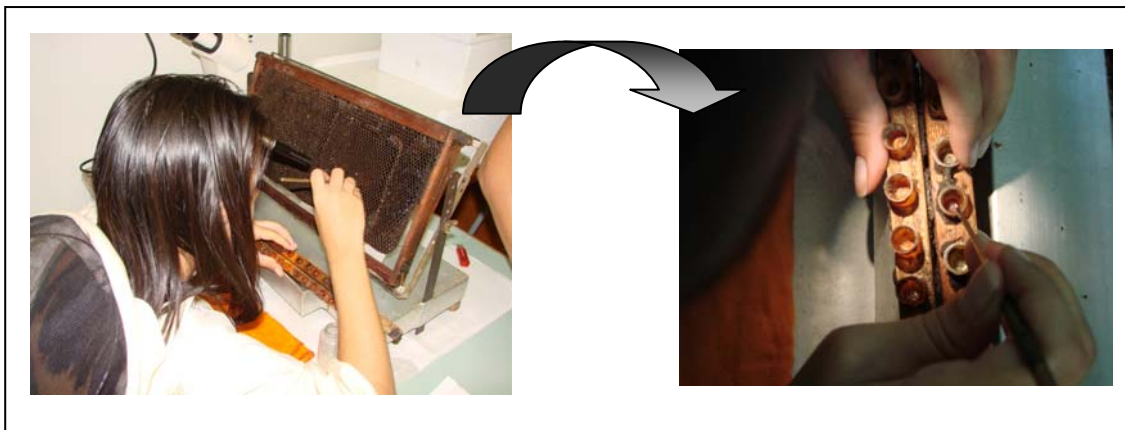


Figura 3: Transferência de larvas, de um dia de idade, de células de operárias para cúpulas artificiais.



Figura 4: Instalação das barras de transferências em recria modelo Ribeirão Preto para produção instrumental de rainhas.

Todas as rainhas foram pesadas. O peso de cada rainha foi registrado na ocasião da emergência das rainhas, representando o peso real destas. Após este período o peso passa a variar em função da perda de umidade por causa do enrijecimento do seu exoesqueleto.

Foram estabelecidos dois grupos de rainhas: rainhas leves, com peso abaixo de 180 mg e rainhas pesadas, com peso acima de 200 mg. Cada uma das rainhas utilizadas nos experimentos foi pesada e marcada com etiqueta especial, (Opalithplättchen) colorida e numerada, para melhor identificação e controle dos experimentos. As rainhas encaminhadas para a fecundação natural foram introduzidas em colméia de observação e as rainhas encaminhadas para a inseminação instrumental foram introduzidas em núcleos do tipo Langstroth, e após 7 dias eram transportadas para o laboratório e submetidas à inseminação instrumental.

3.3. Avaliação dos aspectos envolvidos na fecundação natural

Os acompanhamentos dos vôos de fecundação das rainhas foram realizados por meio de colméias de observação, de madeira com paredes de vidro e dotada de um corredor especial que liga a colméia com a saída desta (Figura 5). Este corredor, cujo teto é de vidro, permite uma melhor observação e controle da saída de abelhas para vôo.

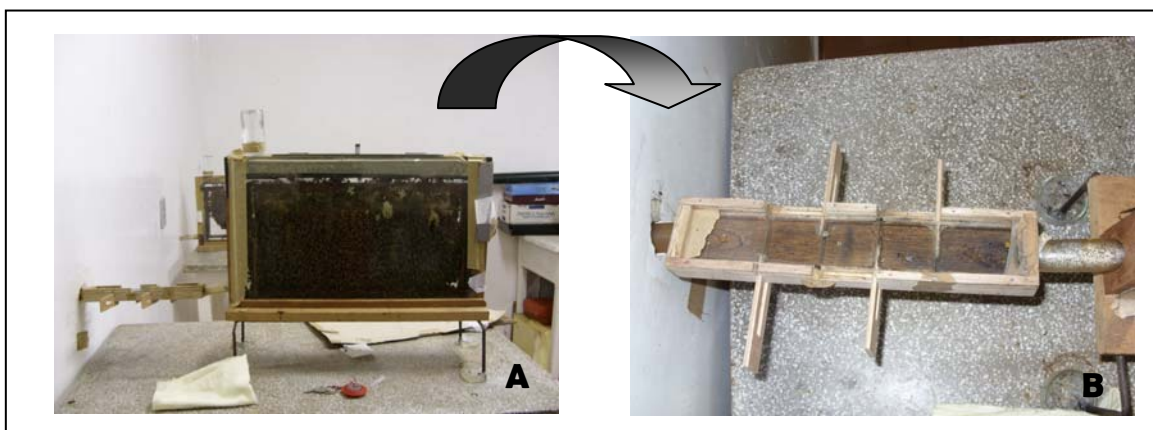


Figura 5: A) Colméia de Observação. B) Detalhe do corredor de controle de saída de abelhas.

Foram montadas duas colméias de observação simultaneamente, sendo que uma recebeu uma rainha leve e a outra uma rainha pesada. Estas colméias foram posicionadas em uma mesma direção, de forma que as saídas recebessem a mesma luminosidade. A introdução das rainhas nas respectivas colméias de observação foi realizada por meio de uma gaiola acoplada na parte superior da colméia de observação (Figura 6), onde as rainhas ficavam retidas por 48 horas, com o intuito de acostumar as operárias da colônia com o feromônio da nova rainha. Após esse período, as rainhas foram liberadas para dentro da colônia e a partir de então, iniciavam-se as observações e acompanhamento das atividades de vôo das rainhas até que estas iniciassem a postura de ovos, após a fecundação. As observações foram realizadas diariamente registrando-se os seguintes dados:

- ✓ Idade em que ocorrem os primeiros vôos;
- ✓ Frequência dos vôos de reconhecimento;
- ✓ Duração dos vôos de reconhecimento;
- ✓ Frequência dos vôos de fecundação;
- ✓ Duração dos vôos de fecundação;
- ✓ Horários em que ocorrem os vôos;
- ✓ Início da atividade de postura;

Foram constados como vôos de reconhecimento, vôos com curta duração (máximo de 10 minutos) e com retorno sem sinal de acasalamento (caracterizado pela presença de parte do sistema reprodutor masculino alojado na câmara de ferrão da rainha). Já os vôos nupciais foram identificados pela maior duração (acima de 10 minutos), bem como pela presença do sinal de acasalamento na câmara de ferrão da rainha ao retornar dos vôos. Ao todo foram realizados doze experimentos de acompanhamento da atividade de vôo de rainhas de ambos os grupos.

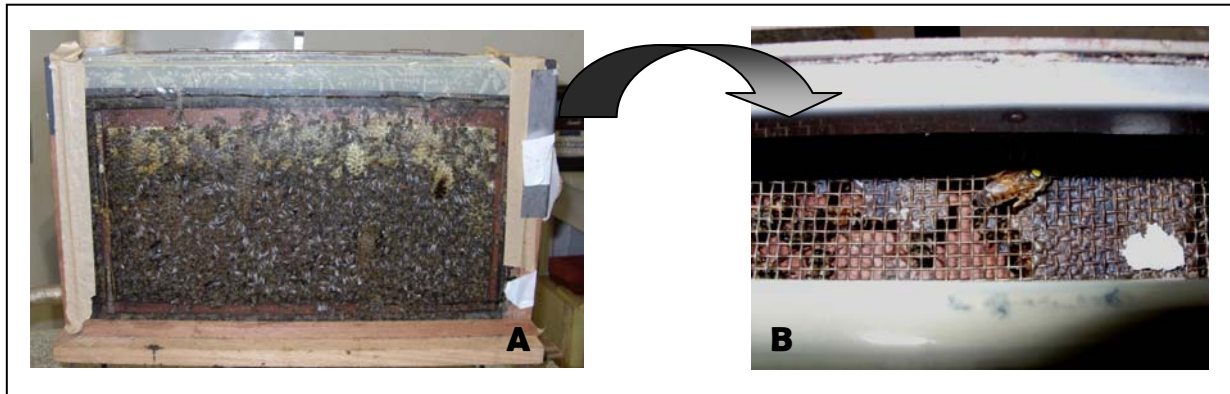


Figura 6: A) Colméia de Observação. B) Detalhe da gaiola de exclusão de rainha, localizada na parte superior da colônia.

3.4. Avaliação dos aspectos envolvidos na inseminação instrumental

Paralelamente ao estudo das rainhas fecundadas naturalmente, foi realizado o acompanhamento de rainhas inseminadas instrumentalmente, utilizando-se os mesmos grupos de peso estabelecidos no experimento anterior. Este acompanhamento teve o objetivo de mensurar a eficiência das inseminações instrumentais enquanto método de controle de acasalamentos, bem como estimar a possível influência deste procedimento no desenvolvimento e produção das colônias conduzidas por estas rainhas. Para tal, rainhas de cada grupo (leve e pesada) foram inseminadas instrumentalmente com 6 μ l de sêmen (aproximadamente 12 machos) de zangões de coletados aleatoriamente no apiário experimental da USP, sendo excetuada a colônia matriz que originaram as rainhas, a fim de evitar problemas endogamicos. A dosagem de sêmen foi estabelecida baseada em estudos já realizados cujos resultados apontaram igual desempenho entre rainhas inseminadas instrumentalmente e fecundadas naturalmente (Pritsch & Bienefeld 2002; Cobey 2007). Estas rainhas instrumentalmente inseminadas foram alojadas em núcleos do tipo Langstroth no apiário experimental para registros quinzenais do desenvolvimento das colônias em ambos os grupos de rainhas, e obtenção da taxa de longevidade destas. Vale ressaltar que as colônias nas quais foram introduzidas as rainhas inseminadas, eram dotadas de telas excludoras de rainhas, de forma a impedir que as rainhas tentassem realizar vôos de acasalamento. De acordo com Woyke (1992), rainhas

inseminadas instrumentalmente podem realizar vôos de acasalamentos e copular com outros zangões após a inseminação.

As inseminações instrumentais foram realizadas utilizando o modelo de aparelho desenvolvido por Gonçalves & Brites (1970), e método da mini-seringa desenvolvido por Francoy & Gonçalves (2004) (Figura 7).



Figura 7: A) Equipamento de inseminação. B) Aparelho de inseminação modelo Gonçalves & Brites (1970). C) mini-seringa modelo Francoy & Gonçalves (2004).

Após a introdução das rainhas inseminadas instrumentalmente nos núcleos, estas eram diariamente inspecionadas até que estas iniciassem a ovoposição, a fim de verificar da taxa de mortalidade das rainhas inseminadas por este método, bem como para se estimar a idade em que iniciaram a

atividade de postura, para posterior comparação com os dados provenientes de rainhas fecundadas naturalmente.

3.5. Acompanhamento do desenvolvimento das colônias

Foram acompanhadas doze colônias com rainhas africanizadas, sendo três rainhas leves e três rainhas pesadas fecundadas naturalmente, e três rainhas leves e três rainhas pesadas inseminadas instrumentalmente. Estas rainhas foram introduzidas em núcleos de fecundação do tipo Langstroth, compostos por três quadros internos de cera puxada (um com alimento, dois com cria e um alimentador interno tipo Dollittle), montados a partir de colônias já estabelecidas, de maneira que todas as rainhas iniciassem suas atividades a partir de uma biomassa semelhante. À medida que as colônias iam se expandindo, quadros com cera alveolada eram introduzidos, possibilitando a expansão destas.

Após as introduções das rainhas nos núcleos, foram realizados acompanhamentos do desenvolvimento das colônias em geral, por meio de inspeções quinzenais, utilizando-se o método de mapeamento de quadro (Brandeburgo, 1986; Palácio, 1991; Medina, 1993). Este procedimento baseia-se na utilização de uma moldura de madeira, dividida proporcionalmente em 36 quadros de áreas idênticas e cuja moldura, ao ser colocado sobre o quadro modelo Langstroth, permite a avaliação da área de postura de ovos, área de cria aberta e fechada e área de pólen (Figura 8). Para esta estimativa da área total do quadro ocupada por ovos, cria e pólen, cada quadrado era classificado de acordo com 5 níveis: 0%, 25%, 50%, 75% e 100% de área ocupada, estabelecendo-se o percentual total da área do quadro para cada item analisado. Foi avaliada também a presença ou não de realeiras e a ocorrência de doença, a fim de se verificar possíveis fatores adicionais que possam influenciar no desempenho das operárias e no desenvolvimento das colônias. Realizaram-se ainda, paralelamente ao mapeamento, inspeções quinzenais das colônias, *in loco*, para o registro de possíveis enxameações, presença da rainha e para se estimar longevidade das rainhas inseminadas instrumentalmente ou fecundadas naturalmente.

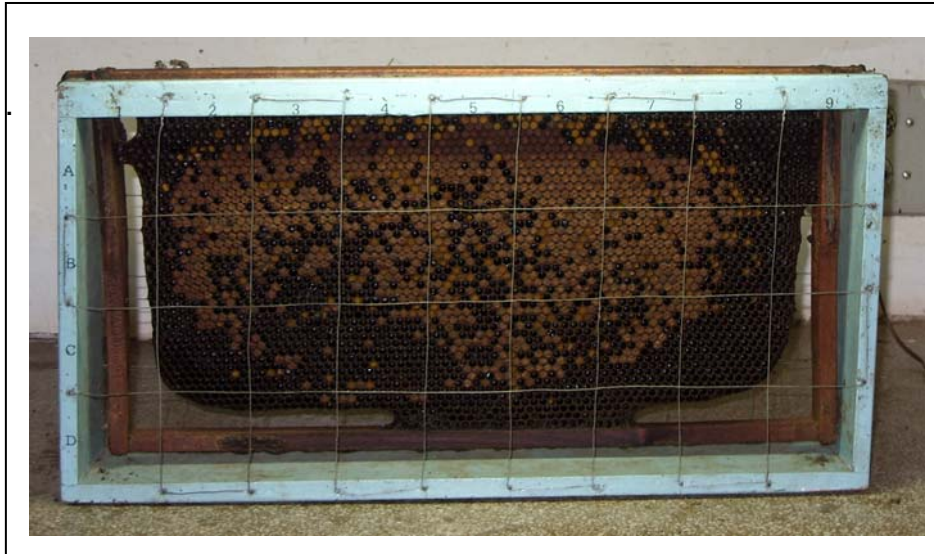


Figura 8: Moldura de madeira subdividida em 36 áreas idênticas por fio de arame, utilizado para se estimar a área de postura de ovos, área de cria aberta e fechada e área de estoque de pólen.

As coletas de dados por meio dos mapeamentos foram iniciadas vinte dias após a introdução da rainha fecundada nos núcleos, período necessário para substituição progressiva da biomassa inicial, com a qual as colônias foram estabelecidas, pela população e cria descendentes das rainhas acompanhadas. A partir desse período também foi registrado o tempo de evolução que cada colônia necessitou para expandir sua população, a ponto de ser necessário a transferência para caixas tipo ninhos (com 9 quadros e um alimentador interno) (Figura 9). Essa passagem de núcleo para ninho foi feita de maneira progressiva, onde os três quadros das colônias, assim como sua população, eram transferidos para o ninho com a adição de dois quadros de cera alveolada, colocados nas laterais. À medida que a colônia ia se expandindo, novos quadros de cera alveolada foram adicionados até chegar aos nove quadros. Essa expansão progressiva foi realizada de forma a prevenir, uma quebra da homeostase dentro da colônia com a súbita expansão do espaço, relacionada principalmente a manutenção da temperatura.

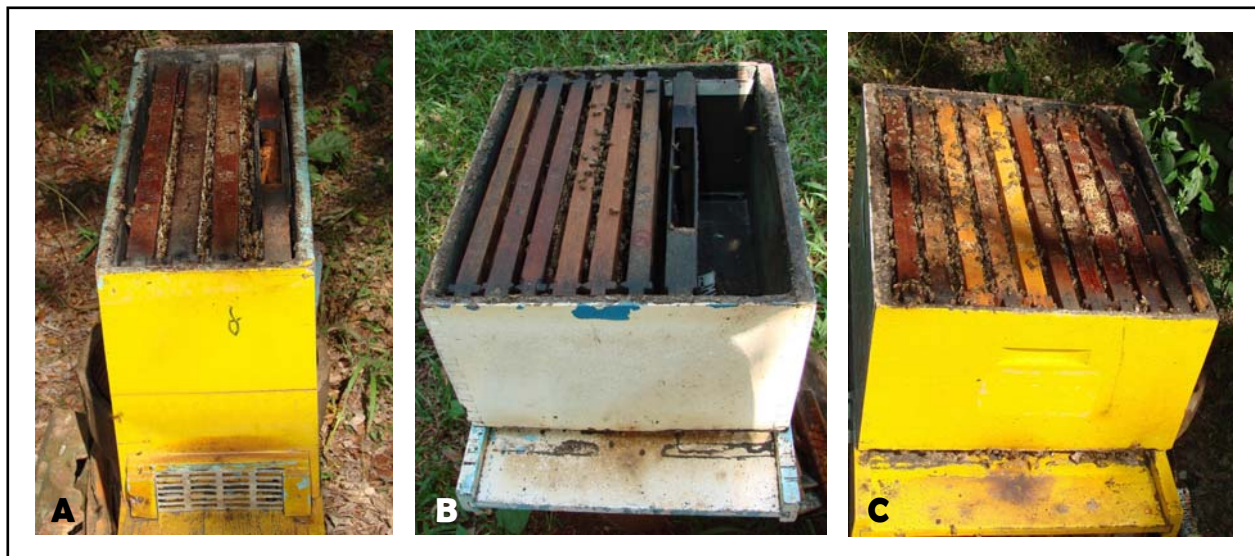


Figura 9: Demonstração da evolução progressiva das colônias de núcleo para ninho. A) Núcleo (3 quadros, mais alimentador interno) B) Ninho com colônias em expansão e alimentador interno. C) Ninho completo após total expansão (9 quadros, mais alimentador interno).

3.6. Estimativa de viabilidade de cria

A mensuração da viabilidade da cria foi realizada por meio do acompanhamento do desenvolvimento dos ovos postos pelas rainhas acompanhadas neste trabalho. Para tal foram realizadas posturas controladas, com quatro repetições realizadas a cada 15 dias. A postura controlada foi realizada através do confinamento de rainhas, por 24 horas, dentro de gaiolas feitas com telas excludoras de rainhas, fixadas sobre quadros com células de operárias vazias, os quais eram mantidos dentro das colméias para que fossem realizadas as posturas pelas rainhas (Figura 10, A e B).

Após 24 horas de aprisionamento, eram retiradas as telas excludoras, as rainhas liberadas dentro das colônias e os quadros, com a postura, eram mapeados, com auxílio de lâminas de poliéster transparentes, com a finalidade de marcar as células onde foram realizadas as posturas dos ovos (Figura 10 C). Após os mapeamentos, os quadros eram devolvidos às colônias de origem, sendo colocados no centro da colméia, onde a temperatura é maior, de forma a assegurar que a cria não fosse removida em função da temperatura mais baixa das regiões laterais da colméia (Figura 10 B). Dentro de uma colméia de *Apis*,

os favos que estocam alimento estão geralmente dispostos nas regiões mais laterais desta, enquanto que os favos contendo ovos, larvas, e cria operculada encontram-se dispostos nas regiões mais centrais, que apresentam maior temperatura, necessária para o perfeito desenvolvimento da cria. Depois de 72 horas estes quadros foram reavaliados, onde se confrontou o número de células que continham ovos, marcadas na folha transparente, com o número de células com larvas desenvolvidas de forma a estimar a taxa de cria viável de cada rainha e a proporção de cria removida nesse período. Este prazo foi estabelecido com base no trabalho desenvolvido por Woyke (1963).

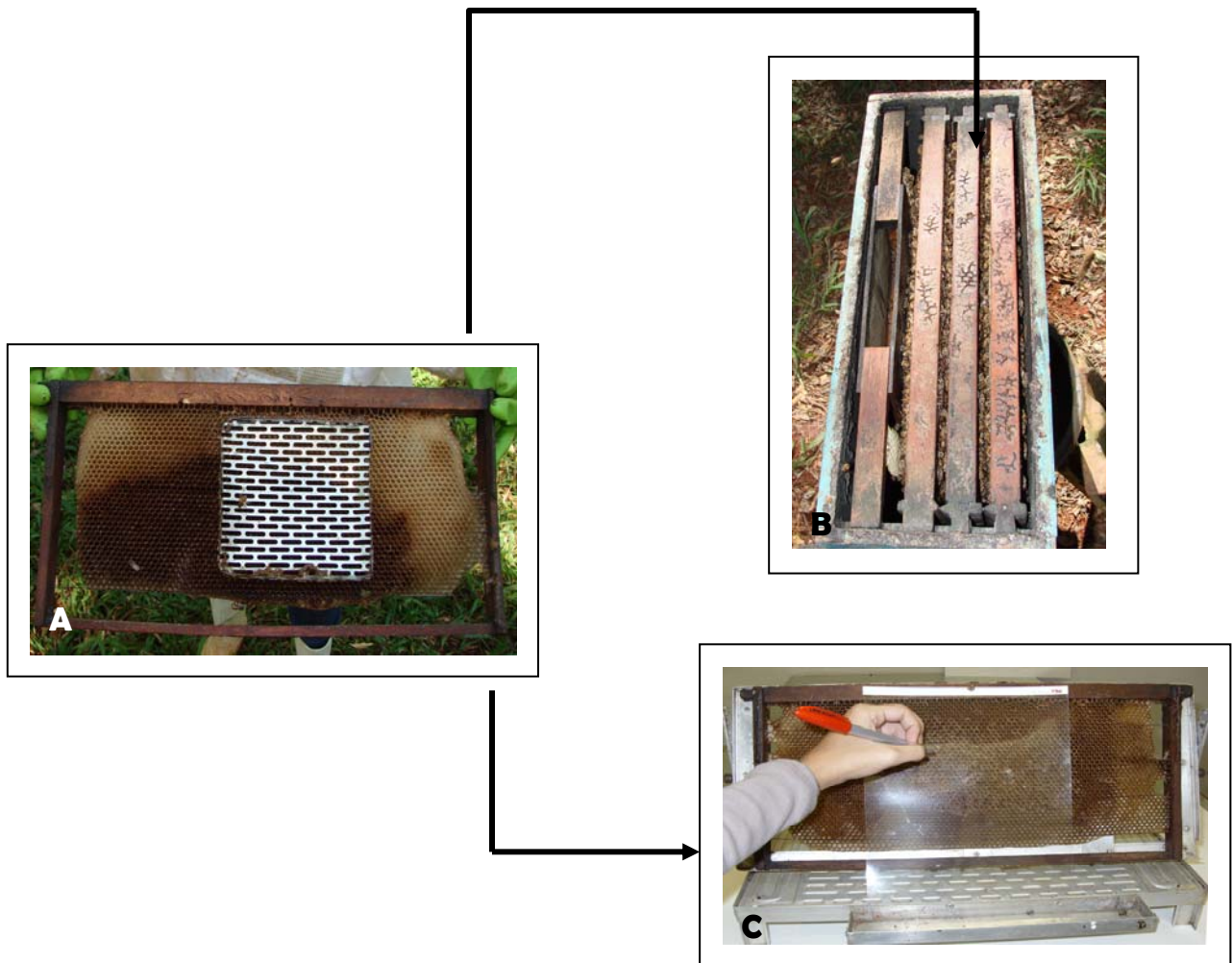


Figura 10: A) Quadro com gaiola de tela excludora de rainha, utilizada para realização da postura controlada de rainhas. B) Localização do quadro com postura controlada na colméia. C) Mapeamento dos ovos no quadro oriundos da postura controlada da rainha.

3.7. Coleta de dados climáticos

A coleta de dados meteorológicos do micro-clima do apiário experimental foi realizada por meio da Estação climatológica dos laboratórios integrados Apilab, modelo Vantage Pro 2 da Davis, instalada no local dos experimentos (Bugalho, 2009). Esta estação fornece dados com elevada precisão, registrados minuto a minuto, a respeito da velocidade e direção do vento, quantidade de chuva (mm), pressão barométrica, temperatura e umidade relativa do ambiente externo e interno, entre outros (Figura 11). Foram utilizados ainda dados provenientes da mini-estação climatológica, Modelo Oregon Scientific WMR 928, instalada no setor de Ecologia do Departamento de biologia da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, localizada à 730 metros do apiário onde foram conduzidos os experimentos.



Figura 11: Estação Climatológica, Modelo Vantage Pro 2, instalada no apiário experimental do Departamento de Genética da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP e laboratórios integrados Apilab. A) Parte externa instalada no apiário responsável por captar os dados climáticos. B) Computador responsável pela captação e armazenamentos dos dados coletadas pela estação;.

Os dados meteorológicos referentes aos meses de março a outubro de 2008, período em que a estação climatológica do Departamento de genética ainda não estava em funcionamento, foram coletadas da estação climatológica do aeroporto Leite Lopes, em Ribeirão Preto, disponível no site: <http://www.wunderground.com/history/airport>.

3.8. Análise estatística

Os resultados dos experimentos comparativos entre os dados de vôo, início de postura entre rainhas leves e pesadas e entre rainhas inseminadas natural e instrumentalmente foram analisados estatisticamente mediante comparação de médias pelo teste de significância (t-test) com auxílio do *Software* Sigma Stat for Windows versão 3.5.

Para as análises das áreas de postura de ovos, cria aberta, fechada e de estoque de alimento, as porcentagens estimadas de cada uma dessas variáveis foram convertidas em arco-seno e comparadas por meio do teste de significância (t-test), assim como os resultados da análise de viabilidade de cria.

Análises de regressão (Stepwise) e correlação (Spearman) foram realizadas entre os dados de área de estoque de alimento e áreas de postura de ovos, cria aberta e fechada, desenvolvidos no *Software* Sigma Stat for Windows versão 3.5.

