

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE MESTRADO**

**COMPORTAMENTO HIGIÊNICO DA ABELHA URUÇU (*Melipona
scutellaris* LATREILLE, 1811) (HYMENOPTERA: APIDAE)**

ROBERTO BARBOSA SAMPAIO

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA
FEVEREIRO - 2014**

**COMPORTAMENTO HIGIÊNICO DA ABELHA URUÇU (*Melipona
scutellaris* LATREILLE, 1811) (HYMENOPTERA: APIDAE)**

ROBERTO BARBOSA SAMPAIO

Zootecnista

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2014.

Dissertação submetida ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Ciência Animal.

Orientador: Prof^o Dr. Carlos Alfredo Lopes de Carvalho

Co-Orientador: Prof^a Dra. Meiby Carneiro de Paula Leite

CRUZ DAS ALMAS - BAHIA

FEVEREIRO - 2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE MESTRADO

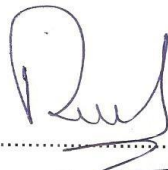
COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE
ROBERTO BARBOSA SAMPAIO



Prof. Dr. Carlos Alfredo Lopes de Carvalho
(Orientador - UFRB)



Profa. Dra. Kátia Peres Gramacho
(UNIT)



Prof. Dr. Rogério Marcos de Oliveira Alves
(IFBAIANO)

Dissertação homologada pelo Colegiado de Curso de Mestrado em Ciências Animal
em
Conferindo o Grau de Mestre em Ciência Animal em

FICHA CATALOGRÁFICA

A474

Sampaio, Roberto Barbosa

Comportamento higiênico da abelha uruçú (*Melipona scutellaris* Latreille, 1811) (Hymenoptera: Apidae) / Roberto Barbosa Sampaio _ Cruz das Almas, BA, 2014.

f. 42.; il.

Orientador: Carlos Alfredo Lopes de Carvalho

Co-orientador: Meiby Carneiro de Paula Leite

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Área de Concentração: Produção Animal

1. Meliponicultura. 2. Abelhas - manejo . I. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II. Título.

CDD 638.1

A

Deus, por ter sempre me agraciado com a fé, saúde e sabedoria, essenciais para a realização de mais um sonho.

Aos

Meus pais, **Nelson Passos Sampaio** e **Iraildes Maria Barbosa Sampaio**, pelo exemplo de vida com a inigualável convivência e amor dentro de nossa casa, onde sempre fui acolhido com tanto carinho e dedicação exclusiva nos momentos de dificuldade e pelos conselhos diários de meu pai onde sempre diz “ Que Deus te dê juízo e vergonha, porque isso nunca é de mais. “A Minha **família**, pela alegria de está sempre vocês por perto apoiando em toda a minha trajetória.

DEDICO...

AGRADECIMENTOS

Em especial agradeço a **Deus**, por tornar tudo isso possível, cercando-me sempre por pessoas especiais.

Aos meus **pais**, pelo amor, dedicação e ensinamentos.

Aos meus **familiares** por sempre acreditarem em mim e por todo apoio.

Ao meu orientador, **Profº. Dr. Carlos Alfredo Lopes de Carvalho**, pela oportunidade, por seu exemplo de dedicação e respeito ao próximo, pelos ensinamentos, compreensão e amizade e, sobretudo pela confiança.

A minha co-orientadora, **Dra. Meiby Carneiro de Paula leite**, por todos os ensinamentos, sugestões e constante apoio na realização do trabalho.

À **Universidade Federal do Recôncavo da Bahia** e ao **Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal** pela oportunidade e apoio para a realização deste trabalho.

Ao **Núcleo de Estudos dos Insetos - INSECTA**, pela parceria e por possibilitar a realização deste trabalho. Agradeço também aos integrantes do grupo, **Dr. Eloi M. Alves**, **Dra. Patricia Faquinello**, **Dra. Lana Clarton**, pelo apoio e contribuições.

À CAPES pelo apoio ao projeto de pesquisa por meio da Bolsa.

Aos meus queridos **amigos**, espalhados por todos os cantos, que sempre me deram força e torceram para que eu pudesse conquistar mais essa vitória.

Muito obrigada a todos que participaram direta ou indiretamente da construção e êxito deste trabalho!

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	
LISTA DE FIGURAS	
RESUMO	
ABSTRACT	
INTRODUÇÃO.....	1
Capítulo 1	
MÉTODO DE PERFURAÇÃO DE PUPAS PARA DETERMINAR O COMPORTAMENTO HIGIÊNICO EM <i>Melipona scutellaris</i> (HYMENOPTERA: APIDAE).....	14
Capítulo 2	
COMPORTAMENTO HIGIÊNICO DE <i>Melipona scutellaris</i> EM DIFERENTES ESTÁGIOS DE DESENVOLVIMENTO DA CRIA E DA COLÔNIA	29
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	43

LISTA DE TABELAS

	Página
Capítulo 1	
MÉTODO DE PERFURAÇÃO DE PUPAS PARA DETERMINAR O COMPORTAMENTO HIGIÊNICO EM <i>Melipona scutellaris</i> (HYMENOPTERA: APIDAE):	
Tabela 1. Comportamento higiênico de <i>Melipona scutellaris</i> determinado por meio da remoção de pupas perfuradas.....	22
Tabela 2. Percentual de colônias de <i>Melipona scutellaris</i> que removeram pupas perfuradas em diferentes horários e escalas de remoção.....	23
Capítulo 2	
COMPORTAMENTO HIGIÊNICO DE <i>Melipona scutellaris</i> EM DIFERENTES ESTÁGIOS DE DESENVOLVIMENTO DA CRIA E DA COLÔNIA:	
Tabela 1. Comportamento higiênico de <i>Melipona scutellaris</i> com base na porcentagem de remoção de larvas e pupas em dois padrões de desenvolvimento das colônias quanto ao tamanho populacional medido em quantidade de discos ao longo de diferentes horários após a perfuração das crias.....	37

LISTA DE FIGURAS

	Página
Capítulo 1	
MÉTODO DE PERFURAÇÃO DE PUPAS PARA DETERMINAR O COMPORTAMENTO HIGIÊNICO EM <i>Melipona scutellaris</i> (HYMENOPTERA: APIDAE):	
Figura 1. Vista geral do Meliponário do Grupo de Pesquisa Insecta da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB) com colônias de <i>Melipona scutellaris</i> instalada em caixa INPA.....	19
Figura 2. Aspecto do disco de cria de <i>Melipona scutellaris</i> com células marcadas (pupa de olho rosa) com corretivo tipo <i>Liqued Paper®</i> : as células marcadas colocarão rosa foram perfuradas e as células marcadas com a cor branca foram mantidas intactadas para o controle. Na foto observa-se o patrulhamento de operárias nas células perfuradas após o período de 24 horas.....	20
Figura 3. Potes de alimento vazios em colônias de <i>Melipona scutellaris</i> e alimentador tipo prato no interior da melgueira de uma caixa INPA.....	21
Figura 4. Remoção média de pupas de olho rosa por operárias de <i>Melipona scutellaris</i> . Período de avaliação em horas após o processo de perfuração das pupas; dados não acumulados e acumulados ao longo do período de avaliação (n= 39 colônias).....	25
Capítulo 2	
COMPORTAMENTO HIGIÊNICO DE <i>Melipona scutellaris</i> EM DIFERENTES ESTÁGIOS DE DESENVOLVIMENTO DA CRIA E DA COLÔNIA:	
Figura 1. Colônias de <i>Melipona scutellaris</i> instaladas em caica tipo INPA: A. colônias fracas com um módulo de cria; B. colônias fortes com dois módulos de cria.....	34
Figura 2. Aspecto da larva de último instar (A) e da pupa de olho rosa (B) de <i>Melipona scutellaris</i>	35
Figura 3. Aspecto da remoção de crias por <i>Melipona scutellaris</i> , evidenciando o conjunto de células removidas contra as células controle, não perfuradas.....	38
Figura 4. Porcentagem de colônias (%) com característica de remoção de pupa e/ou larva mortas no intervalo de 0-20%, 21-40%, 41-60%, 61-80% e 81-100% em 24 horas (A), 48 horas (B), 72 horas (C) e 96 horas (D). A remoção média geral (E).....	39

COMPORTAMENTO HIGIÊNICO DA ABELHA URUÇU (*Melipona scutellaris* LATREILLE, 1811) (HYMENOPTERA: APIDAE)