4. RESULTADOS:

4.1. Avaliação dos aspectos envolvidos na fecundação natural

Os experimentos para a avaliação dos aspectos envolvidos na fecundação natural foram realizados nos períodos de setembro a dezembro de 2007, fevereiro a maio e setembro a novembro de 2008, período de clima tipicamente subtropical, caracterizado por temperaturas amenas e baixa pluviosidade. A avaliação e comparação dos aspectos envolvidos na fecundação natural em ambos os grupos de rainhas foi realizada por meio do acompanhamento dos seguintes parâmetros:

4.1.1. Número de vôos de reconhecimento

As rainhas de peso superior a 200 mg realizaram em média $1,4 \pm 1,51$ vôos de reconhecimento, enquanto que para as rainhas de peso inferior a 180 mg essa média foi de $0,67 \pm 0,71$ (Tabela 1), sendo que essa diferença não é estatisticamente significativa ($P = 0,382$), ao nível de 5%. Entretanto, ao analisar o gráfico (Figura 12), observa-se que as rainhas pesadas realizaram vôos de reconhecimento com mais frequência que as rainhas leves. Excetuando os experimentos 5 (rainha pesada), 6 e 9 (rainhas leves), nos quais suas respectivas rainhas morreram antes de iniciar o experimento, 55% das rainhas leves observadas realizaram vôo de reconhecimento, sendo que apenas 11% realizaram mais de um vôo. Já nos experimentos com rainhas pesadas, 60% das rainhas realizaram vôo de reconhecimento sendo que 40% das rainhas realizaram mais de um vôo.

Tabela 1: Número de vôos de reconhecimento (VR) realizados por rainhas leves (<180mg) e pesadas (>200mg).

Experimento	Pesadas	Leves
1	4	1
2	3	0
3	0	0
4	0	1
5	*	0
6	0	*
7	2	1
8	0	2
9	1	*
10	1	0
11	3	1
Média ± d.p.	1,4 ± 1,51	0,67 ± 0,71
Nº máximo	4	2
Nº mínimo	0	0
Mediana	1	1
Nº de testes	10	9

*Rainha morreu antes dessa etapa do experimento

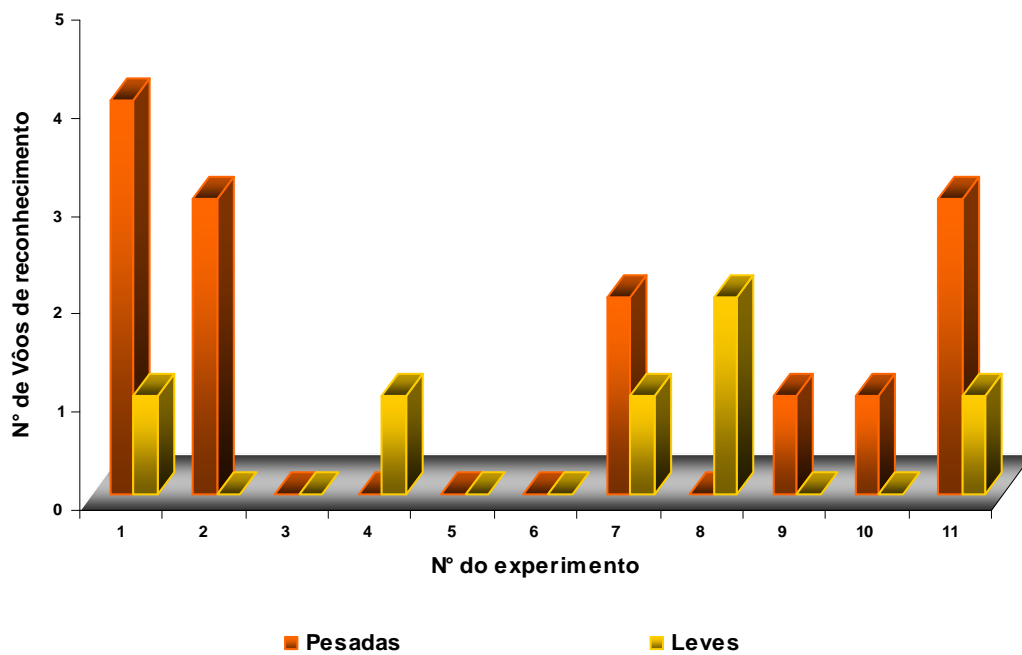


Figura 12: Comparação entre o número de vôos de reconhecimento realizados pelas rainhas leves (<180mg) e pesadas (>200mg).

4.1.2. Número de vôos nupciais

As rainhas pesadas realizaram em média $1,33 \pm 0,50$ vôos nupciais e as rainhas leves $1,56 \pm 0,53$ (Tabela 2), sendo que essa diferença não é estatisticamente significativa ($P = 0,204$), ao nível de 5%. Embora não se tenha detectado diferença estatisticamente significativa entre as médias de vôo nupcial, observou-se uma tendência a maior repetição dos vôos nupciais por rainhas mais leves. Excetuando-se os experimentos 4 e 5 (rainhas pesadas) e 6 e 9 (rainhas leves), nos quais as respectivas rainhas morreram antes dessa etapa do experimento, podemos observar no gráfico (Figura 13), que 56% das rainhas leves realizaram mais de um vôo nupcial, enquanto que apenas 33% das rainhas pesadas realizaram mais de um vôo.

Tabela 2: Número de vôos nupciais (VN) realizados por rainhas leves (<180mg) e pesadas (>200mg).

Experimento	Pesadas	Leves
1	2	1
2	1	1
3	1	2
4	*	2
5	*	1
6	2	*
7	1	1
8	1	2
9	2	*
10	1	2
11	1	2
Média \pm d.p.	$1,33 \pm 0,50$	$1,56 \pm 0,53$
Nº máximo	2	2
Nº mínimo	1	1
Mediana	1	2
Nº de testes	9	9

*Rainha morreu antes dessa etapa do experimento

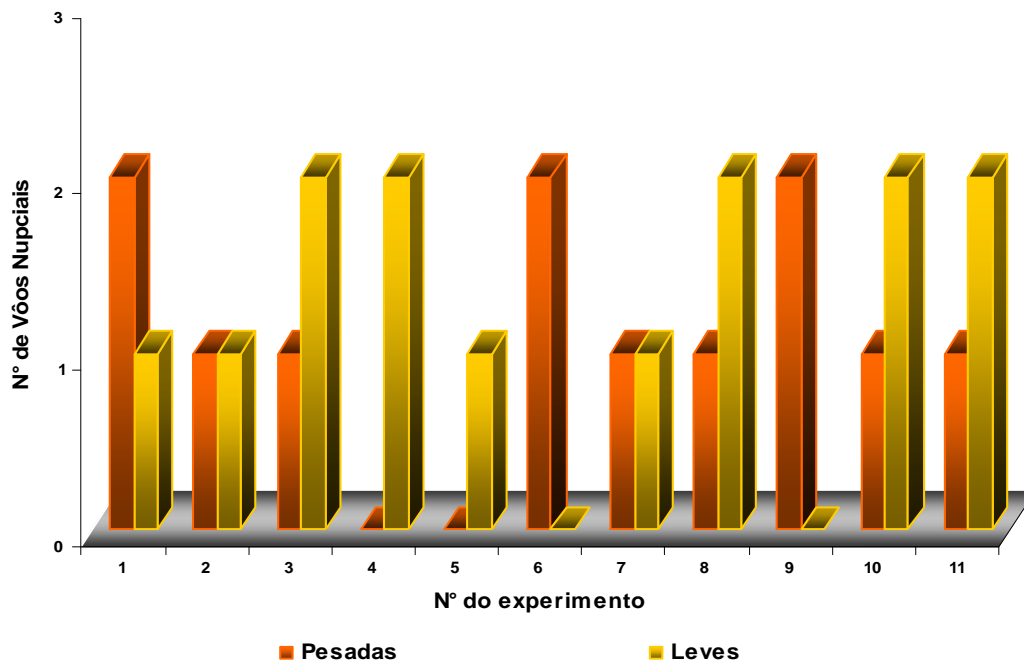


Figura 13: Comparação entre o número de vôos nupciais realizados por rainhas leves (<180mg) e pesadas (>200mg).

4.1.3. Idade no primeiro vôo nupcial

A média de idade para a realização do primeiro vôo nupcial foi $7,08 \pm 4,59$ dias para as rainhas pesadas e de $6,11 \pm 1,53$ dias para rainhas leves (Tabela 3), logo as rainhas pesadas saem em vôos mais tardiamente (Figura 14). Embora haja uma diferença média de um dia entre a idade de vôo das rainhas leves e pesadas, essa diferença não é estatisticamente significativa ($P = 0,376$), a nível de 5%.

Tabela 3: Idade (em dias) das rainhas leves (<180mg) e pesadas (>200mg) na ocasião da realização dos vôos nupciais.

Experimento	Pesadas	Leves
1	15	6
2	10	9
3	6	6
4	*	6
5	*	8
6	7	*
7	5	5
8	8	4
9	6	*
10	7	5
11	7	6
Idade Média \pm d.p.	7,09 \pm 4,59	6,11 \pm 1,53
Idade máxima	10	9
Idade mínima	5	4
Mediana	7	6
N° de testes	9	9

*Rainha morreu antes dessa etapa do experimento

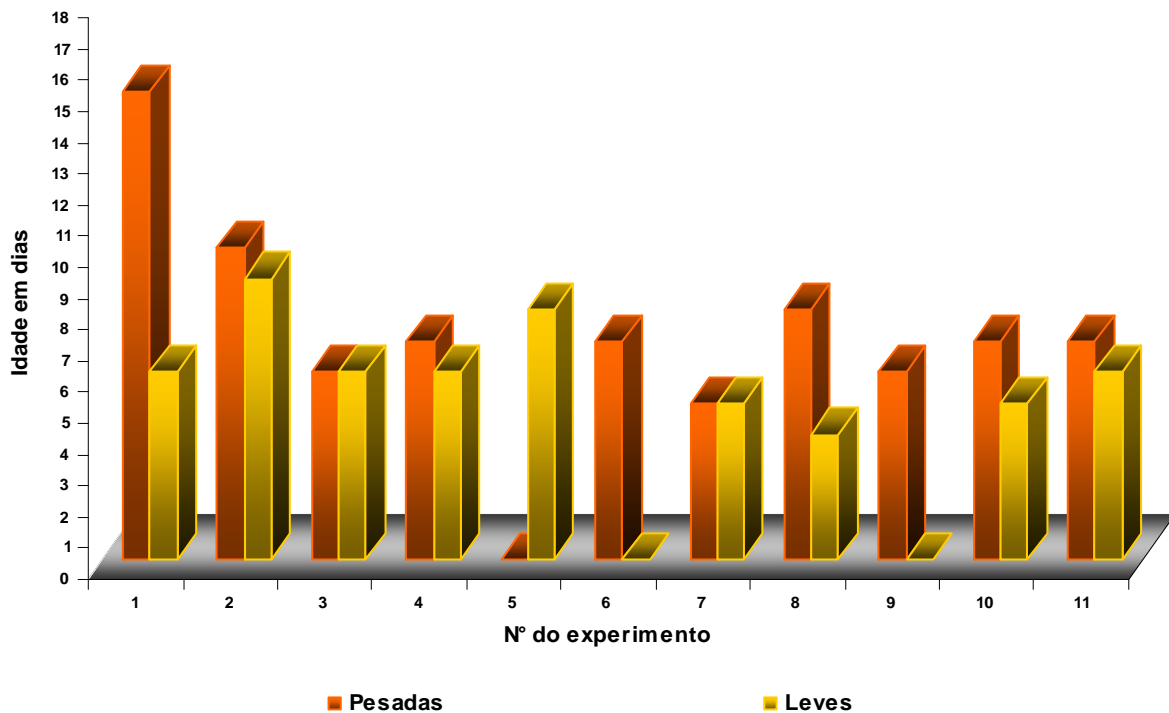


Figura 14: Comparação das idades (em dias) das rainhas leves (<180mg) e pesadas (>200mg) na ocasião do primeiro vôo nupcial.

4.1.4. Duração dos vôos de reconhecimento

A média de tempo gasto em cada vôo de reconhecimento realizado pelas rainhas pesadas foi de $2,41 \pm 1,61$ minutos e das rainhas leves foi $5,28 \pm 7,99$ minutos (Tabela 4). Esta diferença não é estatisticamente significativa entre os dois grupos de rainhas ($P = 0,813$). Embora a rainha leve do experimento número 1 tenha voltado de um vôo sem o sinal de acasalamento, esta rainha efetuou um vôo de 21 minutos e quarenta segundos, muito acima dos demais tempos gastos em vôo de reconhecimento, como pode ser observado na tabela 4, deixando em dúvida a realização ou não da cópula. Ao excluirmos esse dado da amostra, o tempo médio de vôo de reconhecimento das rainhas leves cai para $0,60 \pm 1,19$, portanto ficando com o tempo médio gasto inferior ao das rainhas pesadas, embora essa diferença não seja estatisticamente significativa ($P = 0,679$) a nível de 5%.

Tabela 4: Duração (em minutos) dos vôos de reconhecimento realizado pelas rainhas leves (<180mg) e pesadas (>200mg) no primeiro (T1), segundo (T2) e terceiro (T3) vôo.

Experimento	Pesadas			Leves	
	P (T1)	P (T2)	P (T3)	L (T1)	L (T2)
1	3,4	1,05	2,25	21,4	0
2	2,3	1,4	7,1	0	0
3	0	0	0	0	0
4	0	0	0	1,3	0
5	*	*	*	0	0
6	0	0	0	*	*
7	1,30	3,2	0	1,3	0
8	0	0	0	4,45	1,05
9	2,2	0	0	*	*
10	1,5	0	0	0	0
11	1,2	3	1,4	2,2	0
Tempo médio \pm d.p.	$2,41 \pm 1,61$			$5,28 \pm 7,99$	
Tempo máximo	7,1			21,4	
Tempo mínimo	1,05			1,05	
Mediana	2,2			1,75	
Nº de testes	10			9	

*Rainha morreu antes dessa etapa do experimento.

0 corresponde a não realização do vôo de reconhecimento.

4.1.5. Duração dos vôos nupciais

A duração média total dos vôos nupciais em rainhas pesadas foi de $20,53 \pm 5,05$ minutos, enquanto que para as rainhas leves esta média foi de $21,29 \pm 4,13$ minutos (Tabela 4), sendo essa diferença não estatisticamente significativa ($P = 0,784$) a nível de 5% (Figura 15). Quando estes dados são separados em primeiro e segundo vôo (T1 e T2), essa diferença também não se mostra estatisticamente significativa nem no primeiro vôo ($P = 0,955$) nem no segundo vôo de acasalamento ($P = 0,451$). A média de tempo no primeiro vôo nupcial para rainhas leves foi de 21,16 minutos e no segundo vôo 21,40 minutos enquanto que nas rainhas mais pesadas o tempo médio de vôo foi de 20,00 minutos em ambas as situações.

Tabela 5: Duração (em minutos) dos vôos nupciais realizado pelas rainhas leves (<180mg) e pesadas (>200mg), no primeiro (T1) e segundo (T2) vôo.

Experimento	Pesadas		Leves	
	P (T1)	P (T2)	L (T1)	L(T2)
1	16,2	19,43	12	0
2	18,28	0	20,32	0
3	28,25	0	14,5	20,4
4	*	*	26,4	21,37
5	*	*	23,15	0
6	28,1	21,4	*	*
7	15,58	0	18,3	0
8	15,3	0	24,47	25,5
9	14,4	20,1	*	*
10	22,1	0	24,3	18,2
11	27,3	0	23,4	20,2
Tempo médio \pm d.p.	21,13 \pm 4,99		21,29 \pm 4,13	
Tempo máximo	28,25		26,4	
Tempo mínimo	14,4		12	
Mediana	20,75		21,28	
Nº de testes	9		9	

*Rainha morreu antes dessa etapa do experimento

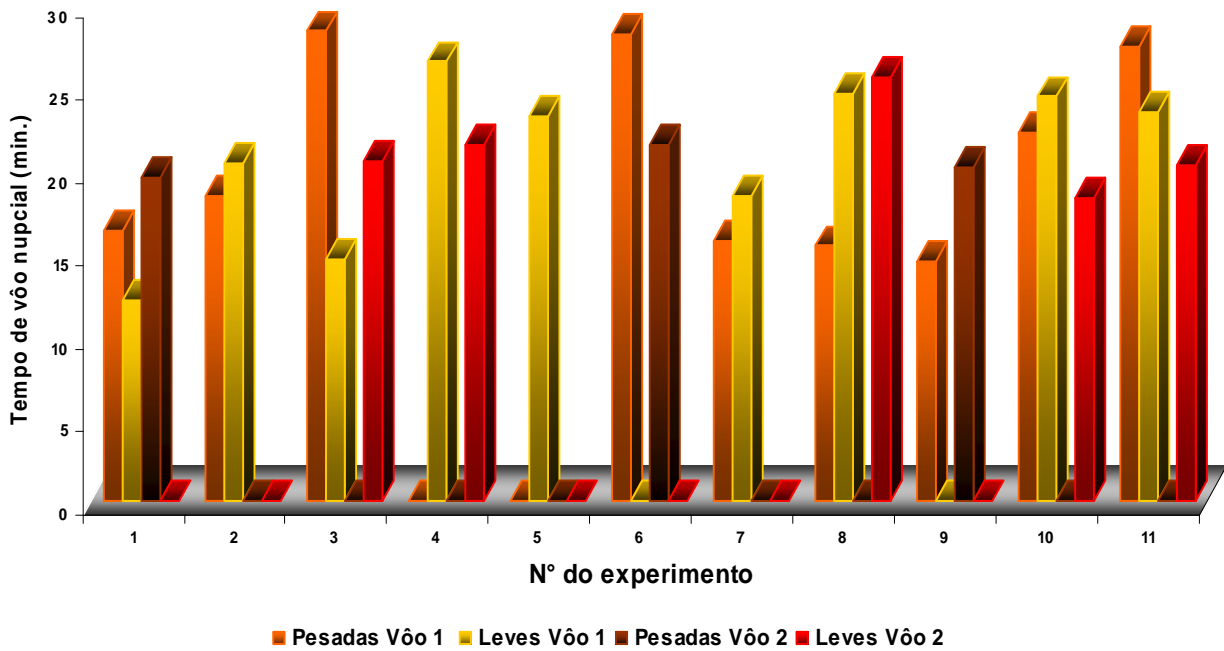


Figura 15: Comparação entre a duração dos vôos de acasalamento realizados por rainhas leves (<180mg) e pesadas (>200mg).

4.1.6. Horário dos vôos nupciais

A maior incidência total de vôos nupciais se deu por volta das 15:00 e 15:45 horas da tarde para as rainhas pesadas, e 16:45 e às 17:00 horas da tarde para as rainhas leves (Tabela 6). Não foi identificada diferença estatisticamente significativa em relação ao horário em que foram realizados os vôos nupciais entre rainhas leves e pesadas ($P = 0,318$). Quando se separa os dados do primeiro e do segundo vôo, a incidência destes em cada horário também não apresentam diferenças significativas tanto no primeiro vôo ($P = 0,322$), quanto no segundo ($P = 0,514$), sendo que ambos os grupos realizaram os vôos em períodos similares do dia (Figura 16).

Tabela 6: Horário dos vôos nupciais realizados pelas rainhas leves (<180mg) e pesadas (>200mg).

Intervalo de tempo	Pesadas	Leves
14:30 - 14:45	1	0
14:45 - 15:00	0	1
15:00 - 15:45	3	2
15:15 - 15:30	1	1
15:30 - 15:45	1	1
15:45 - 16:00	2	1
16:00 - 16:15	1	0
16:15 - 16:30	0	0
16:30 - 16:45	0	0
16:45 - 17:00	2	3
17:00 - 17:15	2	2
17:15 - 17:30	0	0
17:30 - 17:45	1	0
17:45 - 18:00	1	0

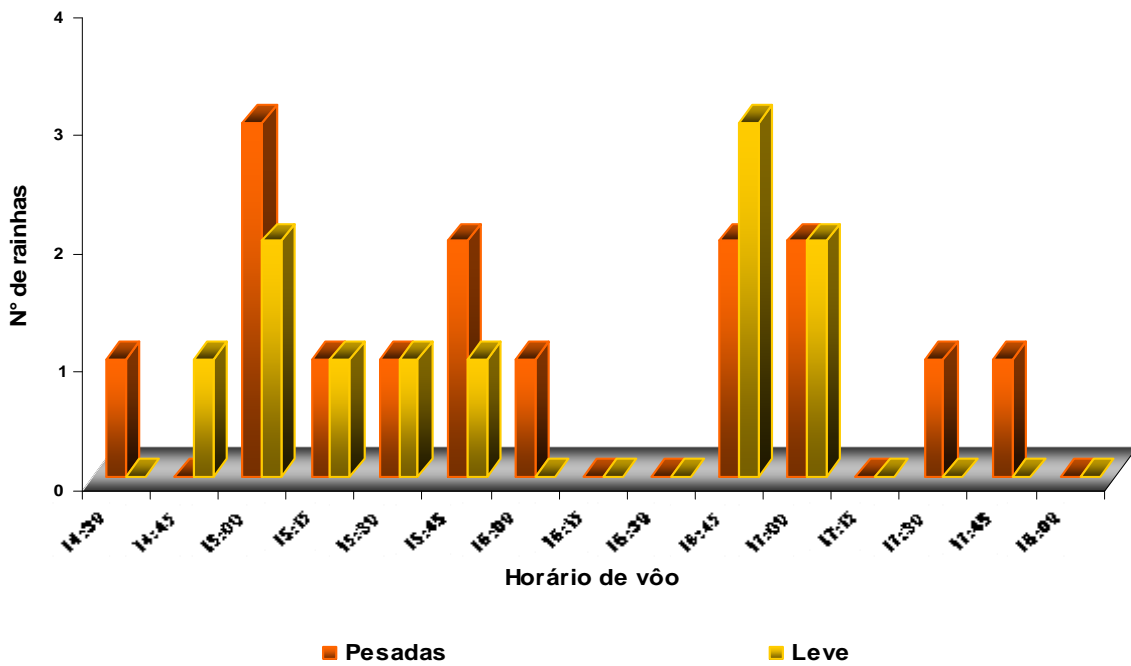


Figura 16: Comparação entre os horários de saída para realização dos vôos de acasalamento realizados por rainhas leves (<180mg) e pesadas (>200mg).

4.1.7. Início da atividade de postura

A idade média das rainhas, fecundadas naturalmente, quando iniciaram a ovoposição foi de $9,88 \pm 3,02$ dias para as rainhas pesadas e de $7,77 \pm 1,86$ dias para as rainhas leves (Tabela 7). Esta diferença não mostrou-se estatisticamente significativa ($P = 0,249$), assim como o tempo para início da atividade de postura para ambos os grupos de rainhas após o último vôo nupcial ($P = 0,500$), a nível de 5% de significância. Todas as rainhas pesadas, observadas, iniciaram a ovoposição dois dias após o último vôo de acasalamento, enquanto que as rainhas leves apresentaram uma ligeira variação, sendo que 67% iniciaram a ovoposição dois dias após o último vôo de acasalamento e 33% começaram a ovopositar um dia após o último vôo (Figura 17).

Tabela 7: Idade (em dias) das rainhas leves (<180mg) e pesadas (>200mg), de fecundação natural, quando iniciaram atividade de postura.

Experimento	Pesadas	Leves
1	17	8
2	12	11
3	8	8
4	*	7
5	*	10
6	9	*
7	7	7
8	10	5
9	8	*
10	9	6
11	9	8
Idade média \pm d.p.	$9,88 \pm 3,02$	$7,77 \pm 1,86$
Idade máxima	17	11
Idade mínima	7	5
Mediana	9	8
Nº de testes	9	9

*Rainha morreu antes dessa etapa do experimento

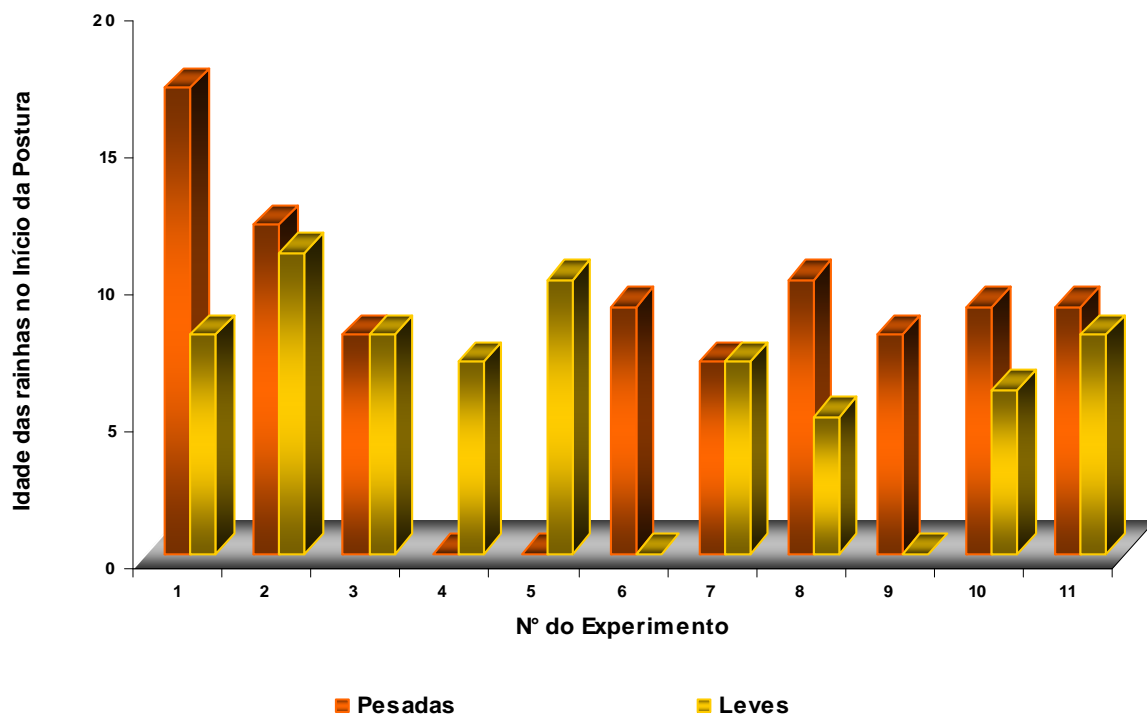


Figura 17: Comparação entre as idades das rainhas leves (<180mg) e pesadas (>200mg), de fecundação natural, quando iniciaram atividade de postura.

4.2. Avaliação dos aspectos envolvidos na inseminação instrumental

Ao todo, foram inseminadas 17 rainhas de ambos os grupos de peso, tendo uma taxa de sucesso de 70,5%, sendo que as rainhas inseminadas foram aceitas na introdução nos núcleos e sobreviveram por um período superior a um mês em plena atividade reprodutiva. Das 5 rainhas com as quais não obtivemos sucesso, 3 não foram aceitas no momento da introdução, onde 2 eram rainhas leves e 1 pesada, que foram atacadas pelas operárias poucos dias após a introdução, e 2 morreram, por motivos desconhecidos, em menos de um mês após a inseminação, sendo ambas rainhas pesadas.

A idade média das rainhas, inseminadas instrumentalmente, quando iniciaram a ovoposição foi de $10,62 \pm 0,51$ dias para as rainhas pesadas e de $10,33 \pm 0,50$ para as rainhas leves (Tabela 8). O tempo decorrido para início de postura variou de 3 a 4 dias, após inseminação para ambos os grupos de peso, sendo que não foi detectada diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos ($P = 0,250$). Entretanto observa-se uma tendência maior das rainhas pesadas iniciarem a atividade de postura mais tardiamente, com 11 dias de idade. Como podemos conferir no gráfico (Figura 18), 62,5% das rainhas pesadas (5 rainhas) iniciaram a ovoposição com onze dias de idade, enquanto que apenas 33% das rainhas leves (3 rainhas) ovopositaram após esse período.

Tabela 8: Idade das rainhas leves (<180mg) e pesadas (>200mg), de fecundação instrumental, quando iniciaram atividade de postura.

Experimento	Pesadas	Leves
1	11	10
2	10	10
3	11	11
4	10	10
5	10	10
6	11	10
7	11	11
8	*	10
9	11	11
Idade média \pm d.p.	$10,62 \pm 0,51$	$10,33 \pm 0,50$
Idade máxima	11	11
Idade mínima	10	10
Mediana	11	10
N° de testes	8	9

*Rainha morreu antes da inseminação instrumental.

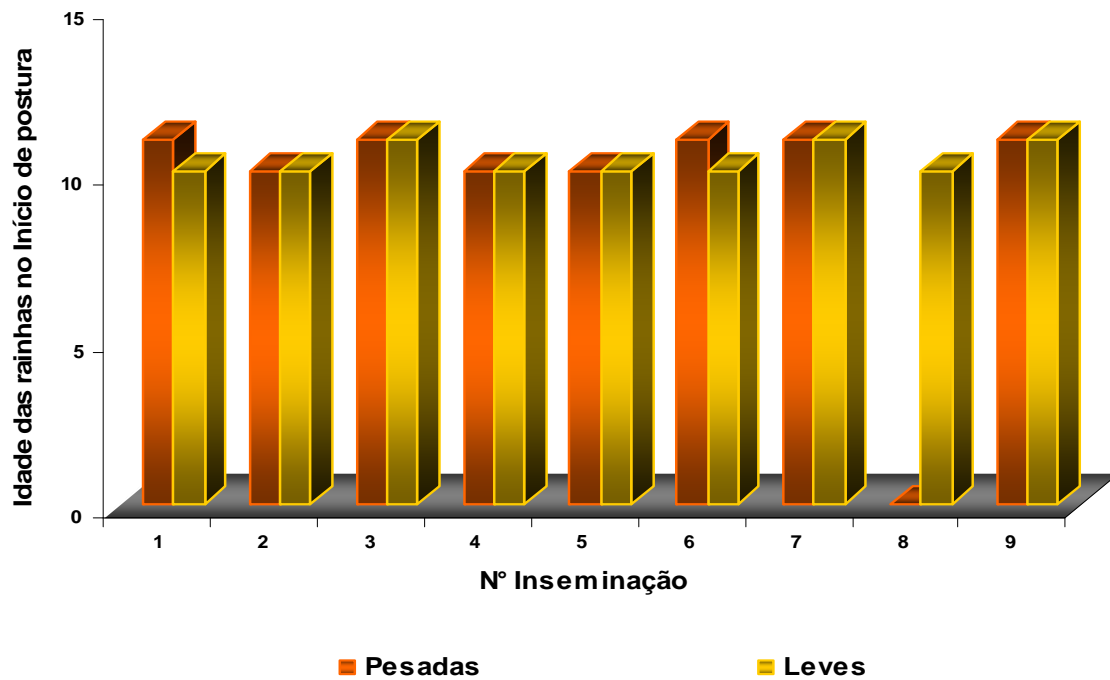


Figura 18: Comparação entre as idades das rainhas leves (<180mg) e pesadas (>200mg), inseminadas instrumentalmente, quando iniciaram atividade de postura.

Quando comparamos o tempo decorrido até início de postura entre rainhas fecundadas naturalmente e inseminadas instrumentalmente, observamos que a média de idade das rainhas fecundadas naturalmente foi de $9,31 \pm 2,49$ dias de idade, enquanto que em rainhas inseminadas instrumentalmente foi de $10,43 \pm 0,51$ dias de idade, sendo que as rainhas fecundadas naturalmente apresentaram maior variação (7 a 17 dias) em função das diferenças observadas entre rainhas leves e pesadas (Tabela 9). Observa-se uma diferença média de apenas um dia para início da postura entre rainhas fecundadas naturalmente e instrumentalmente (Figura 19).

Tabela 9: Idade das rainhas inseminadas instrumentalmente e rainhas fecundadas naturalmente quando iniciaram atividade de postura.

Experimento	F.Instrumental	F. Natural
1	11	17
2	10	12
3	11	8
4	10	9
5	10	7
6	11	10
7	11	8
8	11	9
9	10	9
10	10	8
11	11	11
12	10	8
13	10	7
14	10	10
15	11	7
16	10	9
Idade média \pm d.p.	10,43 \pm 0,51	9,31 \pm 2,49
Idade máxima	11	17
Idade mínima	10	7
Mediana	10	9
N° de testes	16	16

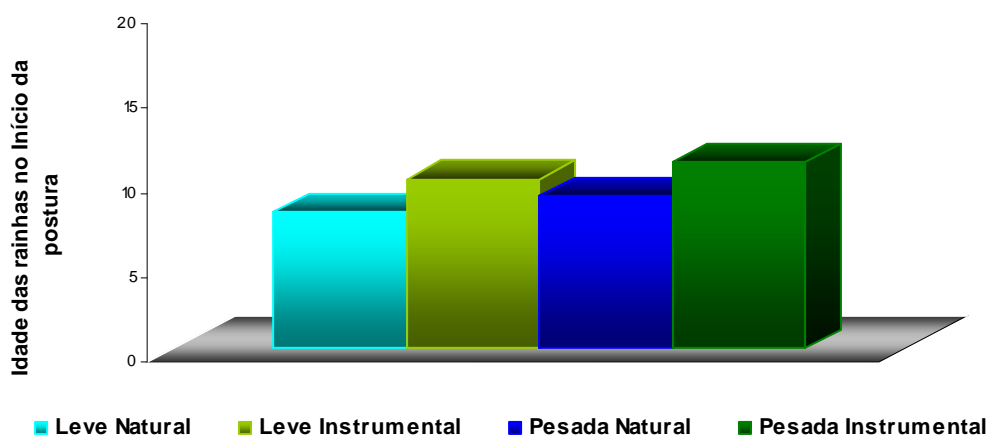


Figura 19: Média de idade (em dias) das rainhas, do grupo leve (<180mg) e grupo pesado (>200mg) fecundadas naturalmente e inseminadas, quando iniciam a atividade de postura.

4.3. Acompanhamento do desenvolvimento das colônias

Os mapeamentos das colônias foram realizados entre março de 2008 à julho de 2009, sendo que algumas colônias continuam com suas respectivas rainhas reprodutivamente ativas, até o último dia das observações feitas. Nestes mapeamentos foram estimadas as porcentagens referentes à área de postura de ovos, cria aberta e fechada, bem como a área de néctar e pólen estocado nas colméias. Entretanto, uma vez que todas as colônias estavam constantemente sendo alimentadas com xarope, a variável néctar, foi excluída dos resultados (Tabela 10, 11, 12 e 13).

Os dados obtidos foram submetidos a duas análises comparativas entre as colônias dos diferentes grupos de rainhas, analisados de forma a comparar as médias registradas tanto entre as colônias com rainhas leves e pesadas, como entre as colônias com rainhas com fecundação natural e instrumental.

4.3.1.1. Comparação entre as médias gerais

As colônias com rainhas pesadas e leves fecundadas naturalmente apresentaram média geral de $14,01 \pm 3,50\%$ e $12,42 \pm 3,15\%$ de área ocupada por ovos, $17,79 \pm 4,85\%$ e $19,32 \pm 5,59\%$ de área ocupada por cria aberta, $29,27 \pm 7,43\%$ e $22,30 \pm 8,59\%$ de área ocupada por cria fechada e $11,24 \pm 4,45\%$ e $10,19 \pm 5,17\%$ de área ocupada por pólen estocado, respectivamente (Tabelas 10 e 11). Já as colônias com rainhas pesadas e leves de inseminação instrumental essas médias foram de $9,97 \pm 4,15\%$ e $10,70 \pm 2,85\%$ de área ocupada por ovos, $21,66 \pm 4,78\%$ e $16,43 \pm 5,15\%$ de área ocupada por cria aberta, $27,15 \pm 8,64\%$ e $27,99 \pm 8,52\%$ de área ocupada por cria fechada e $10,27 \pm 4,99\%$ e $8,88 \pm 5,03\%$ de área ocupada por pólen estocado, respectivamente (Tabelas 12 e 13).

Tabela 10: Dados dos mapeamentos, em porcentagem, referentes à área de postura de ovos (O), cria aberta (CA), cria fechada (CF), e pólen (PL) das colônias com rainhas leves (colônias 125, 67, 138) fecundadas naturalmente.

Colônia	125				67				138				Média e d.p. das 3 colônias								
	Data	O	CA	CF	PL	O	CA	CF	PL	O	CA	CF	PL	O		CA		CF		PL	
20.Out.08	13	12	14	1	*	*	*	*	*	*	*	*	*	13,00	0,00	12,00	0,00	14,00	0,00	1,00	0,00
14.Nov.08	13	19	22	9	22	19	15	9	*	*	*	*	*	17,50	6,36	19,00	0,00	18,50	4,95	9,00	0,00
03. Dez.08	11	13	6	5	17	21	11	8	5	6	8	5	5	11,00	6,00	17,00	5,66	8,33	2,52	6,00	1,73
20.Dez.08	14	15	29	5	14	19	18	8	10	12	17	3	10	12,67	2,31	17,00	2,83	21,33	6,66	5,33	2,52
15.Jan.09	8	8	18	14	11	16	7	13	17	22	24	15	17	12,00	4,58	12,00	5,66	16,33	8,62	14,00	1,00
04.Fev.09	14	24	21	16	10	16	16	6	24	19	28	17	24	16,00	7,21	20,00	5,66	21,67	6,03	13,00	6,08
03.Mar.09	12	21	25	11	17	18	39	11	13	22	32	13	13	14,00	2,65	19,50	2,12	32,00	7,00	11,67	1,15
18.Mar.09	9	12	15	6	13	24	12	4	21	21	27	9	21	14,33	6,11	18,00	8,49	18,00	7,94	6,33	2,52
06.Abr.09	7	21	31	16	20	23	33	10	14	20	37	15	14	13,67	6,51	22,00	1,41	33,67	3,06	13,67	3,21
27.Abr.09	8	25	45	10	16	27	20	10	14	16	42	15	14	12,67	4,16	26,00	1,41	35,67	13,65	11,67	2,89
14.Mai.09	20	23	23	17	13	23	23	20	10	15	32	10	10	14,33	5,13	23,00	0,00	26,00	5,20	15,67	5,13
08.Jun.09	10	28	34	5	6	37	28	4	10	23	40	6	10	8,67	2,31	32,50	6,36	34,00	6,00	5,00	1,00
03.Jul.09	8	15	15	5	4	10	14	24	5	17	17	0	5	5,67	2,08	12,50	3,54	15,33	1,53	9,67	12,66
20.Jul.09	10	14	14	17	7	26	26	20	8	10	12	25	8	8,33	1,53	20,00	8,49	17,33	7,57	20,67	4,04
	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****
Média	11,21	17,86	22,29	9,79	13,08	21,46	20,15	11,31	12,58	16,92	26,33	11,08	12,42	12,42	19,32	22,30	10,19				
D.P.	3,47	5,95	10,04	5,44	5,41	6,58	9,28	6,33	5,88	5,35	11,02	6,97	3,15	3,15	5,59	8,59	5,17				
Máxima	20,00	28,00	45,00	17,00	22,00	37,00	39,00	24,00	24,00	23,00	42,00	25,00	17,50	17,50	32,50	35,67	20,67				
Mínima	7,00	8,00	6,00	1,00	4,00	10,00	7,00	4,00	5,00	6,00	8,00	0,00	5,67	5,67	12,00	8,33	1,00				
Mediana	10,50	17,00	21,50	9,50	13,00	21,00	18,00	10,00	11,50	18,00	27,50	11,50	12,67	12,67	19,50	21,33	10,67				

* Período no qual a colônia não se encontrava apta ao mapeamento.

***** Rainha continua reprodutivamente ativa até a última análise.

Tabela 11: Dados dos mapeamentos, em porcentagem, referentes à área de postura de ovos (O), cria aberta (CA), cria fechada (CF), e pólen (PL) das colônias com rainhas pesadas (colônias 218,140 e 85) fecundadas naturalmente.

Colônia	218				140				85				Média e d.p. das 3 colônias								
	Data	O	CA	CF	PL	O	CA	CF	PL	O	CA	CF	PL	O		CA		CF		PL	
20.Out.08	21	23	13	5	*	*	*	*	*	*	*	*	*	21,00	0,00	23,00	0,00	13,00	0,00	5,00	0,00
14.Nov.08	23	13	31	2	14	17	20	14	*	*	*	*	*	18,50	6,36	15,00	2,83	25,50	7,78	8,00	8,49
03. Dez.08	6	14	20	15	15	12	21	12	14	12	8	8	11,67	4,93	13,00	1,41	16,33	7,23	11,67	3,51	
20.Dez.08	12	12	25	8	16	12	30	13	13	15	37	25	13,67	2,08	12,00	0,00	30,67	6,03	15,33	8,74	
15.Jan.09	14	17	26	14	11	24	31	16	11	22	43	16	12,00	1,73	20,50	4,95	33,33	8,74	15,33	1,15	
04.Fev.09	21	28	36	5	16	20	37	11	14	26	39	16	17,00	3,61	24,00	5,66	37,33	1,53	10,67	5,51	
03.Mar.09	10	22	37	11	11	14	40	14	15	26	34	12	12,00	2,65	18,00	5,66	37,00	3,00	12,33	1,53	
18.Mar.09	19	28	36	9	14	20	41	7	12	32	20	3	15,00	3,61	24,00	5,66	32,33	10,97	6,33	3,06	
06.Abr.09	11	22	44	11	6	22	45	15	8	32	28	13	8,33	2,52	22,00	0,00	39,00	9,54	13,00	2,00	
27.Abr.09	27	12	38	11	15	15	32	12	13	10	30	12	18,33	7,57	13,50	2,12	33,33	4,16	11,67	0,58	
14.Mai.09	17	7	29	24	12	10	38	10	10	17	17	24	13,00	3,61	8,50	2,12	28,00	10,54	19,33	8,08	
08.Jun.09	13	11	17	15	6	30	35	5	14	19	31	13	11,00	4,36	20,50	13,44	27,67	9,45	11,00	5,29	
03.Jul.09	18	22	27	7	6	14	24	0	13	37	33	2	12,33	6,03	18,00	5,66	28,00	4,58	3,00	3,61	
20.Jul.09	12	14	32	22	15	20	20	10	10	8	33	12	12,33	2,52	17,00	4,24	28,33	7,23	14,67	6,43	
	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****
Média	16,00	17,50	29,36	11,36	12,08	17,69	31,85	10,69	12,25	21,33	29,42	13,00	14,01		17,79		29,27		11,24		
D.P.	5,82	6,62	8,72	6,27	3,84	5,66	8,47	4,46	2,09	9,41	9,94	6,95	3,50		4,85		7,43		4,45		
Máxima	27,00	28,00	44,00	24,00	12,08	17,69	31,85	10,69	15,00	37,00	43,00	25,00	21,00		24,00		39,00		19,33		
Mínima	6,00	7,00	13,00	2,00	6,00	10,00	20,00	0,00	8,00	8,00	8,00	2,00	8,33		8,50		13,00		3,00		
Mediana	15,50	15,50	30,00	11,00	14,00	17,00	32,00	12,00	13,00	20,50	32,00	12,50	12,33		18,00		30,67		11,67		

* Período no qual a colônia não se encontrava apta ao mapeamento.

**** Rainha continua reprodutivamente ativa até a última análise.

Tabela 12: Dados dos mapeamentos, em porcentagem, referentes à área de postura de ovos (O), cria aberta (CA), cria fechada (CF), e pólen (PL) das colônias com rainhas leves (colônias 20, 8, 135 e 145) inseminadas instrumentalmente.

Colônia	20				8				135				145				Média e d.p das 4 colônias								
	Data	O	CA	CF	PL	O	CA	CF	PL	O	CA	CF	PL	O	CA	CF	PL	O	CA	CF	PL	O	CA	CF	PL
01.Mar.08	10	12	26	8	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	10,00	0,00	12,00	0,00	26,00	0,00	8,00	0,00
15.Mar.08	11	17	26	7	11	8	28	6	*	*	*	*	*	*	*	*	*	11,00	0,00	12,50	6,36	27,00	1,41	6,50	0,71
15.Abr.08	7	21	32	9	9	10	23	3	12	12	4	3	*	*	*	*	*	9,33	2,52	14,33	5,86	19,67	14,29	5,00	3,46
09.Mai.08	8	15	19	2	7	5	21	3	15	18	29	8	*	*	*	*	*	10,00	4,36	12,67	6,81	23,00	5,29	4,33	3,21
20.Mai.08	11	25	28	14	8	24	18	11	7	3	16	10	*	*	*	*	*	8,67	2,08	17,33	12,42	20,67	6,43	11,67	2,08
05.Jun.08	12	31	38	3	10	22	36	10	17	22	15	13	*	*	*	*	*	13,00	3,61	25,00	5,20	29,67	12,74	8,67	5,13
16.Jun.08	5	21	53	3	10	15	30	10	17	22	38	7	*	*	*	*	*	10,67	6,03	19,33	3,79	40,33	11,68	6,67	3,51
04.Jul.08	0	5	56	3	11	16	38	14	12	18	44	5	*	*	*	*	*	7,67	6,66	13,00	7,00	46,00	9,17	7,33	5,86
17.Jul.08	**	**	**	**	11	20	32	11	15	6	37	9	*	*	*	*	*	13,00	2,83	13,00	9,90	34,50	3,54	10,00	1,41
12.Ago.08					***	***	***	***	12	28	30	8	*	*	*	*	*	12,00	0,00	28,00	0,00	30,00	0,00	8,00	0,00
04.Set.08									10	15	32	6	*	*	*	*	*	10,00	0,00	15,00	0,00	32,00	0,00	6,00	0,00
17.Set.08									12	13	29	2	*	*	*	*	*	12,00	0,00	13,00	0,00	29,00	0,00	2,00	0,00
08.Out.08									18	18	34	6	*	*	*	*	*	18,00	0,00	18,00	0,00	34,00	0,00	6,00	0,00
20.Out.08									13	14	29	6	*	*	*	*	*	13,00	0,00	14,00	0,00	29,00	0,00	6,00	0,00
14.Nov.08									12	16	35	16	13	11	2	10		12,50	0,71	13,50	3,54	18,50	23,33	13,00	4,24
03. Dez.08									12	16	25	3	11	7	10	2		11,50	0,71	11,50	6,36	17,50	10,61	2,50	0,71
20.Dez.08									9	10	22	8	7	11	13	4		8,00	1,41	10,50	0,71	17,50	6,36	6,00	2,83
15.Jan.09									20	22	21	3	12	19	12	11		16,00	5,66	20,50	2,12	16,50	6,36	7,00	5,66
04.Fev.09									13	11	29	15	8	14	12	19		10,50	3,54	12,50	2,12	20,50	12,02	17,00	2,83
03.Mar.09									10	19	40	9	12	17	21	17		11,00	1,41	18,00	1,41	30,50	13,44	13,00	5,66
18.Mar.09									11	17	28	5	11	11	26	7		11,00	0,00	14,00	4,24	27,00	1,41	6,00	1,41
06.Abr.09									****	****	****	****	11	27	38	10		11,00	0,00	27,00	0,00	38,00	0,00	10,00	0,00
27.Abr.09													10	28	27	15		10,00	0,00	28,00	0,00	27,00	0,00	15,00	0,00
14.Mai.09													10	17	36	20		10,00	0,00	17,00	0,00	36,00	0,00	20,00	0,00
08.Jun.09													6	16	46	1		6,00	0,00	16,00	0,00	46,00	0,00	1,00	0,00
03.Jul.09													10	16	24	13		10,00	0,00	16,00	0,00	24,00	0,00	13,00	0,00
20.Jul.09													3	12	16	20		3,00	0,00	12,00	0,00	16,00	0,00	20,00	0,00
									****	****	****	****	****	****	****	****		****	****	****	****	****	****	****	****
Média	8,00	18,38	34,75	6,13	9,63	15,00	28,25	8,50	13,00	15,79	28,26	7,47	9,54	15,85	21,77	11,46	10,70	16,43	27,99	8,88					
D.P.	8,13	8,02	13,36	4,16	1,51	6,87	7,15	4,04	3,28	5,93	9,64	3,95	2,82	6,14	12,70	6,63	2,85	5,15	8,52	5,03					
Máxima	12,00	31,00	56,00	14,00	11,00	24,00	38,00	14,00	20,00	28,00	44,00	16,00	13,00	28,00	46,00	20,00	18,00	28,00	46,00	20,00					
Mínima	0,00	5,00	19,00	2,00	7,00	5,00	18,00	3,00	7,00	3,00	4,00	2,00	3,00	7,00	2,00	1,00	3,00	10,50	16,00	1,00					
Mediana	9,00	19,00	30,00	5,00	10,00	15,50	29,00	10,00	12,00	16,00	29,00	7,00	10,00	16,00	21,00	11,00	10,67	14,33	27,00	7,33					

* Período no qual a colônia não se encontrava apta ao mapeamento.

** Colônia enxameou.

*** Colônia atacada por *Oxtrigona trataíra trataíra*.

**** Morte natural da rainha.

***** Rainha continua reprodutivamente ativa até a última análise.

Tabela 13: Dados dos mapeamentos, em porcentagem, referentes à área de postura de ovos (O), cria aberta (CA), cria fechada (CF), e pólen (PL) das colônias com rainhas pesadas (colônias 5, 51 e 132) inseminadas instrumentalmente.

Colônia	5				51				132				Média e d.p. das 3 colônias								
	Data	O	CA	CF	PL	O	CA	CF	PL	O	CA	CF	PL	O		CA		CF		PL	
01.Mar.08	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
15.Mar.08	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
15.Abr.08	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
09.Mai.08	18	22	27	3	12	7	10	5	15	9	15	5	15,00	3,00	12,67	8,14	17,33	8,74	4,33	1,15	
20.Mai.08	8	17	17	5	13	13	24	8	10	24	20	9	10,33	2,52	18,00	5,57	20,33	3,51	7,33	2,08	
05.Jun.08	12	18	22	5	11	21	28	7	14	21	37	8	12,33	1,53	20,00	1,73	29,00	7,55	6,67	1,53	
16.Jun.08	10	20	33	10	11	23	29	9	7	14	44	7	9,33	2,08	19,00	4,58	35,33	7,77	8,67	1,53	
04.Jul.08	9	23	29	10	17	24	34	8	6	10	43	7	10,67	5,69	19,00	7,81	35,33	7,09	8,33	1,53	
17.Jul.08	10	20	30	14	11	26	44	2	14	26	27	4	11,67	2,08	24,00	3,46	33,67	9,07	6,67	6,43	
12.Ago.08	13	30	32	4	20	29	37	2	11	20	29	13	14,67	4,73	26,33	5,51	32,67	4,04	6,33	5,86	
04.Set.08	9	30	45	7	9	29	51	2	13	16	35	5	10,33	2,31	25,00	7,81	43,67	8,08	4,67	2,52	
17.Set.08	13	30	40	4	9	29	51	2	16	27	29	3	12,67	3,51	28,67	1,53	40,00	11,00	3,00	1,00	
08.Out.08	12	24	21	14	16	18	35	6	7	18	38	26	11,67	4,51	20,00	3,46	31,33	9,07	15,33	10,07	
20.Out.08	4	30	32	17	12	15	37	7	6	24	25	6	7,33	4,16	23,00	7,55	31,33	6,03	10,00	6,08	
14.Nov.08	11	28	26	6	2	25	37	4	6	18	23	3	6,33	4,51	23,67	5,13	28,67	7,37	4,33	1,53	
03. Dez.08	7	18	22	20	*****	*****	*****	*****	23	19	17	3	15,00	11,31	18,50	0,71	19,50	3,54	11,50	12,02	
20.Dez.08	7	20	35	12					8	28	25	4	7,50	0,71	24,00	5,66	30,00	7,07	8,00	5,66	
15.Jan.09	7	29	30	20					12	30	23	13	9,50	3,54	29,50	0,71	26,50	4,95	16,50	4,95	
04.Fev.09	5	22	28	20					3	19	21	12	4,00	1,41	20,50	2,12	24,50	4,95	16,00	5,66	
03.Mar.09	3	18	22	13					*****	*****	*****	*****	3,00	0,00	18,00	0,00	22,00	0,00	13,00	0,00	
18.Mar.09	5	15	17	12					5,00	0,00	15,00	0,00	5,00	0,00	15,00	0,00	17,00	0,00	12,00	0,00	
06.Abr.09	19	27	25	17					19,00	0,00	27,00	0,00	19,00	0,00	27,00	0,00	25,00	0,00	17,00	0,00	
27.Abr.09	10	28	20	16					10,00	0,00	28,00	0,00	10,00	0,00	28,00	0,00	20,00	0,00	16,00	0,00	
14.Mai.09	4	15	7	20					4,00	0,00	15,00	0,00	4,00	0,00	15,00	0,00	7,00	0,00	20,00	0,00	
08.Jun.09	*****	*****	*****	*****					*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****
Média	9,33	23,05	26,67	11,86	11,92	21,58	34,75	5,17	10,69	20,19	28,19	8,00	9,97		21,66		27,15		10,27		
D.P.	4,28	5,32	8,45	5,94	4,54	7,05	11,43	2,69	5,08	6,13	8,89	5,90	4,15		4,78		8,64		4,99		
Máxima	19,00	30,00	45,00	20,00	20,00	29,00	51,00	9,00	15,00	24,00	44,00	9,00	19,00		29,50		43,67		20,00		
Mínima	3,00	15,00	7,00	3,00	2,00	7,00	10,00	2,00	6,00	9,00	15,00	5,00	3,00		12,67		7,00		3,00		
Mediana	9,00	22,00	27,00	12,00	11,50	23,50	36,00	5,50	10,00	14,00	37,00	7,00	10,33		20,50		28,67		8,67		

* Período no qual a colônia não se encontrava apta ao mapeamento.
 ** Colônia enxameou.