Autor: Roberto Barbosa Sampaio

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alfredo Lopes de Carvalho

RESUMO: O crescimento da meliponicultura favorece a troca de material genético entre meliponicultores, aumentando o risco de disseminação de doenças. Neste sentido, a sanidade das colônias passa a ser uma preocupação, onde o conhecimento de comportamento higiênico nessas espécies de abelhas pode ser determinante para garantir a saúde dentro do meliponário. Este trabalho teve como objetivo avaliar o método de perfuração de crias em colônias de *M. scutellaris*, determinada pela sua capacidade de detecção e remoção das crias mortas. Foram utilizadas 46 colônias de *M. scutellaris* alojadas em caixas modelo INPA. O método de perfuração de pupas com auxílio de alfinete entomológico para determinação do comportamento higiênico em *Apis mellifera* foi ajustado e utilizado nos dois experimentos. No primeiro, em cada colônia foram marcadas 50 células de pupa (olho rosa) com corretivo tipo *Liqued Paper*®, sendo que 25 células foram marcadas apenas com corretivo branco (controle), e 25 células marcadas com corretivo corado com anilina vermelha. Após um período de 24 horas da marcação, as células coradas foram perfuradas e avaliadas no período de 24, 48, 72 e 96 horas após a perfuração, quando foi quantificado o número de células removidas. Para as análises dos dados foram realizados os testes de média e desvio padrão. Onde foi encontrada uma remoção média de 7,71% das pupas mortas e 2,56% das colônias apresentaram comportamento higiênico. No segundo, além das pupas de olho rosa foram marcadas larvas de último instar em colônias fortes e fracas, totalizando quatro tratamentos. Para as análises dos dados foi realizado o teste de Tukey 5%. Houve diferença significativa quanto a remoção de crias no período de 72 e 96 horas, onde as lavas foram superiores as pupas. O método de perfuração de crias também pode ser utilizado em *M. scutellaris*, sendo recomendado o uso de larvas de último instar no lugar de pupa de olho rosa. Colônias de *M. scutellaris* apresentaram comportamento higiênico, que não foi influenciado pelo tamanho da colônia.

Palavras-chave: Sanidade das abelhas; Meliponicultura; Meliponinae.

“COMPORTAMENTO HIGIÊNICO DA ABELHA URUÇU (*Melipona scutellaris* LATREILLE, 1811) (HYMENOPTERA: APIDAE)”

Author: Roberto Barbosa Sampaio

Adviser: Prof. Dr. Carlos Alfredo Lopes de Carvalho

ABSTRACT:

O Abstract será baseado no Resumo, que após avaliado pela Banca Examinadora, será encaminhado para a tradução na empresa Katzenhaus Traduções localizada em São José dos Campos-SP.

Keywords: Bee Health; Stingless bee keeping; Meliponinae.

INTRODUÇÃO

As abelhas são insetos de importância ecológica e econômica, conhecidas por produzirem mel, pólen, geleia real, própolis, apitoxina e cera. Em sua maioria, atuam como agentes polinizadores em culturas agrícolas e na flora natural (OLLERTON et al., 2011), diretamente associados à espécies de plantas locais de determinado bioma, com ação chave para a produção agrícola e a conservação do ambiente (IMPERATRIZ-FONSECA et al., 2012).

Aproximadamente 75% da alimentação utilizada pelo homem depende da ação direta ou indireta de algum agente polinizador animal, especialmente das abelhas (KLEIN et al., 2007). Estima-se que anualmente são movimentados cerca de 761 bilhões de Euros/ano relacionados aos alimentos que dependem de polinizadores e 151 bilhões de Euros/ano de alimentos produzidos sem polinizadores (GALLAI et al., 2009), o que revela o papel importante principalmente das abelhas para a humanidade.

A espécie *Apis mellifera* certamente é a principal abelha generalista, capaz de polinizar diversas espécies vegetais de interesse econômico. Entretanto, existem algumas limitações na utilização das abelhas do gênero *Apis*, entre elas está a agressividade e o manejo das colônias (McGREGOR, 1976; FREE, 1993). Neste contexto a utilização de abelhas sociais sem ferrão é uma importante estratégia na polinização de culturas agrícolas (VENTURIERI et al., 2012; RIBEIRO, 2013).

De acordo com Michener (2007) Camargo e Pedro (2007), as abelhas sem ferrão que ocorrem em regiões tropicais e subtropicais correspondem ao grupo de maior diversidade dentre as abelhas sociais. Essas abelhas possuem características vantajosas para a polinização de determinadas culturas, como a ausência de ferrão funcional, a sociabilidade, a baixa defensividade, a menor amplitude do vôo de forrageamento e a perenidade das colônias (MALAGODI-BRAGA et al., 2004).

As abelhas sociais sem ferrão

Os meliponíneos, também conhecidos como abelhas sociais sem ferrão geralmente são encontradas nas regiões tropicais e subtropicais do mundo.

Constituem um grupo de abelhas com cerca de 400 espécies que produzem um mel bastante apreciado e valorizado (EVANGELISTA-RODRIGUES et al., 2008).

Algumas destas são muito populares e criadas regionalmente para a produção de mel, com destaque para as pertencentes ao gênero *Melipona*, conhecidas popularmente como como mandaçaia (*Melipona quinquefasciata*, *M. quadrifasciata quadrifasciata*, *M. quadrifasciata anthidioides* e *M. mandacaia*), uruçus (*M. scutellaris*, *M. crinita*, *M. fuliginosa*, *M. flavolineata* e *M. rufiventris*), jandaíra (*M. subnitida*), tiúba (*M. compressipes*) e a munduri (*M. asilvai*) (CAMPOS E PERUQUETTI, 1999; CARVALHO-ZILSE et al, 2011). As espécies conhecidas por uruçus são boas produtoras de mel, com produção estimada em 3 a 6L por ano em cada ninho (MAGALHÃES e VENTURIERI, 2010), sendo criadas em várias regiões do Brasil.

No Estado da Bahia destacam-se três espécies de melíponas: a uruçú (*Melipona scutellaris*) e duas mandaçaia (*Melipona quadrifasciata* e *Melipona mandacaia*), consideradas como produtoras de mel, pólen, além da produção de enxames para meliponários (CARVALHO et al., 2003).

Na Bahia *M. scutellaris* tem sido criada e estudada sob diferentes aspectos, tais como, a distribuição natural (ALVES et al., 2012a); aspectos biológicos (CARVALHO et al., 2011a; 2011b), biometria e produção das colônias (ALVES et al., 2012b), estudos da populacionais (LIMA JÚNIOR et al., 2012; VIANA et al., 2013), caracterização dos produtos da colônia (SODRÉ et al., 2008; ALVES et al., 2009; SOUZA et al., 2011), flora visitada (CARVALHO et al., 2001; RAMALHO et al., 2007; ANDRADE et al., 2009) e polinização de culturas (RIBEIRO, 2013).

A espécie *M. scutellaris* faz seu ninho principalmente em ocos de árvores de até 40 metros de altura. Os ninhos são construídos basicamente de cera pura ou cerume (cera, própolis e barro), a entrada é formada com barro e própolis moldando em forma de estrias ou sulcos (KERR et al., 1996).

Com distribuição desde o Rio Grande do Norte até a Bahia, *M. scutellaris* encontra-se distribuída neste último Estado desde o litoral até às serras do centro baiano, habitando áreas de floresta úmida, onde encontra ambiente adequado para expressar seu potencial produtivo (ALVES, 2010).

Meliponicultura

A criação racional das abelhas sociais sem ferrão é conhecida desde o ano de 1.500 e se intensificou nas últimas décadas, quando recebeu o nome de meliponicultura. Esta atividade é tradicional especialmente nas regiões Norte e Nordeste do Brasil, onde os produtos das colônias são muito apreciados, especialmente o mel (NOGUEIRA NETO, 1997; EVANGELISTA-RODRIGUES et al., 2005; SOUZA et al., 2009).

Contudo, a criação de abelhas pode ser desenvolvida praticamente em toda a extensão territorial do Brasil, devido a riqueza de seus ecossistemas e a abundância de recursos florais (VENTURIERI, 2008a).

Dentre os produtos das colônias das abelhas sem ferrão destacam-se o mel, o samburá, a cera e a geopropolis (NOGUEIRA NETO, 1970; KERR, et al., 1996; CARVALHO et al., 2003; SOUZA et al., 2011).

Tecnologias de criação e manejo de colônias, especialmente relacionadas com o padrão de caixa e o método de divisão para multiplicação dos enxames, proporcionaram um aumento de criadores em todo o território nacional, tanto pelo apelo ambiental, com ações sustentáveis e geração de renda junto a agricultura de economia familiar (ALVES et al., 2005; CARVALHO et al., 2006; CARVALHO et al., 2008; VENTURIERI, 2008; CONTRERA et al., 2011; SAMPAIO et al., 2013).

Devido a esses avanços, a meliponicultura encontra-se em expansão, buscando melhorarias na produção e na geração de produtos com qualidade e quantidade para atender as exigências de mercado (MACEDO et al., 2011; CARVALHO et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2013).