*** Colônia atacada por *Oxitrigona trataíra trataíra*.
 **** Morte natural da rainha.

***** Rainha continua reprodutivamente ativa até a última análise.

As comparações das médias gerais entre as colônias com rainhas pesadas e leves revelaram diferença estatisticamente significativa, ao nível de 5%, para as variáveis área de postura de ovos ($P = 0,117$) e área de cria fechada ($P = 0,003$), (Figuras 20, 21, 22 e 23). A comparação das médias de área de cria aberta ($P = 0,483$) e área de estoque de pólen ($P = 0,407$) de ambos os grupos de colônias não revelou diferença estatisticamente significativa (Figura 24, 25, 26 e 27). Quando comparamos as colônias com rainhas leves e pesadas inseminadas instrumentalmente, apenas para a variável área de cria aberta foi detectada diferença estatisticamente significativa ($P = 0,001$), a nível de 5%, enquanto para as demais variáveis área de postura de ovos ($P = 0,498$), área de cria fechada ($P = 0,737$) e área de estoque de pólen ($P = 0,308$), não foram detectadas diferenças estatisticamente significante (Tabela 14).

Na comparação das médias entre colônias com rainhas fecundadas naturalmente e inseminadas instrumentalmente, foram encontradas diferenças estatisticamente significantes relacionadas apenas à área de postura de ovos ($P = 0,004$), onde as rainhas fecundadas naturalmente apresentaram média superior às rainhas inseminadas instrumentalmente. Entretanto para a área de cria aberta ($P = 0,828$) área de cria fechada ($P = 0,420$) e área de estoque de pólen ($P = 0,397$), esta diferenças não é estatisticamente significantes a nível de 5% (Tabela 14).

Tabela 14: Comparação das médias gerais entre colônias com rainhas leves e rainhas pesadas fecundadas naturalmente (F.N.), entre colônias leves e pesadas inseminadas instrumentalmente (F.I.) e entre colônias com rainhas fecundadas naturalmente e instrumentalmente, referentes à área de postura de ovos (O), cria aberta (CA), cria fechada (CF) e estoque de pólen (PL).

Médias das Colônias	Área de Ovo (%)	Área de Cria Aberta (%)	Área de Cria Fechada (%)	Área de Pólen (%)
F.N.Leve	12,42	19,32	22,30	10,19
F.N.Pesada	14,01	17,79	29,27	11,24
P=	0,117*	0,483	0,003*	0,407
F.I.Leve	10,70	16,43	27,99	8,88
F.I.Pesada	9,97	21,66	27,15	10,27
P=	0,498	0,001*	0,737	0,308
Natural	13,21	18,55	25,78	10,71
Intrumental	10,33	19,04	27,57	9,57
P=	0,004*	0,828	0,420	0,397

* Diferença significativa ao nível de 5%

Área ocupada por ovos

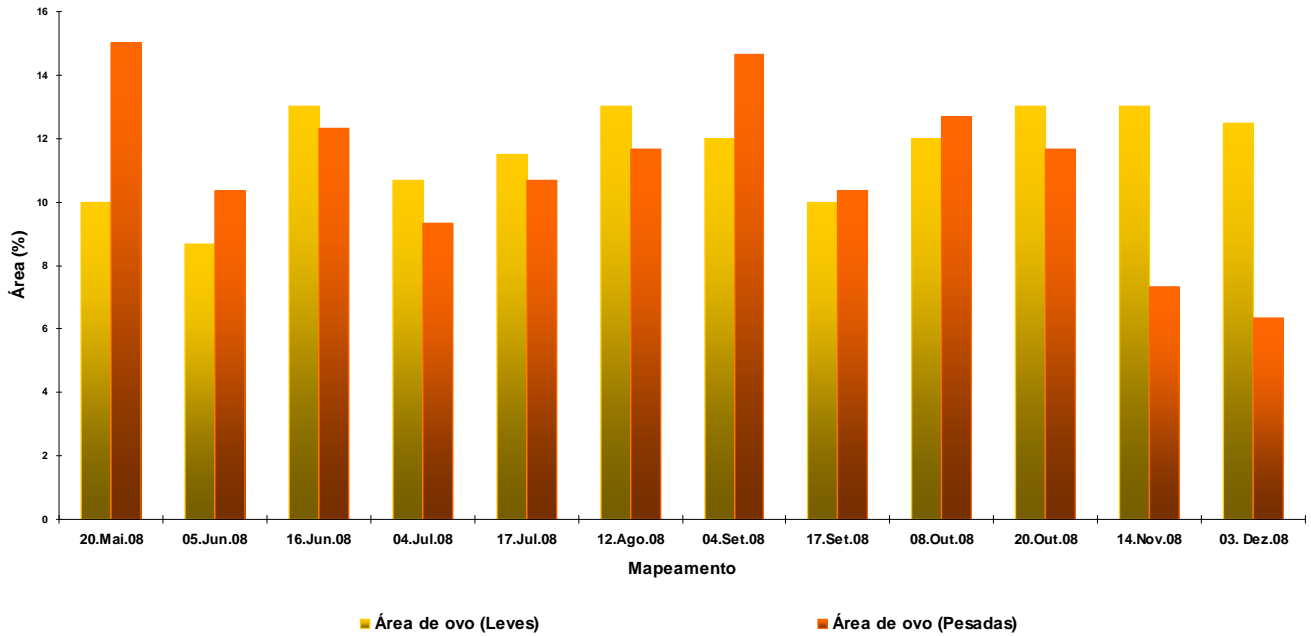


Figura 20: Comparação entre as médias de área ocupada por ovos das colônias com rainhas leves e das colônias com rainhas pesadas inseminadas instrumentalmente.

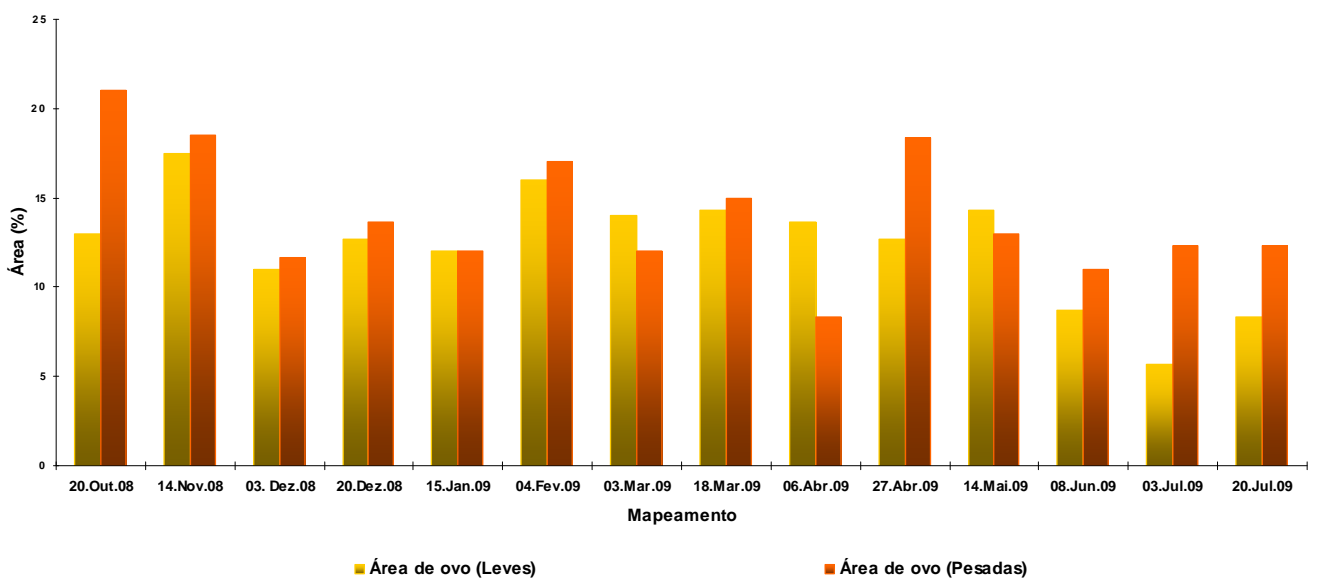


Figura 21: Comparação entre as médias de área ocupada por ovos das colônias com rainhas leves e colônias e das colônias com rainhas pesadas, fecundadas naturalmente.

Área ocupada por cria fechada

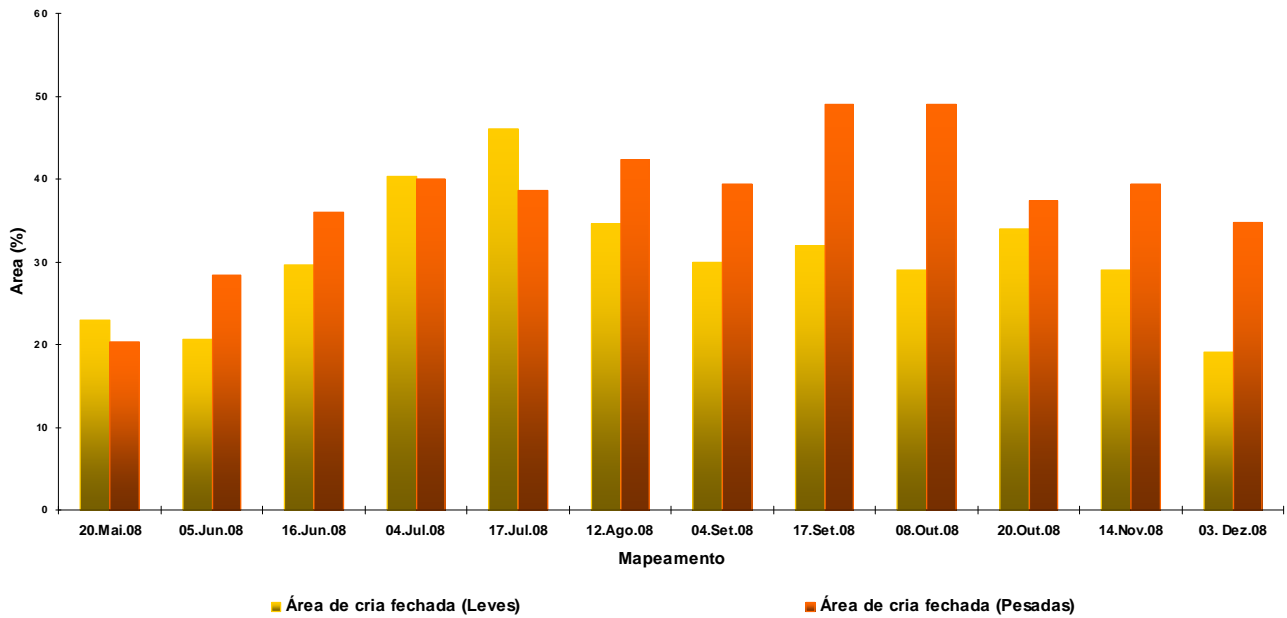


Figura 22: Comparação entre as médias da área ocupada por cria fechada das colônias com rainhas leves e das colônias com rainhas pesadas, inseminadas instrumentalmente.

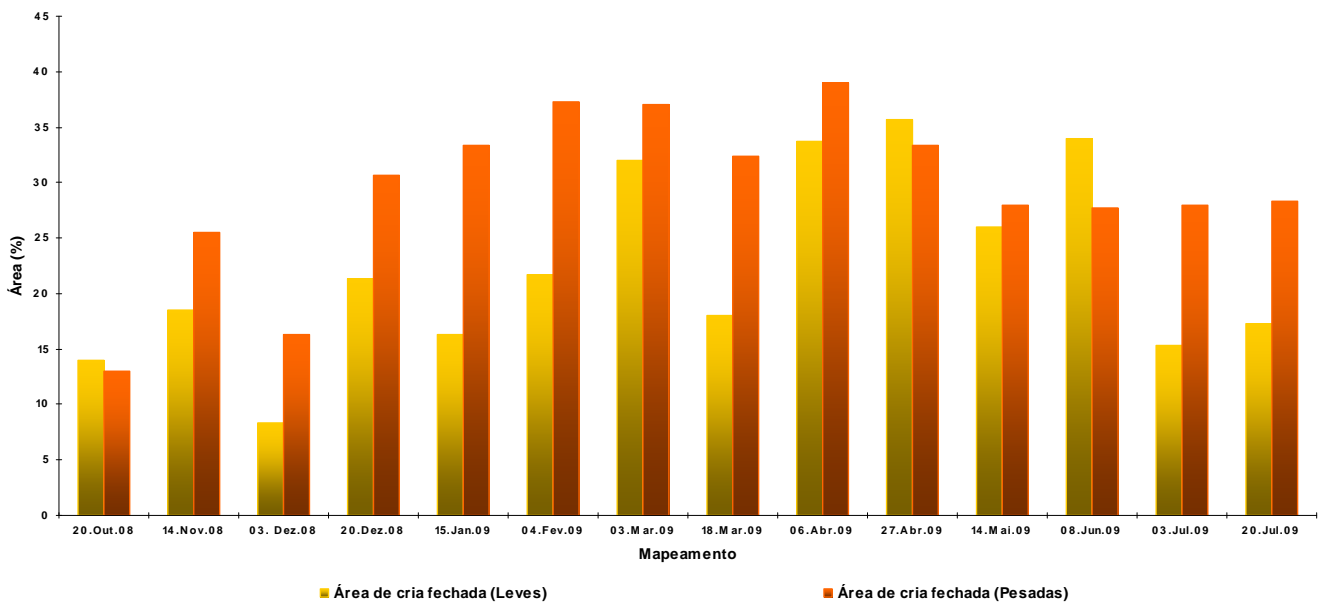


Figura 23: Comparação entre as médias da área ocupada por cria fechada das colônias com rainhas leves e das colônias com rainhas pesadas, fecundadas naturalmente.

Área ocupada por cria aberta

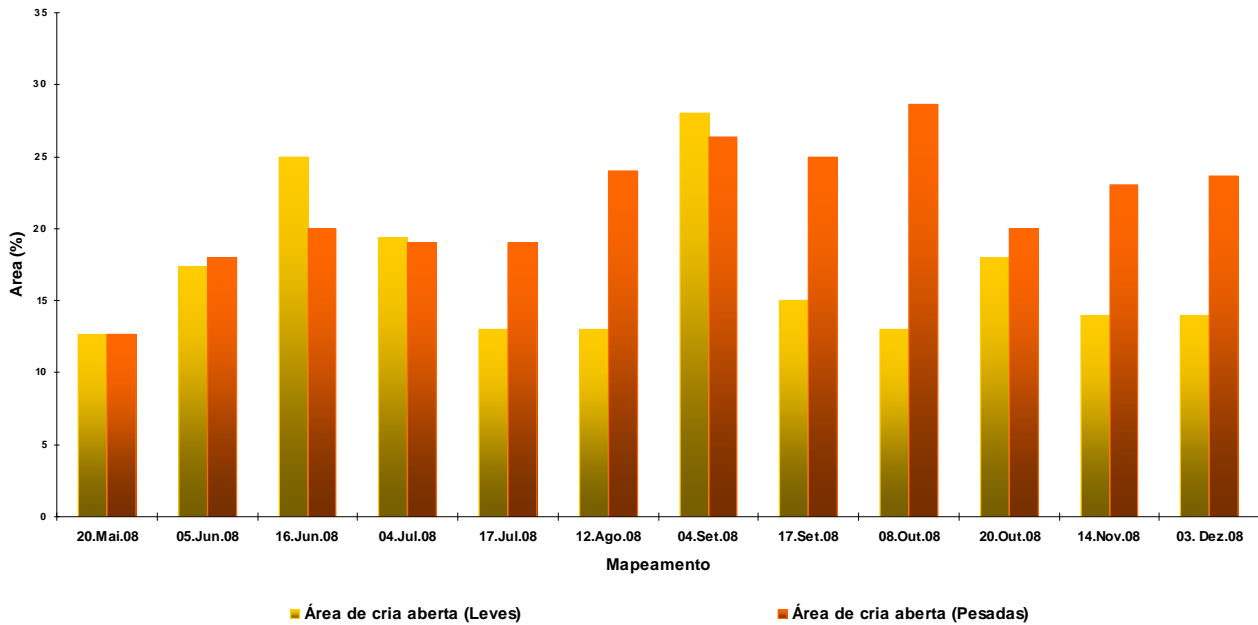


Figura 24: Comparação entre as médias da área ocupada por cria aberta das colônias com rainhas leves e das colônias com rainhas pesadas, inseminadas instrumentalmente.

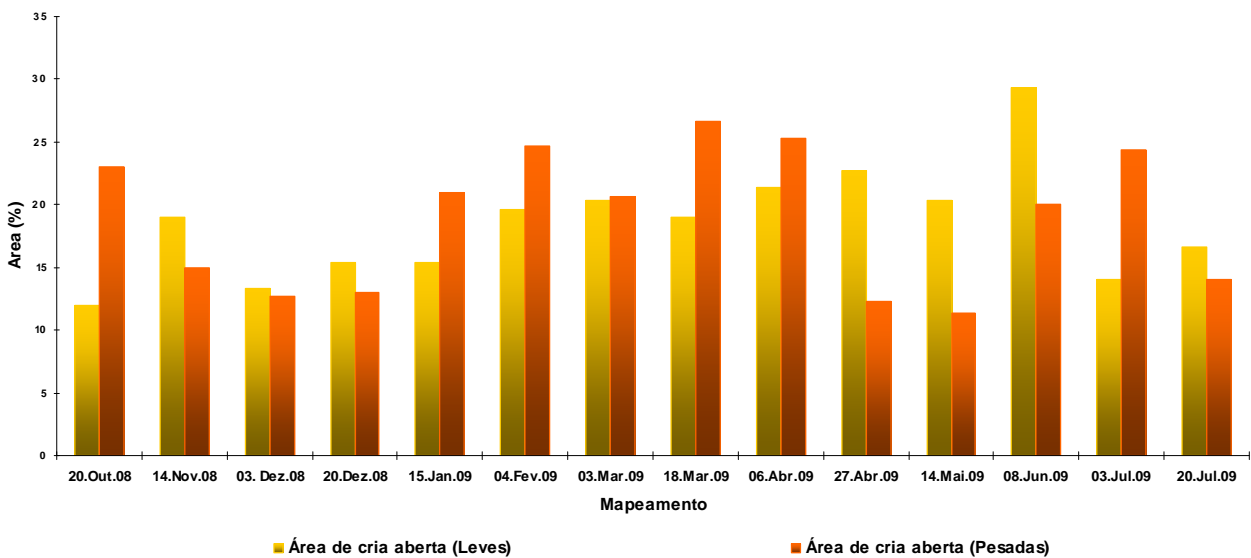


Figura 25: Comparação entre as médias da área ocupada por cria aberta das colônias com rainhas leves e das colônias com rainhas pesadas, fecundadas naturalmente.

Área ocupada por pólen

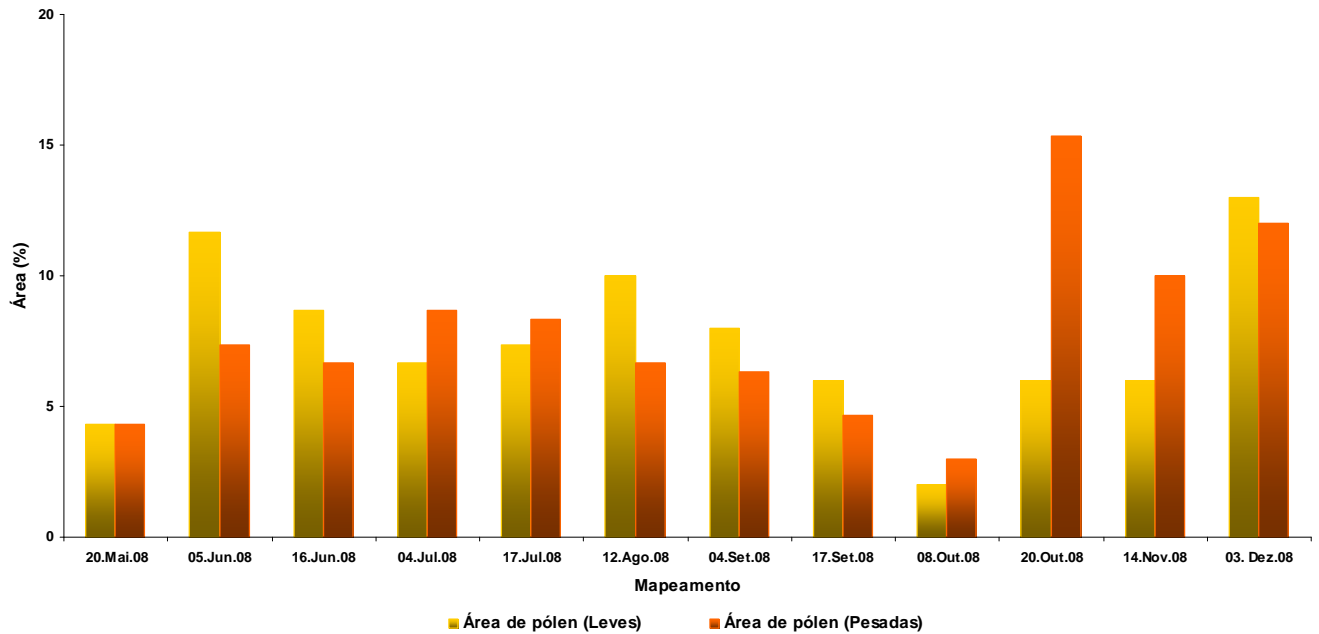


Figura 26: Comparação entre as médias da área ocupada por pólen das colônias com rainhas leves e das colônias com rainhas pesadas, inseminadas instrumentalmente.

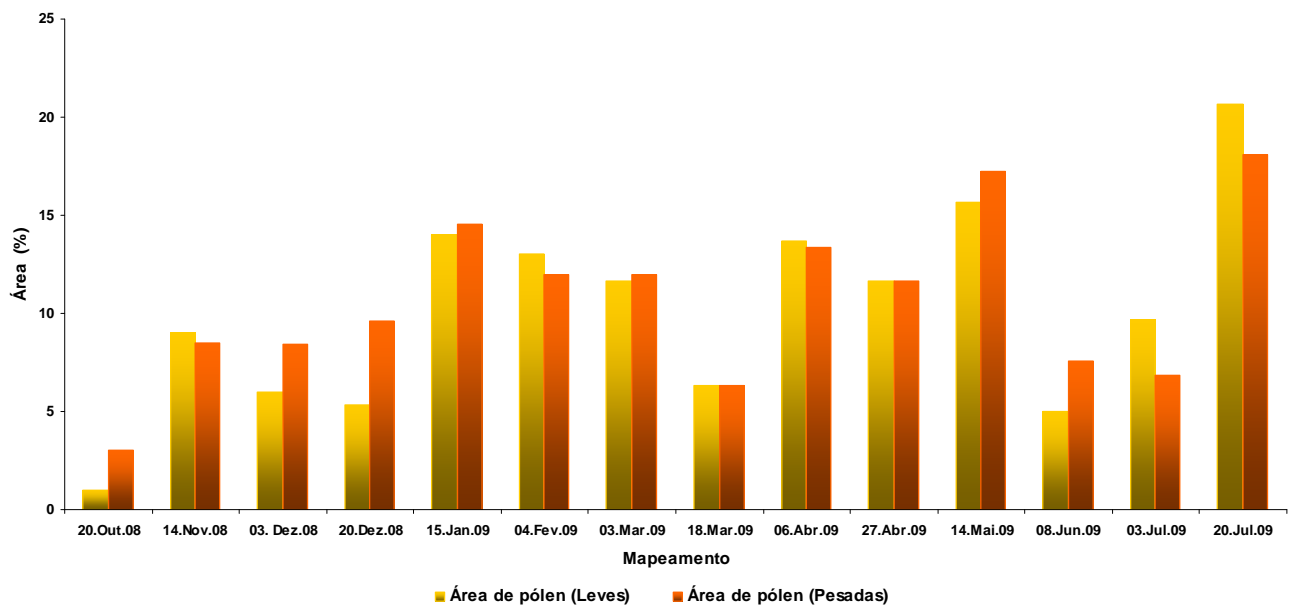


Figura 27: Comparação entre as médias da área ocupada por pólen das colônias com rainhas leves e das colônias com rainhas pesadas, fecundadas naturalmente.