O incremento da criação racional dessas abelhas possibilita a atividade econômica de seus produtos, surgindo como uma fonte alternativa de renda aos produtores rurais. Entender aspectos da bioecologia das abelhas é fundamental para orientar as técnicas de manejo empregadas à sua produção (SOUZA et al., 2009).

As características de maior interesse econômico da criação de abelhas é a qualidade de seus produtos, que depende da qualidade da rainha da colônia. Dentre os fatores mais importantes na seleção de colônias para produção de rainhas matrizes ressalta-se a alta produtividade da colônia, baixa capacidade de

defesa, baixo potencial enxameatório e o alto comportamento higiênico (ALMEIDA et al., 2012).

O intenso crescimento vivenciado na atividade meliponícola dos últimos anos favorece a troca de material genético entre meliponicultores de diferentes regiões, aumentando o risco de disseminação de doenças. Neste sentido, a sanidade das colônias passa a ser uma preocupação, onde o conhecimento da presença de comportamento higiênico nessas espécies de abelhas pode ser determinante para garantir a sanidade dentro do meliponário.

Comportamento higiênico das abelhas

O aumento da produtividade da colônia e o custo de produção estão relacionados com um manejo adequado e à correta seleção das colônias (ALVES et al., 2012). A presença de uma boa florada; o manejo para evitar a enxameação, impedindo que as colônias fiquem enfraquecidas; a renovação de rainhas; e as revisões periódicas nas colônias para avaliar postura e possíveis doenças e presença de inimigos e inquilinos indesejáveis são técnicas que favorecem ao sucesso na criação das abelhas (FONSECA et al, 2006).

Para melhoria na produção é necessário uma criação saudável e livre de doenças, como as conhecidas por cria giz e cria pútrida na apicultura. Dentre as práticas de manejo em abelhas, o comportamento higiênico é uma das características importantes como mecanismo de controle de algumas doenças e de manter colônias sadias (PIRES et al., 2006). Segundo Gramacho (2004), o comportamento higiênico das abelhas está relacionado com a capacidade de defesa natural das colônias contra pragas e doenças .

A primeira observação de comportamento higiênico foi realizada por Park et al. (1937) buscando determinar se existia resistência à bactéria causadora da Cria Pútrida Americana em *A. mellifera*. Originalmente o comportamento higiênico foi mencionado pela primeira vez por Rothenbuhler (1964) que consiste na capacidade de detecção e remoção de crias doentes e controle parasitário (ácaros). Este comportamento é de extrema importância para evitar propagação no interior da colônia a partir de crias mortas, as quais possivelmente estão infectadas por bactérias e vírus e controle populacional de ácaros (SPIVAK, 1996).

O comportamento higiênico tem sido utilizado na apicultura como critério de seleção de abelhas rainhas para produção. Este comportamento é avaliado de acordo com a rapidez que as operárias de cada colônia remove uma amostra de cria morta e/ou doente, a partir da capacidade de algumas abelhas em detectar, desopercular os alvéolos com cria morta e/ou doente e efetuar a sua remoção (PIRES et al, 2006). Para a prevenção e o controle de doenças é necessária a revisão periódica das áreas de cria, a observação de sintomas de doenças e a seleção genética de colônias mais resistentes às enfermidades (CASTAGNINO, 2008).

Comportamento higiênico é usado frequentemente como um exemplo clássico de um complexo de comportamento animal que está sob forte controle genético. A desoperculação e remoção são componentes do comportamento de higiene de *A. mellifera*, onde cada um tem controle genético distinto (ROTHENBUHLER, 1964).

Vários métodos podem ser utilizados para avaliar o comportamento higiênico das abelhas, e o de congelamento de crias desenvolvido por (GONÇALVES e KERR, 1970) e o de perfuração de crias, que foi desenvolvido por NEWTON e OSTASIEWISKI (1986) e modificado por GRAMACHO e GONÇALVES (1994), esse método vem sendo o mais utilizado por ser mais rápido, pratico e causar menos perturbações na colônia.

O comportamento higiênico tem sido o tema de uma série de estudos sobre a defesa do hospedeiro em abelhas (SPIVAK, 1996; SPIVAK e DOWNEY, 1998; BOECKING e SPIVAK, 1999), onde está característica é transmitidas para suas gerações futuras da capacidade de remoção da cria infestada é bem documentada para *A. mellifera* (ROTHENBUHLER, 1964; MORETTO et al., 1993).