4.3.1.2. COMPARAÇÃO PAR-A-PAR:

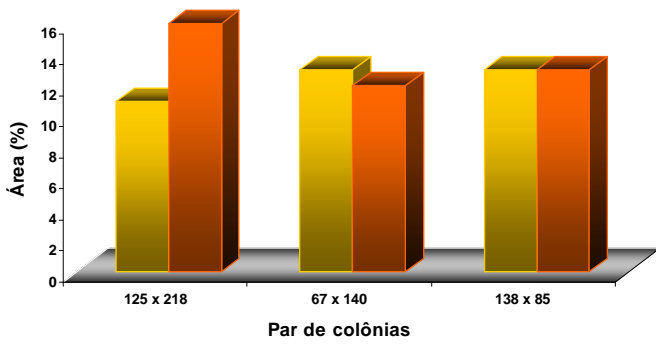
Esta análise foi realizada com o objetivo de comparar as colônias com rainhas leves e pesadas, fecundadas em períodos semelhantes, a fim de checar possíveis diferenças isoladas. Logo os pares de colônias (125 x 218), (67 x 140) e (138 x 85) tratam-se de rainhas irmãs, filhas de uma mesma geração e que os vôos nupciais foram acompanhados simultaneamente nas colônias de observação. Estas comparações foram realizadas com as médias provenientes dos mapeamentos realizados a partir de 03 de dezembro de 2008, quando todas as colônias com rainhas leves e com rainhas pesadas fecundadas naturalmente, já estavam estabelecidas. De um modo geral observa-se que as colônias com rainhas pesadas apresentaram um desempenho melhor que as colônias com rainhas leves (Tabela 15). Entretanto, esta análise mais detalhada permite-nos observar que a colônia 67, cuja rainha é leve, apresenta desempenho superior a colônia 140, com rainha pesada, sendo estatisticamente significativa a diferença relacionada à área de cria aberta ($P = 0,147$), entretanto esta diferença se inverte quando comparamos a área de cria fechada entre estas duas colônias (Figura 28).

A análise par-a-par não pode ser realizada em comparações entre as colônias com rainhas inseminadas instrumentalmente, por que as colônias que acompanhamos não tiveram suas rainhas inseminadas em períodos semelhantes, filhas de uma mesma geração e inseminadas na mesma data.

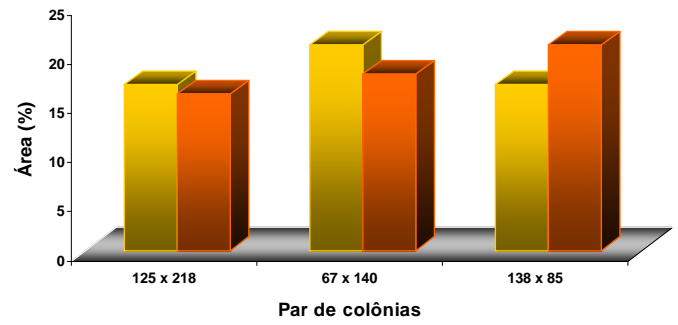
Tabela 15: Médias dos dados de mapeamento, realizados a partir do dia 03 de dezembro de 2008, em porcentagem, em comparação par-a-par entre colônias com rainhas leves (125, 67 e 138) e com rainhas pesadas (218, 140 e 85) fecundadas naturalmente, referentes à área de postura de ovos (O), cria aberta (CA), cria fechada (CF) e estoque de pólen (PL).

Colônia Leve X Pesadas	Área de Ovo (%)	Área de Cria Aberta (%)	Área de Cria Fechada (%)	Área de Pólen (%)
R. Leve (125)	10,91	18,25	23,00	10,58
R. Pesada (218)	15,00	17,42	30,58	12,67
P=	0,048*	0,664	0,060*	0,858
R. Leve (67)	12,33	21,66	20,58	11,50
R. Pesada (140)	11,92	17,75	32,83	10,42
P=	0,821	0,147*	0,003*	0,643
R. Leve (138)	12,58	16,91	26,33	11,08
R. Pesada (85)	12,25	21,33	29,42	13,00
P=	0,838	0,298	0,479	0,507

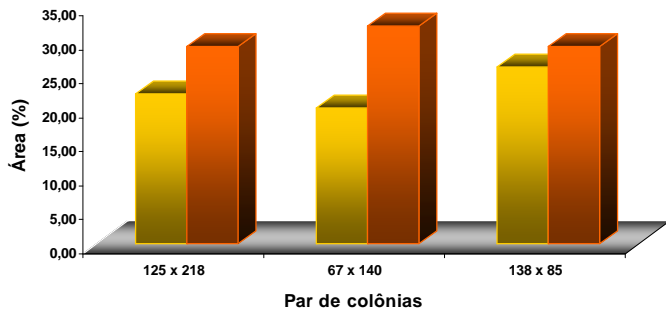
* Diferença significativa ao nível de 5%;



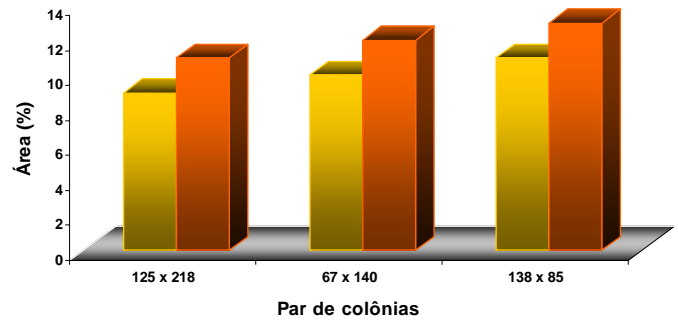
A ■ Área de ovo (Leves) ■ Área de ovo (Pesadas)



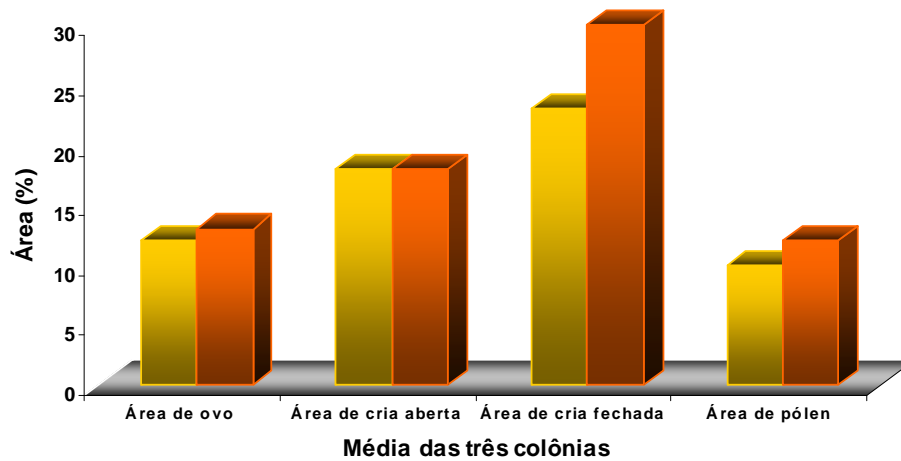
B ■ Área de cria aberta (Leves) ■ Área de cria aberta (Pesadas)



C ■ Área de cria fechada (Leves) ■ Área de cria fechada (Pesadas)



D ■ Área de pólen (Leves) ■ Área de pólen (Pesadas)



E ■ Leves ■ Pesadas

Figura 28: Comparação par-a-par das médias da área ocupada por ovos (A), cria aberta (B), cria fechada (C) e por pólen (D), entre os pares de colônias com rainhas leves e com rainhas pesadas fecundadas naturalmente (125 x 218), (67 x 140) e (138 x 85) e média das 3 colônias de cada grupo (E).

4.3.2. Estimativa de viabilidade de cria

Este experimento foi realizado baseado na análise dos dados de mapeamento, descritas anteriormente, onde percebe-se que comparando-se colônias com rainhas leves e pesadas não existe diferença estatisticamente significativa, ao nível de 5%, para a área de cria aberta, tanto na análise de médias gerais quanto na análise par-a-par. Entretanto estas análises identificam diferenças significativas relacionadas à área de cria fechada entre ambos os grupos de colônias, sendo que colônias portando rainhas pesadas apresentaram médias superiores às encontradas em colônias com rainhas leves.

Baseados nestas informações foram realizados testes de viabilidade de cria entre as colônias de ambos os pesos de rainhas fecundadas naturalmente (Figura 29). As colônias com rainhas pesadas apresentaram uma taxa de viabilidade média de cria de $93,6 \pm 4,61\%$ enquanto que para as colônias com rainhas leves essa média foi de $77,8 \pm 7,66\%$ (Tabela 16), sendo esta diferença entre os dois grupos estatisticamente significativa ($P = 0,001$), ao nível de 5%.

Tabela 16: Taxa de viabilidade de cria em colônias com rainhas leves e colônias com rainhas pesadas, fecundadas naturalmente.

Data	Leves	Pesadas	Temperatura
23.04.09	90	100	19
14.05.09	76	96	16
28.05.09	75	93	10
10.06.09	71	88	13
27.07.09	72	91	19
Média \pm d.p.	$77,8 \pm 7,66$	$93,6 \pm 4,61$	$15,4 \pm 3,91$
Nº máximo	90	100	19
Nº mínimo	71	88	10
Mediana	75	93	16
Nº de testes	5	5	5

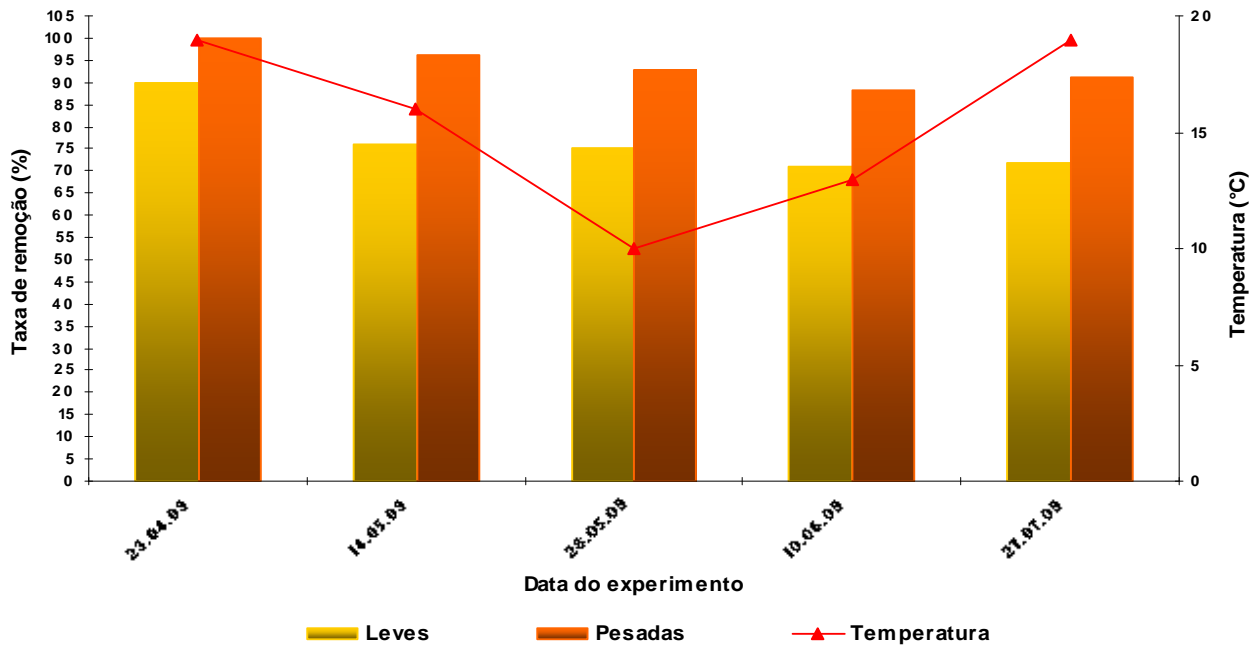


Figura 29: Comparação das médias da taxa de remoção de cria entre colônias com rainhas leves e com rainhas pesadas fecundadas naturalmente, em função da média de temperatura da semana em que se realizou cada experimento.

Podemos observar ainda, que a taxa de remoção de cria aumenta notavelmente, em ambos os grupos, em função da queda de temperatura registrada, principalmente no terceiro experimento realizado, onde a temperatura média da semana em que se desenvolveu o experimento foi de 10°C.

O teste de viabilidade de cria foi realizado apenas em colônias com rainhas fecundadas naturalmente. O mesmo não foi realizado em colônias com rainhas de inseminação instrumental em função de grande parte destas rainhas já estarem mortas quando esse experimento foi idealizado e executado.

4.3.3. Análises de correlação

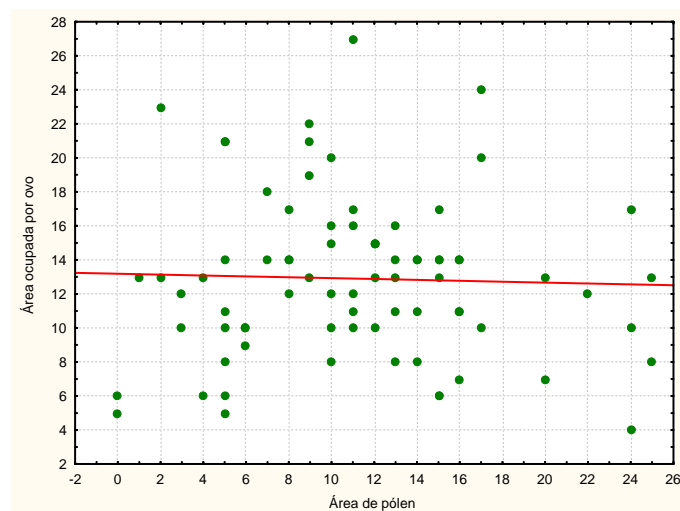
Não foram encontradas correlações estatisticamente significantes entre as variáveis analisadas (Tabela 17 e 18). Esse resultado pode ser bem observado nos gráficos de correlação e nas equações de regressão (Figuras 30, 31 e 32).

Tabela 17: Análise de regressão pelo método “Stepwise”, ao nível de 5% de significância, das variáveis: áreas ocupadas por ovo, cria aberta, cria fechada e área de estoque de pólen.

	Ovo	Cria Aberta	Cria Fechada
Pólen	0,776	0,078	0,274
Ovo		0,584	0,279
Cria Aberta			0,007

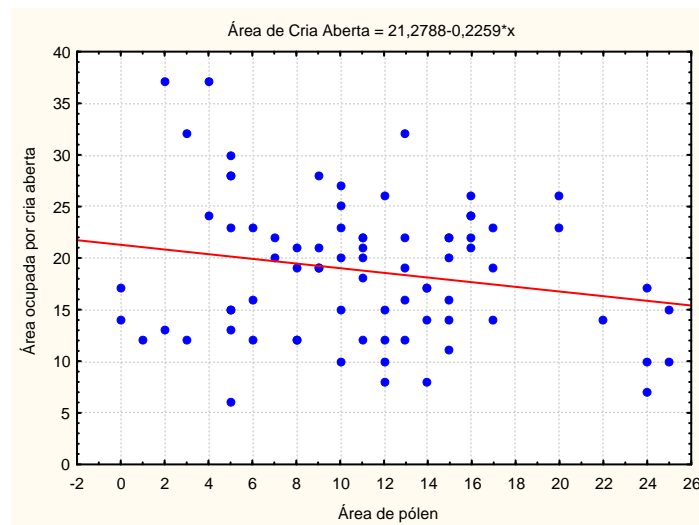
Tabela 18: Análise de correlação, pelo método “Spearman”, ao nível de 5% de significância, das variáveis: áreas de postura, área de cria aberta, área de cria fechada e área de estoque de néctar e pólen.

	Ovo	Cria Aberta	Cria Fechada
Pólen	0,005	- 0,114	0,157
Ovo		0,119	0,118
Cria Aberta			0,311



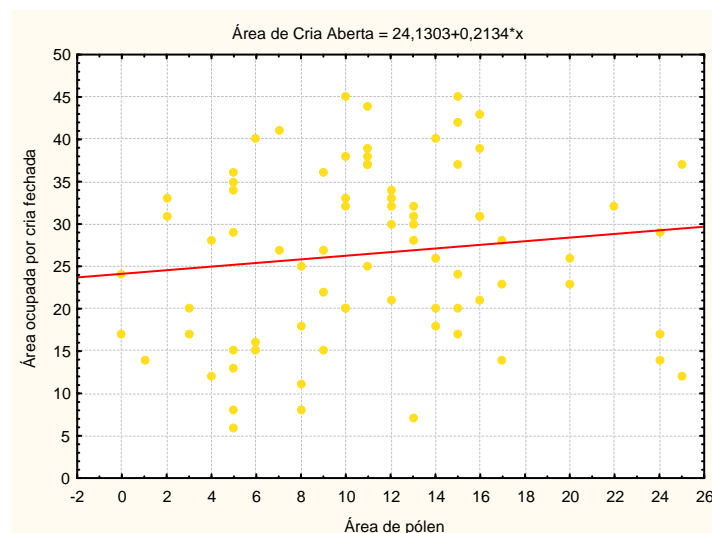
$$\text{Área de pólen} \times \text{Área de Ovo: } r^2 = 0,0011; r = -0,0327, p = 0,7761; y = 13,1881465 - 0,0260337834 \times x$$

Figura 30: Correlação e equação de regressão entre a área ocupada por ovos e a área de estoque de pólen;



Área de pólen x Área de Cria Aberta: $r^2 = 0,0403$; $r = -0,2007$, $p = 0,0781$; $y = 21,2788316 - 0,225888479 \cdot x$

Figura 31: Correlação e equação de regressão entre a área ocupada por cria aberta e a área de estoque de pólen;



Área de pólen x Área de Cria Fechada: $r^2 = 0,0157$; $r = 0,1253$, $p = 0,2742$; $y = 24,1303459 + 0,213355936 \cdot x$

Figura 32: Correlação e equação de regressão entre a área ocupada por cria fechada e a área de estoque de pólen;

No entanto, quando analisamos os gráficos mostrando estas variáveis em cada colônia separadamente (Figura 33), observa-se que os picos de área ocupada por ovo, cria aberta e cria fechada apresenta-se com certo atraso em relação aos picos de área de pólen. Entretanto esse atraso não segue um padrão, ou seja, não observamos um intervalo sincronizado entre os picos, tanto entre as variáveis, quanto entre as colônias.

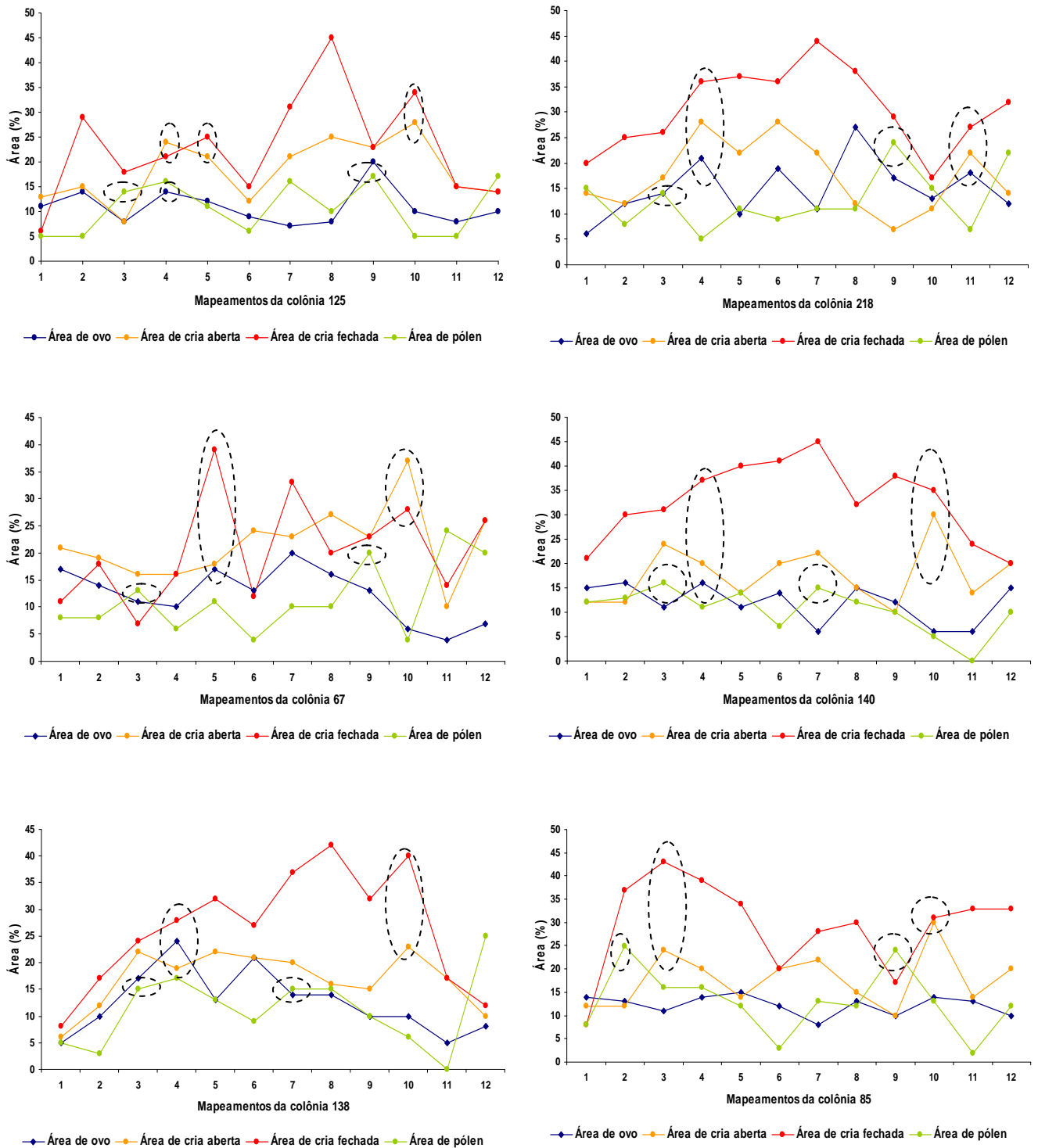


Figura 33: Médias da área ocupada por ovo, cria aberta, cria fechada e pólen (%) nas colônias avaliadas ao longo dos mapeamentos pareados entre colônias com rainhas leves e pesadas (colônias 125 e 218), (colônias 67 e 140) e (colônias 138 e 85), com marcação (círculos pontilhados) nos picos.

4.3.4. Tempo de expansão colonial

Como pode ser observado na tabela 19, as colônias com rainhas leves fecundadas naturalmente não apresentaram expansão da população que justificasse a transferência de núcleo (com três quadros) para ninho (com nove quadros), até a última avaliação realizada. Entretanto, vale ressaltar que as rainhas de algumas colônias prosseguem reprodutivamente ativas e com suas colônias em desenvolvimento. As colônias com rainhas leves inseminadas instrumentalmente que se expandiram, levaram em média 140 dias para serem transferidas para ninhos. Em colônias com rainhas pesadas essa expansão ocorreu com uma média de 117 dias em rainhas fecundadas naturalmente e de 116 dias para rainhas inseminadas instrumentalmente. Pode-se observar uma diferença de 24 dias entre o tempo de expansão das colônias com rainhas leves e pesadas, demonstrando melhor qualidade desta última em termos de desenvolvimento colonial. Notou-se ainda que estas expansões populacionais ou desenvolvimento da colônia, e a expansão da área colonial ocorreram, em geral, em épocas de alto fluxo natural de alimento protéico (pólen) e com temperaturas mais amenas entre o período de julho à setembro de 2008 em colônias de inseminação instrumental, e entre fevereiro e abril nas colônias de fecundação natural (Figuras 34 e 35).

Tabela 19: Comparação das médias de tempo (em dias) para a expansão e transferências das colônias para caixas ninho, entre colônias com rainhas leves e colônias com rainhas pesadas e de fecundação natural e instrumental.

Fecundação	Peso das rainhas	Nº Ninho	T. para Expansão (em dias)
Natural	R. Leves	67*	X
		125*	X
		138*	X
	Média ±d.p		X
	R. Pesadas	85*	92
140*		131	
218*		128	
Média ± d.p		117 ± 21,7	
Artificial	R. Leves	8**	140
		135	140
		145*	X
	Média ± d.p		140 ± 0,00
	R. Pesadas	5	131
51		122	
132		95	
Média ± d.p		116 ±18,73	

X Colônias que não se expandiram suficientemente para transferências para caixas tipo ninho até a última análise;

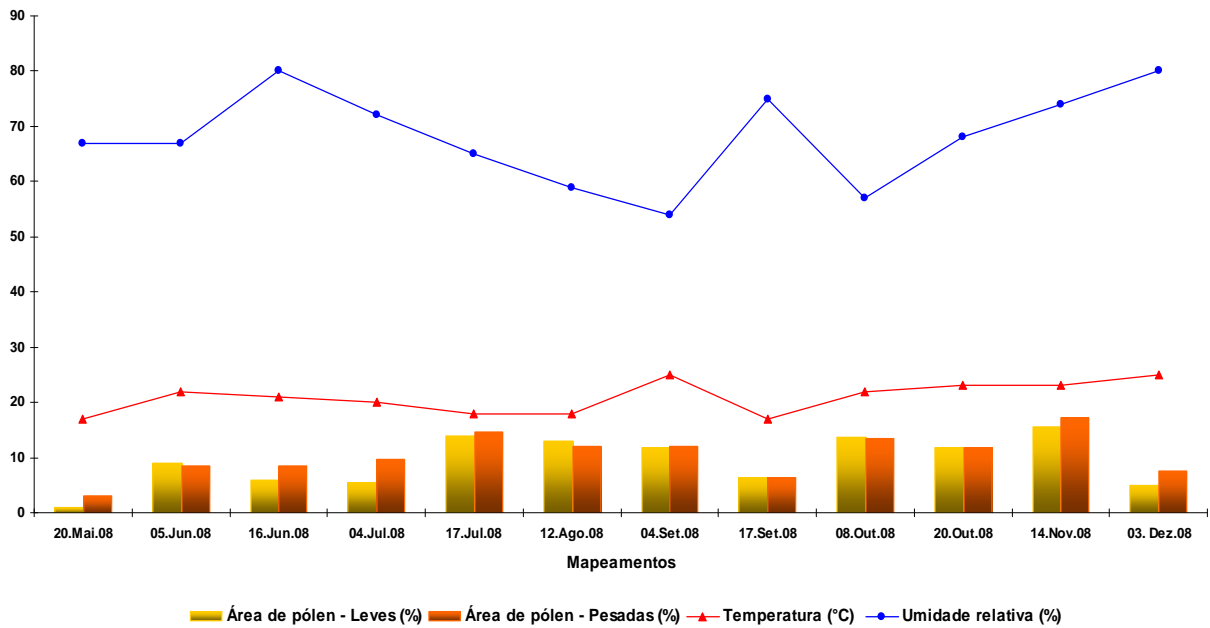


Figura 34: Médias de área ocupada por pólen em função das variações de temperatura e umidade relativa do ar em colônias com rainhas leves e com rainhas pesadas inseminadas Instrumentalmente.

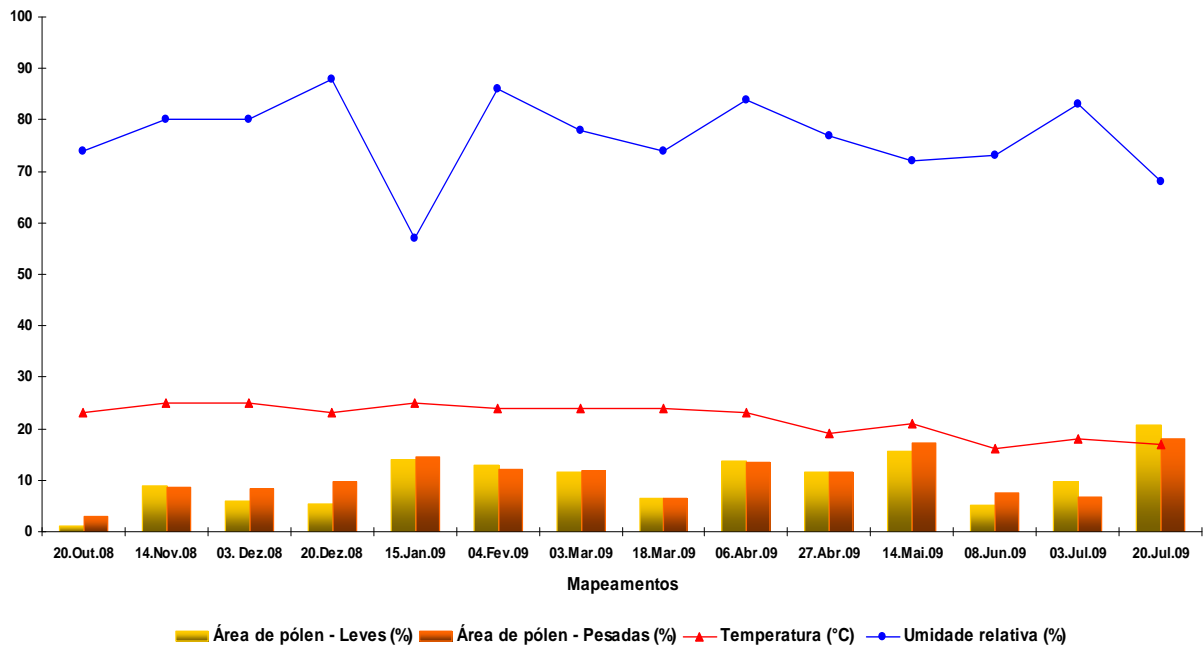


Figura 35: Médias de área ocupada por pólen em função das variações de temperatura e umidade relativa do ar em colônias com rainhas leves e com rainhas pesadas inseminadas Instrumentalmente.

4.3.5. Avaliação da longevidade das rainhas

Tabela 20: Longevidade (em dias) das rainhas leves (<180mg) de fecundação natural e instrumental e das rainhas pesadas (>200mg) de fecundação natural e Instrumental;

Fecundação	Peso das rainhas	N° Ninho	T. de vida (em dias)
Natural	R. Leves	67*	262
		125*	245
		138*	267
	Média ±d.p		258,00 ± 11,53
	R. Pesadas	85*	266
140*		263	
218*		244	
Média ±d.p		257,67 ± 11,93	
Instrumental	R. Leves	8**	129
		135	306
		145*	263
	Média ±d.p		232,67 ± 92, 32
	R. Pesadas	5	391
51		209	
132		349	
Média ±d.p		316,33 ± 95,39	

* Rainhas que permanecem vivas até o momento das análises;

** Colônia precocemente atacada por *Oxtrigona tataira tataira*;

A média de longevidade para as colônias com rainhas leves e pesadas fecundadas naturalmente foi de $257,67 \pm 11,93$ e $258,00 \pm 11,53$ dias, respectivamente. Para as colônias com rainhas leves e pesadas inseminadas instrumentalmente essa média foi de $232,67 \pm 92, 32$ e $316,33 \pm 95,39$ dias, respectivamente (Tabela 20). Embora não se tenha detectado diferença estatisticamente significativa entre a longevidade dos dois grupos de peso das rainhas inseminadas instrumentalmente ($P = 0,336$), observou-se que a média de vida das rainhas leves apresentou diferença de aproximadamente 84 dias a menos que a media das rainhas pesadas. Com relação às rainhas de fecundação natural, que ainda estão em plena atividade reprodutiva, essa estimativa de longevidade não pode ser obtida, uma vez que ao final das nossas observações estas rainhas ainda estavam vivas e em postura. No entanto, observa-se que, as rainhas fecundadas em vôo natural, até o presente

momento, já apresentam média de longevidade semelhante às rainhas inseminadas Instrumentalmente, que já morreram.

5. DISCUSSÃO:

O estudo dos aspectos relacionados ao sucesso da fecundação das rainhas é de extrema importância para a atividade apícola, pois está diretamente relacionado ao futuro e processo de sucessão das colônias de abelhas. Portanto, embora sejam particularidades altamente discutidas, ainda despertam curiosidades e dúvidas a respeito deste processo.

5.1. Rainhas fecundadas naturalmente

O início da atividade de vôos de acasalamentos das rainhas está relacionado ao amadurecimento da estrutura reprodutivas destas. Constatamos no presente trabalho que as rainhas de peso inferior a 180 mg apresentam um desempenho mais rápido com relação às atividades de vôos que as rainhas de peso superior a 200 mg. Além de realizarem menor quantidade de vôos de reconhecimento, as rainhas leves saem em vôo nupcial com idade menos avançada, em média $6,11 \pm 1,53$ dias de idade, que rainhas pesadas, com média de $7,09 \pm 4,59$ dias de idade, uma diferença média de um dia entre os dois grupos. Atrelado a isso, é observada ainda uma diferença na idade das rainhas no início da atividade de postura, onde as rainhas mais leves iniciaram a ovoposição mais cedo, em média com $7,77 \pm 1,86$ dias, que as rainhas pesadas, com média de $9,88 \pm 3,02$ dias de idade.

Lensky & Demeter (1985), em trabalho realizado em condições climáticas subtropicais, observaram que as rainhas iniciavam a atividade de vôo com uma média de cinco dias de idade. Severson & Erickson (1989) observaram que as rainhas realizavam vôo nupcial com idade entre 7 e 9 dias. Os dados desses autores, corroboram os resultados encontrados por Teixeira (1993) que, em estudo onde compara os aspectos envolvidos na atividade de vôo de acasalamento entre duas raças de abelhas, realizado na mesma área de estudo do presente trabalho, encontrou que rainhas de origem européia, mais pesadas, e africanizadas, mais leves, não divergiam significativamente quanto à idade em que estas realizavam o vôo nupcial, onde verificou uma média de $9,00 \pm 2,11$ dias de idade, para rainhas européias, e de $8,76 \pm 1,84$ dias para rainhas africanizadas. Kahya e colaboradores (2008), em estudo realizado na Turquia com abelhas *Apis mellifera caucasica*, observaram que rainhas com peso inferior

a 190 mg, entre 190 e 200 mg e superior a 200 mg realizaram vôos com média de idades de $6,75 \pm 0,275$, $7,00 \pm 0,234$ e $6,85 \pm 0,274$, respectivamente. Esta variação, entre resultados encontrados entre os diferentes autores, pode estar atrelada às diferenças relacionadas às raças das abelhas estudadas, bem como condições climáticas de cada localidade (Ruttner, 1956).

Com relação à idade no início de postura, Teixeira (1993) observou que rainhas africanizadas iniciavam a ovoposição com $12,22 \pm 1,44$ dias de idade enquanto que em rainhas européias essa média sobe para $13,13 \pm 2,23$ dias de idade. Entretanto, de maneira oposta, Medina (1993), observou que as rainhas com peso inferior a 180 mg iniciavam a atividade de postura mais tardiamente, em média 13,2 dias de idade, que as rainhas com peso superior a 200 mg, em 12,1 dias de idade. Kahya e colaboradores (2008) não observaram diferença significativa com relação ao início da atividade de postura entre rainhas com peso inferior a 190 mg, entre 190 e 200 mg e superior a 200 mg, que iniciaram a ovoposição com uma média de $10,63 \pm 0,221$, $10,72 \pm 0,244$ e $10,46 \pm 0,243$ dias de idade respectivamente .

As diferenças registradas entre as rainhas leves e pesadas possivelmente estão ligadas ao tempo de desenvolvimento diferenciado entre estes dois grupos. As rainhas mais leves originam-se de larvas mais velhas, até 3 dias de idade, enquanto que as rainhas mais pesadas são provenientes de larvas mais jovens, e demoram mais para desenvolver-se e tornar-se reprodutivamente madura (Winston,1979).

De acordo com Visscher (1993), quando a colônia fica orfã, as operárias constroem várias realeiras, com larvas de diferentes idades e estágios de desenvolvimento. Quando uma dessas rainhas nasce, ela mata as demais rainhas das outras realeiras, que ainda não emergiram, ferroando-as. Portanto a primeira rainha que nasce, possivelmente, é a que dará continuidade a colônia. Caso ocorra de duas rainhas nascerem aproximadamente ao mesmo tempo, estas lutam até a morte de uma delas. Uma vez que as rainhas produzidas por larvas mais velhas desenvolvem-se mais rapidamente, assim como originam rainhas mais leves, a substituição natural das rainhas acaba selecionando rainhas leves e/ou de baixa qualidade (DeGrandi-Hoffman *et. al.*, 1998).

Em se tratando do sucesso da colônia, essa opção por rainhas de rápido desenvolvimento é de extrema importância. Isso porque o ciclo de troca de rainha é um processo arriscado para sobrevivência da colônia, pois o tempo para que uma nova rainha esteja reprodutivamente ativa pode levar uma média de 22 dias: 11 dias para o desenvolvimento até emergirem, aproximadamente 7 dias até que realizem vôos de acasalamento e mais 3 a 4 dias até que iniciem a ovoposição (Teixeira, 1993). Vale ressaltar que esta é uma estimativa para abelhas africanizadas, sendo que para abelhas de subespécies européias esse período pode ser ainda maior. O resultado desse ciclo gera um declínio de grandes proporções na população, de forma que quanto mais rápido for o ciclo de desenvolvimento da nova rainha, menor serão os danos à colônia, garantindo sua sucessão.

De acordo com Tarpy e colaboradores (2000), colônias sob condições artificiais, as quais se encontravam em ótimo estado e recém orfanadas, resultaram em maior taxa de aceitação e sucesso de rainhas oriundas de larvas mais jovens, quando expostas a transferências com larvas de 1 e 2 dias de idade. Entretanto, em um segundo experimento, no qual as colônias apresentavam-se mais fracas, estes autores não encontraram essa mesma tendência, de forma que sugerem que o ciclo de reposição de rainha e a escolha do estágio de desenvolvimento das larvas que originarão as novas rainhas, podem variar de acordo com uma série de fatores externos e internos da colônia, até então pouco esclarecido, sendo que a qualidade da rainha, não parece ser o fator mais importante levado em conta pela colônia em situação de risco.

Ao analisarmos as atividades normais, onde a substituição natural da rainha, em geral, é realizada pelas operárias quando a rainha já está velha e com baixa produção de ovos, constatamos que a situação das colônias nem sempre encontram-se ótimas, resultando em novas rainhas de qualidade duvidosa. Desta forma a substituição periódica das rainhas velhas por rainhas novas e de boa qualidade consiste em uma das principais medidas para aumento da produtividade das colônias.

De acordo com os dados de vôos das rainhas, levantados no presente trabalho, observamos ainda uma tendência das rainhas leves realizarem maior quantidade de vôos nupciais. Tal diferença fica bem evidenciada nos

experimentos 3, 8, 10, 11, nos quais as rainhas pesadas realizaram apenas um vôo de fecundação enquanto as rainhas leves realizaram dois vôos. Atrélado a este fato, observou-se ainda, que o tempo despendido nos vôos nupciais em ambos os grupos não apresentou diferença estatisticamente significativa.

Essa diferença, na quantidade de vôos nupciais das rainhas, entre os dois grupos de peso possivelmente esteja relacionada a uma menor atratividade das rainhas leves nas zonas de congregações, seja em função do tamanho reduzido ou ainda pela emissão diferenciada dos feromônios de atração. De acordo com Gary (1963), quando as rainhas virgens chegam às zonas de congregação, estas atraem os zangões por estímulos químicos e visuais, sendo que os machos são dotados de um sistema sensorial diferenciado, em relação às outras castas, especialmente adaptados para a localização das rainhas (Dade, 1977).

Segundo Mackensen & Tucker (1970) de 6 a 7 horas após o acasalamento, a maior parte do sêmen alcança a espermateca, embora uma pequena quantidade ainda permaneça no oviduto. Em aproximadamente um dia, após o primeiro vôo de acasalamento bem sucedido, a espermateca já está ou não com a sua capacidade completa, a depender do número de cópulas e quantidade de sêmen depositado ou introduzido na câmara vaginal. Desta forma após um dia a rainha tem o “controle” da necessidade ou não da realização de novas cópulas.

A necessidade de repetições do vôo de acasalamento está relacionada ao volume da espermateca e seu preenchimento (Ruttner, 1956; Woyke, 1964). De acordo com Schlüns e colaboradores (2005) o número de espermatozóide dentro da espermateca da rainha após o acasalamento é diretamente proporcional ao número de cópulas. Da mesma forma, Koeniger & Koeniger (2007), concluíram que existe um limiar de cópulas para que os vôos de acasalamento obtenham sucesso, e esse limiar está relacionado ao número de cópulas e a quantidade de espermatozoides dentro da espermateca.

Tarpy & Page Jr. (2001) encontraram divergências quanto ao número efetivo de cópulas realizadas entre dois grupos de rainhas: as que realizavam apenas um vôo de acasalamento e rainhas que tentavam um segundo vôo, mas eram impedidas, devido ao fato de terem sido colocadas telas nas saídas das colméias após o primeiro vôo nupcial. De acordo com estes autores, o primeiro

grupo de rainhas copulava com maior quantidade de zangões que o segundo grupo. De maneira semelhante aos dados obtidos no presente trabalho, estes autores não encontraram correlação significativa entre o tempo de vôo de acasalamento e o número efetivo de cópulas.

Ainda quanto a fecundação natural, Medina (1993), encontrou uma diferença de 1.513.000 a 1.535.000 a mais de espermatozóides na espermateca de rainhas com peso acima de 180 mg, quando comparado ao número de espermatozóides encontrados nas espermateca de rainhas abaixo desse peso, em pesquisa realizada no mesmo apiário experimental onde foram realizados os experimentos do presente trabalho. Embora não estatisticamente significativa este autor observou certa correlação positiva entre o diâmetro e o volume da espermateca com o número de espermatozóide, corroborando os resultados também encontrados por Palácio (1991). Os resultados dos nossos experimentos nos levam a supor que as rainhas de peso superior a 200 mg, realizam maior quantidade de cópulas e para tal, estas otimizam a atividade de vôo de acasalamento (maior número de cópula efetiva em menor número de vôos), podendo ser consideradas como rainhas de alta qualidade tanto do ponto de vista da colônia quanto da atividade apícola.

Kahya e colaboradores (2008), não encontraram diferenças significantes com relação ao número de vôos de acasalamentos entre rainhas de diferentes pesos. Entretanto estes autores estabeleceram três grupos de rainhas com pesos muito próximos: abaixo de 190 mg, entre 190-200 mg e acima de 200 mg. Possivelmente os intervalos de pesos avaliados não sejam suficientemente distintos entre si, muito embora estes autores tenham encontrado significativas correlações entre o volume e diâmetro da espermateca e o peso das rainhas ao emergir.

Com relação aos horários em que os vôos de acasalamento foram realizados, não encontramos diferenças entre os dois grupos, sendo que a maior incidência de saídas para os vôos ocorreu entre às 15:00 e 15:45 horas para as rainhas pesadas, e entre às 16:45 e às 17:00 horas para as rainhas leves, coincidindo com o intervalo de atividade de vôo de zangões africanizados (em torno de 14:00 e 16:00 horas) registrado por Cristino (2003) em pesquisa na mesma área de estudo do presente trabalho. Já Teixeira (1993) registrou um

intervalo mais restrito para o pico de vôo de zangões africanizados, entre 15:00 e 16:00 horas, também na mesma área de estudo. Estes dados juntamente com as informações relacionadas ao tempo gasto nos vôos de acasalamento mostram que ambos os grupos de rainhas estiveram sob semelhantes condições de vôos e corroborando com a hipótese de que as rainhas mais pesadas realizam mais cópulas em menos vôos.

5.2. Rainhas inseminadas instrumentalmente

A taxa de sucesso da inseminação instrumental é um importante aspecto a ser levado em consideração no processo de modernização da atividade apícola, sendo que o avanço das pesquisas em torno desta metodologia vem rendendo considerável contribuição nos programas de melhoramento genético. Os experimentos de inseminação instrumental, desenvolvidos neste trabalho, tiveram uma taxa de sucesso de 70,5%, sendo que as demais rainhas que foram inseminadas não tiveram sucesso em alguma etapa do desenvolvimento.

Do total de 17 rainhas inseminadas 3 morreram durante a introdução nos núcleos, possivelmente devido a problemas na inseminação, e 2 morreram aproximadamente um mês após a introdução, sendo que estas iniciaram a atividade de postura. Uma vez que estas 2 rainhas (ambas pesadas) não apresentaram refluxo do sêmen no momento da inseminação, é provável que tenha ocorrido algum problema no processo de migração dos espermatozóides para a espermateca.

De acordo com Cobey (2007), a manipulação das rainhas após a inseminação consiste em fator decisivo na migração dos espermatozóides para a espermateca. Segundo esta autora, as primeiras horas após inseminação são críticas para as rainhas, uma vez que consiste no período em que os espermatozóides migram para espermateca e variações no ambiente influenciam de forma decisiva na migração dos gametas. Woyke e Jasinski (1992) chegaram à conclusão que os espermatozóides realizam a migração para espermateca com maior eficiência em temperatura de 34°C que em 24°C. Essa temperatura ótima consiste na temperatura média mantida pela população no interior das colônias, logo a migração dos espermatozóides ocorre de maneira mais eficiente quando

as rainhas são imediatamente transferidas para colônia após a realização da inseminação.

As outras 3 rainhas introduzidas nas colônias 140 (148 mg), 80 (172 mg) e 139 (205 mg) morreram pouco tempo após a inseminação, sem que tenham iniciado a postura. A causa das mortes não é totalmente esclarecida, podendo ter sido devido a não aceitação pelas operárias, embora se tenha tomado a precaução de introduzi-las em gaiolas de plástico para que as operárias acostumassem com a nova rainha, ou ainda devido a uma falha na inseminação com ferimento da rainha durante a manipulação da válvula vaginal.

Com relação ao início da ovoposição das rainhas fecundadas naturalmente e inseminadas instrumentalmente, observamos que as rainhas de fecundação natural começaram a ovopositar com idade média de $9,31 \pm 2,49$ dias, e as rainhas inseminadas instrumentalmente iniciaram com idade média de $10,43 \pm 0,51$ dias. Entretanto vale chamar a atenção para o fato de que todas as rainhas inseminadas instrumentalmente foram fecundadas com a mesma idade, ou seja, 7 dias de idade, enquanto que as rainhas fecundadas naturalmente apresentaram uma variação bem maior, entre 4 a 10 dias de idade.

Em trabalho realizado no mesmo apiário experimental, Palácio (1991) encontrou resultados semelhantes, onde identificou que rainhas fecundadas naturalmente iniciavam atividade de postura um pouco antes que as rainhas inseminadas instrumentalmente. Da mesma forma Cobey (2007), em revisão bibliográfica comparativa entre rainhas fecundadas naturalmente e instrumentalmente discute que em geral, as rainhas inseminadas instrumentalmente apresentam um pequeno atraso no início da ovoposição em relação às rainhas fecundadas naturalmente.

Quando comparamos a idade com a qual as rainhas leves e pesadas inseminadas instrumentalmente iniciam a atividade de postura, não observamos diferença entre estes dois grupos, $10,33 \pm 0,50$ e $10,62 \pm 0,51$, respectivamente. Observamos ainda que um maior número de rainhas leves iniciaram a ovoposição com 10 dias de idade, enquanto a maioria das rainhas pesadas iniciaram com 11 dias, o que provavelmente ocorreu em função do desenvolvimento mais rápido das rainhas leves, como já citado anteriormente.

Os mecanismos envolvidos na ativação dos ovaríolos, para o início da ovogênese, em abelhas não estão completamente esclarecidos até o momento. Em outros organismos, como *Drosophila melanogaster*, foram identificadas substâncias produzidas pelas glândulas acessórias dos machos, altamente relacionadas ao desencadeamento das cascatas de genes que controlam a ovogênese nestes insetos (Schmidt *et. al.* 1993). Acredita-se que em *Apis mellifera* a contribuição das substâncias produzidas por estas glândulas nos zangões tenha um papel semelhante, importante na biologia reprodutiva das rainhas (Colonello & Hartfelder, 2003; Richard *et. al.*, 2007), embora essa hipótese não esteja totalmente comprovada.

Na coleta de sêmen, dos zangões de *Apis mellifera*, para a inseminação instrumental normalmente tenta-se colher na seringa apenas o sêmen, tomando-se cuidado para não coletar o muco que o acompanha, que é proveniente das glândulas acessórias. O muco é evitado porque ele em poucos minutos se solidifica na ponta da agulha usada para coleta do sêmen, entupindo-a e inviabilizando o prosseguimento da inseminação instrumental. Possivelmente essa precaução da metodologia instrumental consista em um fator que, de alguma forma interfira ou atrase o início da ovoposição das rainhas inseminadas instrumentalmente, em função da carência das substâncias das glândulas acessórias. Nesse caso, o fator que estimularia a ovogênese seria o CO₂, utilizado durante a inseminação para adormecer as rainhas, o qual estimula a secreção de hormônio juvenil, pela glândula *corpora allata*, necessário para que os folículos ovarianos iniciem a vitelogênese, função que em condições naturais seria executada pelas substâncias das glândulas acessórias dos machos (Mackensen, 1947; Engels, *et. al.*, 1976).

De acordo com Cobey (2007) esta variação, de poucos dias, no início da ovoposição entre rainhas fecundadas naturalmente e instrumentalmente pode envolver também uma série de fatores internos e externos da colônia, mas que de modo geral sua influência sobre o sucesso da inseminação é pouco significativa. Esta autora cita autores como Wilde & Bobrzecki (1994), que encontraram uma ligeira superioridade das rainhas fecundadas em vôo relacionada ao início da ovoposição quando comparadas com rainhas inseminadas instrumentalmente.

5.3. Acompanhamento do desenvolvimento das colônias

Os dados de mapeamentos indicaram acentuada diferença entre colônias portadoras de rainhas leves e pesadas, os quais mostram desempenho superior das colônias com rainhas pesadas, para as variáveis relacionadas principalmente à área postura de ovos e cria fechada. Este dado é refletido diretamente na rápida expansão da população, bem como da área colonial, observada em colônias descendentes de rainhas pesadas, o que foi mensurado através do tempo decorrido para a necessidade de transferência das colônias das caixas tipo núcleo (com três quadros e alimentador interno) para caixas tipo ninho (com nove quadros e alimentador interno).

A produção de cria de uma colônia determina sua taxa de expansão e reprodução. Essa produção depende da viabilidade da cria produzida e da conversão do alimento coletado em biomassa para que ocorram os picos populacionais e a enxameações reprodutiva das colônias, em situações naturais (Page, 1980). Levando essa realidade para a atividade apícola, esse pico representa a expansão da área colonial, onde são adicionadas caixas sobreninhos ou melgueiras, de maneira a dar espaço para que as colônias cresçam, evitando assim a enxameação reprodutiva. Desta forma, justifica-se que as colônias com rainhas pesadas tenham apresentado uma diferença média de 23 dias a menos que as colônias com rainhas leves, para que suas colônias tenham se expandido de tal maneira que necessitassem a sua transferência para caixas tipo ninho, uma vez que, de maneira geral apresentaram produção de cria mais acentuada.

Entretanto os resultados aqui relatados discordam, em parte, com os descritos por Szabo e Lefkovitch (1989), que em trabalho comparando rainhas produzidas a partir de larvas de diferentes idades (1, 2 e 3 dias), não detectaram diferenças, entre estes grupos, quanto ao número de células de cria total, tamanho populacional e produtividade de mel em condições ambientais temperadas. Entretanto estes autores não relatam o peso das rainhas avaliadas, assim como é importante comentar que estes dados foram com abelhas européias em clima distinto do clima do local de estudo do presente trabalho. Medina (1993), trabalhando com abelhas africanizadas nas mesmas condições climáticas que as nossas, não encontrou influência do peso da rainha ao nascer

na atividade de postura bem como sobre o desenvolvimento total das colônias. No entanto este último autor não utilizou grupos extremos de peso, como no presente trabalho. Vale ressaltar também que, os autores citados acima, consideraram em suas análises os dados relacionados a cria total, não havendo distinção entre área de postura, cria aberta e fechada, como realizado no presente trabalho, o que se mostrou eficiente na detecção de determinadas diferenças. Quando fazemos uma simulação com os dados do presente trabalho, comparando a área de cria total entre os grupos que analisamos, de fato não foram detectadas diferenças significantes. No entanto, quando esses dados são analisados separadamente (área de postura, cria aberta e cria fechada) observamos que algumas diferenças marcantes são detectadas entre colônias com rainha leve e colônias com rainhas pesadas.

De acordo com Costa (2009) o peso da rainha ao emergir é um indicador do efeito genético e ambiental materno sobre a produtividade, uma vez que estes apresentaram correlação positiva entre si. Uma vez que ambos os grupos de colônias que avaliamos estavam sob as mesmas condições ambientais, acredita-se que o desempenho diferencial entre estas esteja relacionada a fatores intra-coloniais ligados às características fenotípicas dos dois grupos de rainhas, refletidas na população de suas colônias. Um destes fatores pode estar relacionado aos feromônios de comando das rainhas. Pesquisas voltadas a programas de melhoramento genético apícola indicam que a rainha influencia no desenvolvimento da colônia tanto de forma genética, por meio do genótipo passado para a prole, quanto através da qualidade e quantidade da prole e produção de feromônios (Bienefeld & Pirchner, 1990; Bienefeld *et. al.*, 2007).

A ação dos feromônios das rainhas nas mudanças fisiológicas das operárias é de extrema importância na regulação das tarefas desenvolvidas pelas operárias, e conseqüentemente no desempenho da colônia (Pankiw *et. al.*, 1998 b). A Dr^a. Gesline Fernandes de Almeida e colaboradores (*no prelo*) encontraram diferença significativa nas quantidades e proporções de 9-ODA e 9-HDA (substâncias que compõe o feromônio das rainhas) entre rainhas africanizadas e rainhas de subespécie européia (*A. m. carnica*), sendo que estas últimas apresentam taxas superiores destes compostos. Entretanto este estudo não menciona essas expressões entre rainhas leves e pesadas, mas indica que pode

haver diferenças na quantidade e composição dos feromônios das rainhas, e essa diferença pode ser refletida no desempenho das colônias.

As diferenças detectadas no desempenho das colônias descendente de rainhas leves e pesadas poderiam estar relacionadas, ainda, a aspectos ligados a qualidade da cria que estas rainhas produzem e à diversidade genética entre as operárias de ambos os grupos de colônias. Partindo da hipótese, já bem discutida (Woyke, 1967; Tarpay & Page, 2000; Kraus *et. al.*, 2005; Kahya *et. al.*, 2008) de que rainhas pesadas copulam com maior quantidade de zangões que rainhas mais leves, supomos que estas produzam colônias com maior número de subfamílias entre suas operárias.

De acordo com Matilla & Seeley (2007), colônias de grande variabilidade genética, ou seja, colônias em que suas rainhas acasalam-se com maior número de zangões, superam colônias ditas como geneticamente uniformes, em 30% na construção de favos, de 27 a 78% na atividade forrageira e em 39% no estoque de alimentos. As teorias até então defendidas, afirmam que a presença de várias subfamílias dentro da colônia gera respostas mais eficientes das operárias aos estímulos internos e externos da colônia, resultando em melhor alocação e desempenho das operárias nas diferentes atividades intra-coloniais (Oldroyd & Fewell, 2007).

Matilla e colaboradores (2008), chamam a atenção principalmente para à significativa diferença encontrada em relação à atividade de forrageio entre colônias de grande variabilidade genética e colônias geneticamente uniformes. De acordo com estes autores, colônias de grande variabilidade genética apresentam melhor desempenho na atividade de forrageio, expressa pela melhor transmissão e recepção da informação pelas operárias através das danças, assim como por explorar uma área mais extensa para o forrageio que as operárias de colônias uniformes.

Essa percepção diferencial entre colônias de grande variabilidade genética e colônias geneticamente uniformes, pode ser notada ainda com relação à melhor adaptação às condições ambientais mais adversas. De acordo com Myerscough & Oldroyd (2004), colônias geneticamente uniformes podem responder efetivamente aos estímulos intra e extra-coloniais e apresentarem bom desenvolvimento.

Entretanto, as colônias com maior número de subfamílias são mais eficientes nestas respostas o que as confere maior capacidade de se ajustar e se reorganizar, mais eficientemente, diante de mudanças ambientais bruscas. Matilla & Seeley (2007), em trabalho realizado em região de clima temperado, cujo inverno é bastante rigoroso, relata que colônias com maior número de subfamílias sobrevivem melhor a estes períodos extremos, registrando perda de 50% das colônias geneticamente uniformes.

De acordo com Page (1980), o comportamento de provisão de alimento pelas operárias, além de assegurar a sobrevivência da colônia em períodos de escassez de alimento, consiste em um importante fator contribuinte para o bom desenvolvimento da colônia bem como para a atividade da rainha. A presença de provisões nutricionais, dentro do ninho, dá subsídios para que a rainha mantenha sua atividade de postura normal bem como o desenvolvimento da cria, não deixando que a colônia sofra com uma queda no número populacional. Colônias com baixa provisão de alimento resultam em populações instáveis, pois sem estoque de alimento, há uma redução da assistência nutritiva à rainha e à cria em períodos de baixo fluxo de alimento resultando em menor atividade da rainha, nestes períodos de carência nutricional, assim como menor viabilidade da cria.

Quando confrontamos estas informações com os resultados encontrados no presente trabalho, concluímos que a menor taxa de viabilidade de cria em colônias com rainhas leves pode ser uma causa e/ou consequência da performance reduzida destas colônias. A causa seria em função de que a menor taxa de cria viável reflete em uma menor população, logo, menor força de trabalho para a atividade de forrageio, para cuidar da cria e exercer outras atividades fundamentais da colônia; e a consequência seria em função de que o menor fluxo de nutriente na colônia afeta diretamente a assistência a cria. Nos nossos resultados, embora a área de cria aberta tenha mostrado pouca diferença entre os dois grupos de peso das rainhas, a área de cria fechada chegou a mostrar diferenças de até 17% entre colônias com rainhas leves e pesadas fecundadas naturalmente.

Jones e colaboradores (2004), em experimento com colônias com grande variabilidade genética e colônias geneticamente uniformes, submetidas a stress de temperatura (altas e baixas), observaram que colônias com alta variabilidade

genética na população, mantiveram a temperatura mais homogênea na área de cria que colônias geneticamente uniformes. Essa situação afeta diretamente a viabilidade da cria, uma vez que estas necessitam de uma temperatura ótima para o perfeito desenvolvimento. De acordo com Groh e colaboradores (2004), alterações na temperatura ideal de desenvolvimento da cria provocam defeitos no desenvolvimento do sistema neurológico das abelhas, afetando seu potencial de aprendizagem e memória, o que compromete a capacidade de forrageio destas abelhas.

Desta forma, observamos que o fator climático atua ativamente na viabilidade da cria, o que ficou evidenciado por meio do aumento da remoção da cria inclusive em colônias com rainhas pesadas no teste realizado na semana a partir do dia 10 de junho de 2009, quando as temperaturas caíram para até 9°C durante a semana, em que foi desenvolvido este experimento. Com a queda da temperatura, as operárias reduzem a atividade de forrageio, assim como aumentam a demanda para a termorregulação da colônia, necessária para o perfeito desenvolvimento da cria. Colônias com maior poder de resiliência, ou seja, as que conseguem passar por estes períodos com menores perdas, podem ser afetadas por mudanças climáticas, mas a dimensão das perdas é inferior às colméias menos resilientes, o que supomos ser o caso das colônias com rainhas leves.

Outro fato que pode estar atrelado à menor viabilidade de cria em colônias com rainhas leves baseia-se ainda na hipótese de que estas rainhas sejam menos poligâmicas que as rainhas pesadas. De acordo com Tarpy & Page, (2002), o aumento do número de cópulas pelas rainhas reduz o percentual de acasalamentos consangüíneos, determinante na ocorrência de zangões diplóides. A alta proporção de larvas de zangões diplóides na área de cria resulta em menor viabilidade destas (Page, 1980). A alta ocorrência de zangões diplóides resulta em quadros de cria falhados, comumente denominado quadro tipo “tiro-de-espingarda”, pois o desenvolvimento dos zangões diplóides é interrompido ainda na fase larval, o que afeta negativamente o desempenho da colônia (Kerr, 1972).

Embora os resultados encontrados neste trabalho nos apontem indícios de diferença na diversidade genética entre as colônias portadoras de rainhas leves e

pesadas, maiores investigações comprobatórias merecem ser realizadas a fim de esclarecer com maior precisão esta hipótese.

Com relação à área de postura de ovos, área de cria aberta e área de estoque de pólen não foram identificadas correlações estatisticamente significantes entre estas variáveis. De maneira semelhante, Medina (1993), observou que as épocas de maior quantidade de cria era a de menor estoque de pólen e néctar e vice-versa.

Os dados de desenvolvimento de colônias, encontrados no presente trabalho, assemelham-se ainda aos dados observados por Oldroyd e Goodman (1990) em trabalho com *Apis mellifera caucásica e ligustica*, onde não foram detectadas correlações significantes entre a área de cria e a produção de mel. De acordo com estes autores, a área de cria, fenótipo ligado a fecundidade, possivelmente não seja o único fator materno que afete a produtividade, podendo ser os feromônios outro fator de grande influência no estímulo ao forrageio.

A falta de correlação direta entre a área de cria e a de pólen, possivelmente esteja associada a dois fatores em especial: primeiro a uma relação espacial, uma vez que, se há muita cria ocupando área dentro da colônia, falta espaço para armazenagem de pólen e vice-versa; a segunda, que não invalida a anterior, diz respeito ao tempo necessário para transformação deste alimento em biomassa. Quando fazemos as análises de correlação comparando as médias de cada mapeamento temos que levar em conta que a área de alimento, encontrada em uma observação, só será refletida posteriormente na área de postura e cria. Entretanto, nossos dados coletados quinzenalmente, não confirmaram esta relação, uma vez que notamos a ausência de um padrão entre a área de estoque de alimento e posterior conversão em biomassa. A área de pólen encontrada em um mapeamento, não necessariamente foi refletida na área de cria no mapeamento seguinte. Essa grande variação é ainda bem observada entre as colônias, onde se observa que, de maneira geral, a colônia 218, de melhor desempenho entre todas as colônias, é a única que apresenta certo padrão relacionado ao aumento de área de estoque de pólen e posterior reflexo na área de postura, cria aberta e fechada. Nas demais colônias, nota-se que existe aumento da área de cria, porém de maneira menos padronizada.

Acreditamos que a metodologia utilizada no presente trabalho mereça algumas modificações, relacionadas principalmente ao intervalo de tempo com o qual são realizados os mapeamentos. O intervalo de 15 dias utilizado, possivelmente seja muito extenso para a detecção da influência da quantidade de alimento sobre a produção de cria, em função da rápida conversão do alimento em biomassa.

De acordo com Fletcher (1991), as abelhas africanizadas apresentam uma tendência à rápida transformação do alimento em biomassa, como forma a produzir uma população vigorosa e acelerar a reprodução das colônias. Desde que sejam realizados manejos adequados, este rápido crescimento pode ser utilizado a favor da produção apícola, já que reflete num fortalecimento das colônias e conseqüente aumento da produtividade destas.

Em relação às comparações realizadas entre as colônias com rainhas fecundadas naturalmente e com rainhas inseminadas instrumentalmente, algumas diferenças estatisticamente significantes foram encontradas. Estas relacionam-se principalmente à área de postura de ovos e estoque de pólen, sendo que as colônias com rainhas fecundadas naturalmente apresentaram médias superiores às colônias descendentes de rainhas inseminadas instrumentalmente.

Harbo & Szabo (1984) observaram desempenho significativamente menor de colônias descendentes de rainhas inseminadas artificialmente para as variáveis de área cria e produtividade de mel, bem como uma menor longevidade destas, em relação a colônias descendentes de rainhas fecundadas naturalmente. Entretanto, estudos desenvolvidos em vários centros de pesquisa constataram a viabilidade e sucesso da utilização da técnica de inseminação instrumental como ferramenta nos programas de melhoramento genético (Cobey, 1998; Pritsch & Bienefeld, 2002).

Al-Qarni e colaboradores (2003) mostraram desempenho similar entre colônias com rainhas inseminadas instrumentalmente e com rainhas fecundadas naturalmente. Embora tenha encontrado um desempenho ligeiramente superior das rainhas fecundadas naturalmente, relacionadas à produção de cria e estoque de néctar, assim como maior longevidade destas rainhas, estas diferenças não se mostraram estatisticamente significantes.

Vale ressaltar que, de acordo com os dados encontrados no presente trabalho, o tempo necessário para a expansão populacional a ponto de ser necessária a transferência para ninhos das colônias com rainhas fecundadas naturalmente foi semelhante ao tempo das colônias com rainhas inseminadas instrumentalmente. Desta forma, apesar das diferenças apresentadas com relação às médias de área de cria e estoque de alimento, esta não é suficiente para interferir no desempenho geral destas colônias, o que comprova a eficácia e viabilidade da utilização da inseminação instrumental nos programas de melhoramento genético de modo a garantir o “pedigree” tanto da linhagem materna quanto paterna.

Uma vez que as rainhas fecundadas naturalmente, avaliadas no presente trabalho, ainda encontram-se vivas e reprodutivamente ativas, a comparação entre a longevidade destas rainhas com as inseminadas instrumentalmente não pode ser realizada até então. Entretanto até o presente momento, a longevidade de ambos os grupos apresentam-se semelhantes. Al-Qarni e colaboradores (2003) observaram que rainhas fecundadas naturalmente apresentaram uma taxa de longevidade superior em relação às rainhas inseminadas, muito embora esta diferença não seja estatisticamente significativa. Cobey (2007), em uma revisão, cita trabalhos realizados por Vesely (1984) e por Szabo e Harbo (1984), os quais relatam semelhante diferença entre a longevidade destes grupos de rainhas, embora cite também trabalhos realizados por Wilde (1986) e por Konopacka (1987), que apontam semelhante sobrevivência em ambos os grupos.

A longevidade das rainhas está diretamente relacionada à quantidade de sêmen estocado no momento da fecundação. Em função disso uma série de fatores podem estar interferindo na quantidade de sêmen efetivamente estocado na espermateca das rainhas inseminadas instrumentalmente. Por maior que seja a quantidade de sêmen utilizado para inseminar as rainhas, é pouco provável que possamos estimar o volume exato da espermateca das rainhas inseminadas e a quantidade adequada de sêmen que deve ser utilizada. Já no caso da fecundação natural, as rainhas copulam até o preenchimento máximo da espermateca.

Observamos ainda que, neste experimento, quando comparadas às médias de longevidade entre rainhas leves e pesadas inseminadas instrumentalmente, existe uma diferença de 83 dias a mais de vida para rainhas pesadas. Esta

diferença pode ser atribuída à diferente capacidade de estoque da espermateca entre estes dois grupos de peso (Woyke, 1967; Medina, 1993; Kahya *et. al.*, 2008). Embora as rainhas tenham recebido mesma dosagem de sêmen, no momento da inseminação instrumental, não necessariamente a mesma quantidade ficou estocada na espermateca das rainhas de ambos os grupos, sendo que as rainhas mais leves podem ter retido no oviduto uma maior quantidade de sêmen, de forma que o sêmen não migrou totalmente para a espermateca. Esse fato pode ter refletido na longevidade diferenciada destes dois grupos.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS:

Tendo em vista os resultados encontrados no desenvolvimento desta dissertação, as principais considerações a serem feitas são:

- ✓ Rainhas leves, de peso inferior a 180 mg, iniciaram as atividades de vôo com um dia de antecedência, em média, em relação as rainhas pesadas, com peso superior a 200 mg;
- ✓ As rainhas leves realizaram menor número de vôos de reconhecimento que as rainhas pesadas, assim como gastaram menos tempo na realização destes vôos;
- ✓ As rainhas pesadas saíram em segundo vôo de acasalamento com menos frequência que as rainhas leves, o que nos leva a supor que as rainhas pesadas, apresentam melhor otimização da atividade de vôo (maior número de cópulas em menor número de vôos nupcias), do que as rainhas leves, já que o maior volume da espermateca das rainhas pesadas requer uma maior quantidade de sêmen para completá-la;
- ✓ O tempo gasto nos vôos de acasalamento, bem como os horários em que estes vôos foram realizados, foi semelhante tanto para rainhas leves como pesadas, o que corrobora suposição anterior citada;
- ✓ As rainhas leves fecundadas naturalmente iniciaram a atividade de postura em média um dia antes que as rainhas pesadas;
- ✓ Colônias com rainhas pesadas, fecundadas naturalmente, apresentaram melhor desempenho que as rainhas leves, apresentando médias superiores para área de postura de ovos e área de cria fechada;
- ✓ Colônias com rainhas leves apresentaram menor viabilidade de cria que colônias com rainhas pesadas, o que supomos ser umas das causas do desempenho inferior, ou baixa performance, das colônias com rainhas leves;

- ✓ Não foram encontradas correlações significativas entre a área de pólen e as variáveis, área de postura, cria aberta e cria fechada. Entretanto acreditamos que a metodologia utilizada no presente trabalho, relacionada principalmente ao intervalo entre os mapeamentos utilizado, não seja a mais adequada para a identificação destas relações;
- ✓ As colônias com rainhas pesadas necessitaram de menos tempo para a expansão populacional necessária para transferência para colméias maiores, tipo ninho. A diferença entre os dois grupos foi de 24 dias a menos para colônias com rainhas pesadas;
- ✓ Rainhas fecundadas naturalmente iniciaram a atividade de postura, em média, um dia mais cedo que rainhas inseminadas instrumentalmente, sendo que as rainhas fecundadas naturalmente iniciaram com $9,31 \pm 2,49$ dias e as inseminadas instrumentalmente com $10,43 \pm 0,51$ dias, muito embora esta diferença não tenha demonstrado significância em relação ao desenvolvimento de suas colônias;
- ✓ Colônias com rainhas fecundadas naturalmente apresentaram médias de áreas de postura maiores, estatisticamente significantes, que as colônias com rainhas inseminadas instrumentalmente. No entanto, com relação aos grupos peso, as rainhas pesadas fecundadas naturalmente superaram as leves nas áreas de postura, diferença não encontradas entre as colônias com rainhas leves e pesadas inseminadas instrumentalmente;
- ✓ Não houve diferença entre colônias com rainhas fecundadas naturalmente e inseminadas instrumentalmente em relação ao tempo de expansão das colônias;
- ✓ Não houve diferença na longevidade das rainhas leves e pesadas inseminadas instrumentalmente;

- ✓ A utilização da técnica de inseminação instrumental de abelhas mostrou-se viável para aplicação em programas de melhoramento apícola, uma vez que não encontramos diferenças significativas no desenvolvimento de colônias com rainhas inseminadas instrumentalmente e com rainhas fecundadas naturalmente;

- ✓ Tomando-se por base os principais resultados obtidos no presente trabalho, que mostram que rainhas pesadas apresentam melhor otimização da atividade de vôo nupcial, áreas de postura e de cria fechada superiores, maior viabilidade da cria e menor tempo de expansão populacional, concluímos que rainhas pesadas, com peso acima de 200 mg, deve ser uma característica fenotípica a ser adotada nos programas de seleção e melhoramento de abelhas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- Adams, J.; Rothman, E. D.; Kerr, W. E. & Paulino, Z. L.** 1977. Estimation of the number of sex alleles and queen mating from diploid male frequencies in a population of *Apis mellifera mellifera*. *Genetics* **86**, 583-596.
- Al-Qarni, A. S.; Smith, B. H. & Cobey, S.** 2003. Performance evaluation of naturally mated and instrumentally inseminated Honeybee (*Apis mellifera* L.) queens in field colonies. *Pakistan Journal Biological Sciences* **6**(17), 1476-1481.
- Almeida, R. B. R.** 1985. Estudo da competição do movimento migratório de espermatozoides de zangões selvagens e mutantes para a fertilização dos óvulos de rainhas de *Apis mellifera*. Dissertação de mestrado apresentada a Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP.
- Almeida, G. F.; Chaves, A. R.; Gonçalves, L. S. & Queiroz, M. E. C.** (no prelo). Determination and Quantification of the pheromones in queens of Africanized and European honey bees during normal conditions and absconding process using Liquid Chromatography.
- Bienefeld, K.; Ehrhardt, K. & Reinhardt, F.** 2007. Genetic evaluation in the honey bee considering queen and worker effects – A BLUP-Animal Model approach. *Apidologie* **38**, 77-85.
- Bienefeld, K. & Pirchener, F.** 1990. Heritabilities for several colony traits in the honeybee (*Apis mellifera carnica*). *Apidologie* **38**, 77-85.
- Boch, R. & Jamieson, C.A.** 1960. Relation of body weight to fecundity in queen honeybees. *Canadian Entomologist* **92**(9), 700-701.
- Brandeburgo, M. A. M.** 1986. Comportamento de defesa (agressividade) e aprendizagem de abelhas africanizadas: Análise de correlação entre variáveis biológicas e climáticas, herdabilidade e observações em colônias irmãs. Tese de doutorado apresentada a Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto - USP.

- Bugalho, V. A.** 2009. Influência das precipitações pluviométricas e da atividade forrageira das abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.) no comportamento higiênico. Dissertação de mestrado apresentada a Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto - USP.
- Butler, C. G.** 1960. The significance of queen substance in swarming and supersedure in honey-bee (*Apis mellifera* L.) colonies. *Proceedings of the Royal Entomological Society of London* **35**,129-132.
- Camargo, J. M. F.** 1972. Técnica de controle de cruzamento. *Manual de Apicultura*, Ed. Camargo, J. M. F. *Editora Agronômica Ceres Ltda. São Paulo. Brasil.* 60-96 pp.
- Camargo, J. M. F. & Gonçalves L. S.** 1971. Manipulation procedures in the technique of instrumental insemination of queen honeybees *Apis mellifera* L. (HYMENOPTERA: APIDAE). *Apidologie* **2**(3), 239-246.
- Carvalho, C. A.; Bento, J. M. S. & Marchini L. C.** 2001. Feromônios de abelhas. *In. Feromônios de insetos: biologia, química e aplicação.* Ed. Vilela E. F.; Della Lucia, T. M. C. 2ª Edição. *Holos Editora, Ribeirão Preto.* 83-92 pp.
- Cermák, K.** 2004. Evaluation of artificially inseminated and naturally mated bee queens in Zubri. *Czech Republic (in Czech), Vcelarstvi* **57**, 148-149.
- Cobey, S.** 1983. The development of instrumental insemination. *American Bee Journal* **123**, 108-111.
- Cobey, S.** 1998. A comparison of colony performance of instrumentally inseminated and naturally mated honey bee queens. Proceedings of American Bee Research Conference, Colorado Springs, CO, *American Bee Journal* **138**, 292.
- Cobey, S.** 2007. Comparison studies of instrumentally inseminated and naturally mated honey bee queens and factors affecting their performance. *Apidologie* **30**, 390-410.

- Cobey, S.; Frondk, K. & Laidlaw, H. H.** 1986. Instrumental Insemination: adapting the Mackensen plastic tip for use with a glass tip. *Bee World* **67**(1), 9-11.
- Cole, B. J.** 1983. Multiple mating and the evolution of social behaviour in the Hymenoptera. *Behavioral Ecology Sociobiology* **12**, 191-201.
- Colonello, N. A. & Hartfelder, K.** 2003. Protein content and pattern during mucus gland maturation and its ecdysteroid control in honey bee drones. *Apidologie* **34**, 257-267.
- Corbella, E. & Gonçalves, L. S.** 1982. Relationship between weight at emergence, number of ovarioles, and spermathecal volume of africanized honeybees queens *Apis mellifera* L. *Revista Brasileira de Genética* **5**, 835-840.
- Cornuet, J. M.; Daoudi, A. & Chevalet, C.** 1986. Genetic pollution and number of matings in a black honeybee (*Apis mellifera mellifera*) population. *Theoretical and applied genetics* **73**, 223-227.
- Costa, F. M.** 2009. Aspectos genéticos da produção de mel e comportamento higiênico em abelhas *Apis mellifera* africanizadas. Tese de Doutorado apresentada a Universidade de Maringá - PR.
- Costa-Leonardo, A. M. C.** 1980. Morphologic studies of the secretory cycle of the mandibular glands of *Apis mellifera* (Hymenoptera–Apidae). *Revista Brasileira de Entomologia* **24**, 142-152.
- Cristino, A. S.** 2003. Aspectos reprodutivos envolvidos no processo de Africanização das abelhas *Apis mellifera* no Brasil. Dissertação de mestrado apresentada á Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP.
- Crozier, R. H. & Fjerdingstad, E. J.** 2001. Polyandry in social Hymenoptera - disunity in diversit? *Annales Zoologici Fennici* **38**, 267-285.
- Crozier, R. H. & Page, Jr., R. E.** 1985. On being the right size: male contributions and multiple mating in social Hymenoptera. *Behavioral Ecology and Sociobiology* **18**, 105-115.

- Cruz-Landin, C.** 1963. Evolution of wax and scent glands of the Apinae. *Journal of the New York Entomological Society* **71**, 2-13.
- Dade, H. A.** 1977. *Anatomy and dissection of the honeybee*. London, International Bee Research Association. 158p.
- Degrandi-Hoffman, G.; Watkins, J. C.; Collins, A. M.; Loper, G. M.; Martin, J. H.; Arias, M. C. & Sheppard, W. S.** 1998. Queen developmental time as a factor in the Africanization of European honey bee (Hymenoptera: Apidae) populations. *Annals of the Entomological Society of America* **91**, 52-58.
- Eckert, J. E.** 1934. Studies on the number of ovarioles in queen honeybees in relation to body size. *Journal of Economic Entomology* **27**, 629-635.
- Engels, W.; Gonçalves, L. S. & Engels, E.** 1976. Effects of carbone dioxide on vitelogenin metabolism in unmated queen honeybees. *Journal of Apicultural Research* **15**, 3-10.
- Engelsdorp, D. V. & Otis, G. W.** 2000. Application of a modified Selection index for honey bees (Hymenoptera:Apidae). *Journal of Economic Entomology* **93**(6), 1606-1612.
- Estoup, A.; Solignac, M. & Cornuet, J. M.** 1994. Precise assessment of the number of patriline and of genetic relatedness in honey bee colonies. *Proceedings of the Royal Society London* **258**, 1-7.
- Fewell, J. H.** 2003. Social insect networks. *Science* **301**, 1867-1870.
- Fewell, J. H. & Bertram, S. M.** 1999. Division of labor in a dynamic environment responses by honey bees (*Apis mellifera*) to graded changes in colony pollen stores. *Behavioral Ecology Sociobiology* **46**, 171-179.
- Fletcher, D. J. C.** 1991. Interdependence of genetics and ecology in a solution to African bee problem. In: *The African honey bee*. Ed. Spivac, M.; Fletcher, D.J.C.; Breed, M.D. Westview Press; Boulder, CO, USA; 77-94 pp.

- Franck, P.; Koeniger, N.; Lahner, G.; Crewe, R. M. & Solignac, M.** 2000. Evolution of extreme polyandry: an estimative of mating frequency in two African honeybee subspecies, *Apis mellifera monticola* and *A. m. scutellata*. *Insectes Sociaux* **47**, 364-370.
- Frank, P.; Solignac, M.; Vautrin, D.; Cornuet, J. M.; Koeniger, G. & Koeniger, N.** 2002. Sperm competition and last-male precedence in the honeybee, *Animal Behavior* **64**, 503-509.
- Francoy, T. M.** 2007. Variabilidade genético-morfológica em populações Neotropicais de *Apis mellifera*. Tese de doutorado apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP.
- Francoy, T. M. & Gonçalves, L. S.** 2004. A New Mini Syringe for Multiple Inseminations of Honey Bee Queens. *American Bee Journal* **144**(8), 628-630.
- Francoy, T. M.; Gonçalves, L. S.; Santos, J. J. & De Jong, D.** 2005. Mini Starter-finisher Hive Model that facilitates queen rearing. *American Bee Journal* **145**(6), 503-505.
- Fuchs, S. & Moritz, R. F. A.** 1999. Evolution of extreme polyandry in honeybee *Apis mellifera* L. *Behavioral Ecology Sociobiology* **45**, 269- 275.
- Fuchs, S. & Schade, V.** 1994. Lower performance in honeybee colonies of uniform paternit. *Apidologie* **25**, 155-168.
- Gary, N. E.** 1963. Observations of mating behavior in the honeybee. *Journal of Apicultural Research* **2**, 3-13.
- Gilley, D. C.; Tarpy, D. R. & Land, B. B.** 2003. Effect of queen quality on interactions between workers and dueling queens in honeybee (*Apis mellifera* L.) colonies. *Behavioral Ecology Sociobiology* **55**, 190-196.
- Gonçalves, L. S.** 1970. Análise genética do cruzamento entre *Apis mellifera ligustica* e *Apis mellifera adansonii*. Escolha e análise genética dos

caracteres morfológicos da cabeça e tórax. Tese de doutorado apresentada a Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto - USP.

Gonçalves, L. S. 1972. Cruzamentos naturais e artificiais. Técnicas utilizadas na inseminação instrumental de rainhas de *Apis mellifera*. *Anais: 2º Congresso Brasileiro de Apicultura com participação internacional da 2ª Feira-Exposição de materiais e produtos Apícolas*. Sete Lagoas – MG. 26-33pp.

Gonçalves, L. S. 1976. Seleção direcional em duas linhagens endocruzadas de *Apis mellifera* L. Tese de Livre-Docência apresentada a Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP.

Gonçalves, L. S. 2004 a. A expansão da apicultura brasileira e suas perspectivas em relação ao mercado internacional. *Anais: XV Congresso Brasileiro de Apicultura e 1º Congresso Brasileiro de Meliponicultura*. Natal-RN, (Edição em CD) 7 pp.

Gonçalves, L. S. 2004 b. The big challenge : Development of beekeeping with africanized honey bees in Northeast Brazil. *Proceedings: 8th IBRA International Conference on Tropical Bees and Encontro sobre abelhas*. Ribeirão Preto – SP. 241-246pp.

Gonçalves, L. S. 2009. Queen production in CETEC – Technological Center of Beekeeping in Mossoró – RN – Brazil. *Proceedings: 41º APIMONDIA*. Montpellier – França.

Gonçalves, L. S. & Brites, J. P. 1970. Nota sobre um novo instrumental usado na inseminação de rainhas de hymenopteros. *Anais: 1º Congresso Brasileiro de Apicultura*. Florianópolis-SC. 119-122 pp.

Gonçalves, L. S. & Kerr, W. E. 1970. Genética, Seleção e Melhoramento. 1. Noções sobre genética e melhoramento em abelhas. *Anais: 1º Congresso Brasileiro de Apicultura*, Florianópolis-SC. 8-36 pp.

Groh, C.; Tautz, J. & Rössler, W. 2004. Synaptic organization in the adult honey bee brain is influenced by brood-temperature control during pupal

- development. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **101**, 4268-4273.
- Hamman, E.** 1957. Which takes the initiative in the virgin queen's flight, the queen or the workers? *Insectes Sociaux* **4**, 91-106.
- Harbo, J. R.** 1986 a. Ovoposition rates of instrumentally inseminated and naturally mated queens honey bees fertilized by artificial inseminations. *Annals Entomological Society America* **79**, 112 -115.
- Harbo, J. R.** 1986 b. Propagation and instrumental insemination, *In: Bee Breeding and Genetics*. Ed. Rinderer T.E., Academic Press, Inc. 361-389 pp.
- Harbo, J. R. & Szabo, T. J.** 1984. A comparison of instrumentally inseminated and naturally mated queens. *Journal Apicultural Research* **23**, 31-36.
- Hatch, S.; Tarpy, D. R. & Fletcher, D. J. C.** 1999. Worker regulation of emergency queen rearing in honey bee colonies and the resultant variation in queen quality. *Insectes Sociaux* **46**, 372-377.
- Hellmich, R. L.; Kulinčević, J. M. & Rothenbuhler, W. C.** 1985. election for high and low pollenhoarding Honeybees. *The Journal of Heredity*, **76**(3), 155-158.
- Hoopingarner, R. & Farrar, C. L.** 1959. Genetic control of size in queen honeybees. *Journal Economic Entomology* **52**, 547-548.
- Huang, Z-H. & Robinson, G. E.** 1996. Regulation of honey bee division of labor by a colony age demography. *Behavioral Ecology Sociobiology* **39**,147-158.
- Jones, J. C.; Myerscough, M. R.; Graham, S. & Oldroyd, B. P.** 2004. Termoregulation: Diversity promotes stability. *Science* **305**, 402-404.
- Kaftanoglu, O. & Peng, Y. S.** 1986. A new syringe for semen storage and instrumental insemination of queen honeybee. *Journal Apicultural Research* **19**(1), 73-76.

- Kahya, Y.; Gençer, H. V. & Woyke, J.** 2008. Weight at emergence of honey bee (*Apis mellifera caucasica*) queens and its effect on live weights at the pre and post mating period. *Journal Apicultural Research* **47**(2), 118-125.
- Keller, L. & Reeve, H.** 1994. Genetic variability, queen number, and polyandry in social Hymenoptera. *Evolution* **48**, 694-704.
- Kerr, W. E.** 1972. Técnica de controle de cruzamento. *Manual de Apicultura*, Ed. Camargo J. M. F. Editora Agronômica Ceres Ltda. São Paulo. Brasil. 97-115 pp.
- Kerr, W. E.; Gonçalves, L. S.; Blotta, L. F. & Maciel, H. B.** 1970. Biologia comparada entre as abelhas italianas (*Apis mellifera ligustica*), Africana (*Apis mellifera adansonii*) e suas híbridas. *Anais: 1º.Congresso Brasileiro de Apicultura*. Florianópolis-SC. 151-185 pp.
- Kerr, W. E.; Martinho, M. R. & Gonçalves, L. S.** 1980. Kinship selection in bees. *Revista Brasileira de Genética* **3**, 339-344.
- Koeniger, N. & Koeniger, G.** 2007. Mating flight duration of *Apis mellifera* queens: as short as possible, as long as necessary. *Apidologie* **38**, 606-611.
- Koeniger, N.; Koeniger, G. & Mardan, M.** 1994. Mimicking a honeybee queen? *Vespa affinis indosinensis* Pérez 1910 hunts drones of *Apis cerana* F. 1793. *Ethology* **98**, 149-153.
- Koeniger, N.; Koeniger, G. & Wongsiri, S.** 1989. Mating and sperm transfer in *Apis florea*. *Apidologie* **20**, 413- 418.
- Kraus, F. B.; Neumann, P. & Moritz, F.A.** 2005. Genetic variance of mating frequency in the honeybee (*Apis mellifera* L.) *Insectes Sociaux* **52**, 1-5.
- Kraus, F. B.; Neumann, P.; Praagh, J. V. & Moritz, R. F. A.** 2004. Sperm limitation and the evolution of extreme polyandry in honeybees (*Apis mellifera* L.). *Behavioral Ecology Sociobiology* **55**, 494-501.

- Kraus, F. B. & Page Jr., R. E.** 1998. Parasites, pathogens and polyandry in social Insects. *American Naturalist* **151**(4), 383-391.
- Laidlaw Jr., H. H.** 1949 a. New instruments for artificial insemination. *American Bee Journal* **89**, 566-567.
- Laidlaw Jr., H. H.** 1949 b. Development of precision instruments for artificial insemination of queen bees. *Journal Economic Entomology* **42**, 254-261.
- Laidlaw Jr., H. H.** 1998. *Criação contemporânea de rainhas*. Traduzido por Carlos Alberto Osowski. Canoas: La Salle. 219p.
- Le Conte, Y.; Mohammedi, A. & Robinson, G. E.** 2001. Primer effects of a brood pheromone on honeybee behavioral development. *Proceedings of the Royal Society of London* **268**,163-164.
- Lensky, Y. & Demeter, M.** 1985. Mating flight of the queen honeybee (*Apis mellifera* L.) in a subtropical climate. *Comparative Biochemistry Physiology* **81**(2), 229-241.
- Lobo, J. A. & Kerr, W. E.** 1993. Estimation of number of matings in *Apis mellifera*: extensions of the model and comparison of different estimates. *Ethology, Ecology and Evolution* **5**, 337- 345.
- Mackensen, O.** 1947. Effect of carbon dioxide on initial ovoposition of artificially inseminated and virgin queen bees. *Journal Economic Entomology* **40**, 344-349.
- Mackensen, O.** 1948. A new syringe for the artificial insemination of queen bees. *American Bee Journal* **88**, 412.
- Mackensen, O.** 1954. Some improvements in method and syringe desing in artificial insemination of queen bees. *Journal Economic Entomology* **47**:765-768.
- Mackensen, O. & Tucker, K. W.** 1970. *Instrumental insemination of queen bees*. Agriculture Handbook, 390. USDA. Washington. 28p.

- Martinho, M. R.** 1979. Competição reprodutiva entre machos de *Apis mellifera ligustica* e migração de espermatozoides para espermoteca de rainhas. Tese de doutorado apresentada a Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP.
- Matilla, H. R.; Burke, K. M. & Seeley, T. D.** 2008. Genetic diversity within honeybee colonies increases signal production by waggle-dancing foragers. *Proceedings of the Royal Society B* **275**, 809-816.
- Matilla, H. R. & Seeley, T. D.** 2007. Genetic diversity in honey bee colonies enhances productivity and fitness. *Science* **317**, 362-364.
- Medina, L. A. M.** 1993. Avaliação da técnica de dupla transferência de larvas sobre algumas características reprodutivas nas rainhas virgens e efeito do peso da rainha virgem sobre sua aceitação, fecundação, e desenvolvimento das colônias de abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.). Dissertação de mestrado apresentada a Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto - USP.
- Michener, C. D.** 1974. *The social behaviour of bees: A comparative Study*. Cambridge: Belknap Press of Harvard University Press, 404p.
- Moritz, R. F. A.** 1983. Homogenous mixing of honeybee semen. *Journal Apicultural Research* **22**, 249-255.
- Moritz, R. F. A.** 1986. Estimating the genetic variance of groups characters: social behaviour of honeybees (*Apis mellifera* L.). *Theoretical Applied Genetics* **72**, 513-517.
- Moritz, R. F. A.; Kryger, P.; Koeniger, G.; Koeniger, N.; Estoup, A. & Tingek, S.** 1995. High degree of polyandry in *Apis dorsata* queens detected by DNA microsatellite variability. *Behavioral Ecology and Sociobiology* **37**, 335-363.
- Moritz, R. F. A. & Southwick, E. E.** 1987. Phenotypic interactions in group behaviour of honey bees workers (*Apis mellifera* L.). *Behavioral Ecology Sociobiology* **21**, 53-57.

- Myerscough, M. R. & Oldroyd, B. P.** 2004. Simulation models of the role of genetic variability in social task allocation. *Insectes Sociaux* **51**, 146-152.
- Nelson, D. L. & Laidlaw, H. H.** 1988. An evaluation of instrumentally inseminated queens shipped in packages. *American Bee Journal* **128**, 279-280.
- Oldroyd, B. P.; Clifton, M. J.; Wongsiri, S.; Rinderer, T. E.; Sylvester, A. & Crozier, R. H.** 1997. Polyandry in the genus *Apis*, particularly *Apis andreniformis*. *Behavioral Ecology Sociobiology* **40**, 17-26.
- Oldroyd, B. P. & Fewell, J. H.** 2007. Genetic diversity promotes homeostasis in insect colonies. *Ecology and evolution* **22**(8), 408-412.
- Oldroyd, B. P. & Goodman, R. D.** 1990. On the relative importance of queens and workers to honey production. *Apidologie* **21**, 153-159.
- Oldroyd, B. P.; Rinderer, J. R.; Harbo, J. R. & Buco, S. M.** 1992. Effects of intracolony genetic diversity on honey bee (Hymenoptera: Apidae) colony performance. *Annals of the Entomological Society of America* **85**, 335-343.
- Oldroyd, B. P.; Rinderer, T. E.; Schwenke, J. R. & Buco, S. M.** 1994. Subfamily recognition and task specialization in honey bees (*Apis mellifera* L.) (Hymenoptera: Apidae). *Behavioral Ecology Sociobiology* **34**, 169-173.
- Oldroyd, B. P.; Smolenski, A. J.; Cornuet, J.; Wongsiri, S.; Estoup, A.; Rinderer, T. E. & Crozier, R. H.** 1995. Levels of polyandry and intracolony relationships in *Apis florea* are similar to those in *Apis mellifera*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* **37**, 329- 335.
- Oldroyd, B. P.; Smolenski, A. J.; Cornuet, J.; Wongsiri, S.; Estoup, A.; Rinderer, T. E. & Crozier, R. H.** 1996. Levels of polyandry and intracolony genetic relationships in *Apis dorsata* (Hymenoptera: Apidae). *Annals of the Entomological Society of America* **89**, 276-283.
- Page Jr., R. E.** 1980. The evolution of multiple mating behavior by honey bee queens (*Apis mellifera* L.). *Genetics* **96**, 263-273.

- Page Jr., R. E. ; Kimsey, R. B. & Laidlaw Jr., H. H.** 1984. Migration and dispersal of spermatozoa in spermatheca of queen honeybees (*Apis mellifera* L.). *Experientia* **40**,182-184.
- Page Jr., R. E. & Metcalf, R. A.** 1982. Multiple mating sperm utilization and social evolution. *American Naturalist* **119**(2), 263-282.
- Page Jr., R. E.; Robinson, G. E.; Fondrk, M. K. & Nars, M. E.** 1995. Effects of worker genotypic diversity on honey bee colony development and behavior (*Apis mellifera* L.) *Behavioral Ecology Sociobiology* **36**, 387-396.
- Palacio, M. A.** 1991. Efeito da inseminação instrumental e da endogamia na dinâmica de populações de abelhas européias e africanizadas e na migração de espermatozoides para a espermateca de rainhas de *Apis mellifera* L. Dissertação de mestrado apresentada a Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto - USP.
- Palmer, K. A. & Oldroyd, B. P.** 2000. Evolution of multiple mating in the genus *Apis*. *Apidologie* **31**, 235-248.
- Pankiw, T.** 1998 a. Brood pheromone regulates foraging activity of honey bees (Hymenoptera-Apidae). *Journal Economic Entomology* **97**(3), 748-751.
- Pankiw, T.** 2004 a. Cued in: honey bee pheromones as information flow and collective decision-making. *Apidologie* **35**, 217-226.
- Pankiw, T.; Hang, Z. Y.; Winston, M. L. & Robinson, G. E.** 1998 b. Queen mandibular gland pheromone influences worker honey bee (*Apis mellifera* L.) foraging ontogeny and juvenile hormone titers. *Journal Insect Physiology* **44**, 685-692.
- Pankiw, T. & Page Jr., R. E.** 2001. Brood pheromone modulates sucrose response threshold in honeybees (*Apis mellifera* L.). *Behavioral Ecology Sociobiology* **49**, 206-213.

- Pankiw, T.; Roman, R.; Sagili, R. R. & Zhu-Salzman, K.** 2004 b. Pheromone-modulated behavioral suites influence colony growth in the honey bee (*Apis mellifera*). *Naturwissenschaften* **91**, 575-578.
- Patrício, K. & Cruz-Landim, C.** 2000. Mating influence in the ovary differentiation in adult queens of *Apis mellifera* L. (Hymenoptera, Apidae). *Brazilian Journal Biology* **62**(4A), 641-649.
- Pereira, F. M.; Gonçalves, J. C. & Oliveira, L. A.** 2000. Gargálos tecnológicos e não tecnológicos. In: *Cadeia produtiva do mel no estado do Piauí*. Ed.VILELA, S.L.O. Teresina: *Embrapa Meio-Norte*. 30-47 pp.
- Pritsch, G. & Bienefeld, K.** 2002. Comparison of performance of bee colonies with naturally mated and artificially inseminated queens (*A. m. carnica*). *Apidologie* **33**, 513.
- Richard, F.-J.; Tarpy, D. R. & Grozinger, C. M.** 2007. Effects of insemination quantity on honey bee queen physiology. *Plos ONE* **2**(10), 1-9.
- Robinson, G. E.** 1992. Regulation of division of labor in insect societies. *Annual Review Entomology* **37**, 637-665.
- Robinson, G. E. & Vargo, E. L.** 1997. Juvenile hormone in adult eusocial Hymenoptera: gonadotropin and behavioral pacemaker. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* **35**, 559-583.
- Ruttner, F.** 1956. The mating of honeybee. *Bee World* **37**, 2-15, 23-24.
- Schlüns, H.; Moritz, R. F. A.; Neumann, P.; Kryger, P. & Koeniger, G.** 2005. Multiple nuptial flights, sperm transfer evolution of extreme polyandry in honey bee queens. *Animal Behavior* **70**, 125-131.
- Schmidt, T.; Choffat, Y.; Klauser, S. & Kubli, E.** 1993. The *Drosophila melanogaster* sex peptide – a molecular analysis of structure-function relationships. *Journal of Insect Physiology*. **39**, 361-368.

- Seeley, T. D.** 1982. Adaptive significance of the age polyethism schedule in honeybee colonies. *Behavioral Ecology Sociobiology* **11**, 287-293.
- Seeley, T. D.** 1985. *Honey bee ecology*. Princeton University Press, Princeton, N.J. 281p.
- Severson, D.W. & Erickson Jr., E. H.** 1989. Seasonal constraints on mating and insemination of queen honey bees in a continental climate. *Apidologie* **20**, 21-27.
- Sherman, P. W. T.; Seeley, T. D. & Reeve, H. K.** 1988. Parasites, pathogens and polyandry in social Hymenoptera. *American Naturalist* **131**, 602-610.
- Sherman, P. W. T.; Seeley, T. D. & Reeve, H. K.** 1998. Parasites, pathogens and polyandry in honey bees. *American Naturalist* **151**(4), 392-396.
- Silva, E. C. A.** 1993. Influência dos fatores ambientais e da técnica de manejo na fecundação natural de Rainhas de *Apis mellifera* L. (Hym. Apidae). Dissertação de mestrado apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro - UNESP. 107p.
- Silva, E. C. A.; Chaud-Netto, J.; Moreti, A. C. C. C. & Silva, R. M. B.** 1996. Influência de fatores meteorológicos sobre a duração do período larva-imago e emergência de rainhas de abelhas africanizadas (*Apis mellifera*, Hymenoptera, Apidae). *Boletim Indústria Animal* **53**, 117-122.
- Simpson, J.** 1960. The functions of the salivary glands of *Apis mellifera*. *Journal of Insect Physiology* **4**, 107-121.
- Simpson, J. & Cherry, S. M.** 1969. Queen confinement, queen piping and swarming in *Apis* colonies. *Animal Behavior* **17**, 271-278.
- Snodgrass, R. E.** 1956. *Anatomy of the honey bee. 4th edition*. Cornell University Press: London.
- Souza, D. C.** 2001. Estudo do efeito da substituição das rainhas no desenvolvimento produtivo de enxames africanizados capturados em caixas

- iscas e o desenvolvimento de colônias de abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.) em uma região de transição caatinga-cerrado do Piauí. Tese de doutorado apresentada ao Departamento de Genética da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP. 445p.
- Szabo, T. I. & Lefkovitch, L. P.** 1989. Effect of brood production and population size on honey production of honeybee colonies in Alberta, Canadá. *Apidologie* **20**, 157-163.
- Szalai, E.** 1995. Results of instrumental insemination of queen honey bees in Hungary. *Pszelnicze Zeszyty Nnaukowe* **39**, 61-69.
- Taber, S. I. I. I.** 1955. Sperm distribution in the spermathecae of queen honeybees. *Journal Economic Entomology* **47**(6), 995-998.
- Tanaka, E. D. & Hartfelder, K.** 2004. The initial stages of oogenesis and their relation to differential fertility in honey bee (*Apis mellifera*) castes. *Arthropod Structure Development* **33**, 431-442.
- Tarpy, D. R.; Hatch, S. & Fletcher, D. J. C.** 2000. The influence of age and quality during queen replacement in honeybee colonies. *Animal Behavior* **59**, 97-101.
- Tarpy, D. R. & Page Jr., R. E.** 2000. No behavioral control over mating frequency in queen honey bee (*Apis mellifera* L.): Implications for the evolution of extreme polyandry. *The American Naturalist* **155**(6), 820-827.
- Tarpy, D. R. & Page Jr., R. E.** 2001. The curious promiscuity of queen honey bees (*Apis mellifera*): Evolutionary and behavioral mechanisms. *Annales Zoologici Fennici* **38**, 255-265.
- Tarpy, D. R. & Page Jr., R. E.** 2002. Sex determination and the evolution of polyandry in honey bees (*Apis mellifera*). *Behavioral Ecology Sociobiology* **52**, 143-150.
- Teixeira, M. V.** 1993. Aspectos comportamentais e fatores que influenciam na fecundação natural de rainhas de *Apis mellifera* (Hymenoptera:Apidae), em

- região neotropical. Dissertação de Mestrado apresentada a Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto-USP. 124p.
- Visscher, P. K.** 1993. A theoretical analysis of individual interests and intracolony conflict during swarming of honey bee colonies. *Journal of Theoretical Biology* **165**, 191-212.
- Wattanachaiyinhcharoen, W.; Oldroyd, B. P.; Wongsiri, S.; Palmer, K. & Paar, S.** 2003. A scientific note on the mating frequency of *Apis dorsata* Fabricius. *Apidologie* **34**, 85-86.
- Weaver, R. S.** 1957. Effects of larval age on dimorphic differentiation of the female honeybee. *Annals Entomological Society of America* **50**, 283-294.
- Weaver, R. S.** 1979. The importance of requeening honey bee colonies in hot climate. *Anais: Simpósio Internacional sobre Apicultura em Clima Quente*, Florianópolis, Brasil. 174-177pp.
- Winston, M. L.** 1979. Events following queen removal in colonies of africanized honey bees in South America. *Insectes Sociaux* **26**, 373-381.
- Winston, M. L.** 1987. *The biology of the honey bee*. Harvard University Press, Cambridge, Mass. 281p.
- Winston, M. L.** 2003. *A Biologia da Abelha*. Tradução de Carlos Alberto Osowski. Editora Magister: Porto Alegre. 276p.
- Woyke, J.** 1963. What happens to diploid drone larvae in a honey bee colony. *Journal Apicultural Research* **2**, 73-75.
- Woyke, J.** 1964. Causes of repeated mating flights by queen honeybees. *Journal Apicultural Research* **3**, 17-23.
- Woyke, J.** 1967. Rearing conditions and the number of sperm reaching the queen's spermatheca. *XXI Int. Beekeep. Congress Summer*, 93pp.

- Woyke, J.** 1971. Correlations between the age at which honeybee brood was grafted, characteristics of the resultant queens and results of insemination. *Journal Apicultural Research* **10**(1), 45-55.
- Woyke, J. & Jasinski, J.** 1992. Natural mating of instrumentally inseminated queen bees. *Apidologie* **23**, 225-230.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)