Trabalhos relatam comportamento higiênico em abelhas sem ferrão nas seguintes espécies, *M. Bicheii*, *Scaptotrigona pectoralis* (MEDINA, 2009), *Plebeia remota* (NUNES-SILVA, 2009), *Tetragonista angustula* e *M. Quadrifasciata* (Tenorio, 1996).

Neste contexto, o controle sanitário é uma ferramenta eficiente para evitar a entrada e propagação de novas doenças. Para isso é necessário investir em pesquisas sobre patologia e melhoramento genético de abelhas (STORT e GONÇALVES, 1994).

Os estudos referentes a técnicas de avaliação e resposta do comportamento higiênico em abelhas são baseadas nas abelhas do gênero *Apis*, entretanto em abelhas sem ferrão (meliponicultura) estes estudos são praticamente inexistentes.

Considerando o incremento da atividade meliponícola em todo o território nacional, e em especial no estado da Bahia, certamente a demanda por colônias e manejo, como migração e troca de material genético, aumentarão o risco potencial de aparecimento de doenças e traumas causados durante o transporte.

Neste cenário, o presente estudo teve como objetivo avaliar o comportamento higiênico das colônias de abelha *M. scutellaris*, quanto a sua capacidade de detecção e remoção das crias mortas, de forma a contribuir com futuros projetos de melhoramento genético das colônias dessa espécie. Mais especificamente, o estudo foi dividido em dois Capítulos, conforme abaixo:

Capítulo 1 - Avaliação do método de perfuração de pupas para determinar o comportamento higiênico em abelha *M. scutellaris*, com o objetivo de verificar se esta abelha possui a capacidade de detecção e de remoção das crias mortas, ou seja, apresenta ou não comportamento higiênico.

Capítulo 2 - Avaliação do comportamento higiênico de *M. scutellaris* em diferentes estágios de desenvolvimento (pupas e larvas) e desenvolvimento da colônia (fracas e fortes), com o objetivo de verificar se há diferença entre as fases de desenvolvimento para realizar o teste de comportamento higiênico.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ALVES, R. M. de O.; CARVALHO, C. A. L. de; SOUZA, B. de A.; SANTOS, W. da S. Areas of Natural Occurrence of *Melipona scutellaris* Latreille, 1811 (Hymenoptera: Apidae) in the State of Bahia, Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 84, p. 679-688, 2012a.

ALVES, R.M. de O.; CARVALHO, C.A.L. de; FAQUINELLO, P.; LÊDO, C.A. da S.; FIGUEREDO, L. Parâmetros biométricos e produtivos de colônias de *Melipona scutellaris* Latreille, 1811 (Hymenoptera: Apidae) em diferentes gerações. **Magistra**, v. 24, p. 105-111, 2012b.

ALVES, R.M. de O.; CARVALHO, C.A.L. de; SOUZA, B. de A.; JUSTINA, G.D. **Sistema de produção para abelhas sem ferrão: uma proposta para o estado da Bahia**. Cruz das Almas-BA: Gráfica e Editora Nova Civilização, 2005.

ALVES, R.M. de O.; NUNES, L.A.; SODRÉ, G. da S.; CARVALHO, C.A.L. Qualidade microbiológica de méis de *Melipona scutellaris* Latreille, 1811 (Hymenoptera: Apidae) de diferentes municípios do Estado da Bahia. **Magistra**, v. 21, p. 20-24, 2009.

ALVES, R. M. de O. **Correlação entre parâmetros produtivos e biométricos em colônias de *Melipona scutellaris* Latreille, 1811 (Hymenoptera – Apidae)**. 1983, 105p. Tese de Doutorado, Escola de Agronomia, Universidade Federal da Bahia (UFBA), 2010.

ANDRADE, J.P.; COSTA, S.N.; SANTANA, A.L.A.; SANTOS, P.C.; ALVES, R.M. de O.; CARVALHO, C.A.L. de. Perfil polínico do mel de *Melipona scutellaris* Latreille, 1811 (Hymenoptera: Apidae) proveniente de colônias instaladas em área de agricultura familiar na Bahia. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 4, p. 636-640, 2009.

BOECKING, O. e SPIVAK, M. Behavioral defenses of honey bees against *Varroa jacobsoni* Oud. **Apidologie**, n. 30, p.141-158, 1999.

CAMARGO, J. M. F.; PEDRO, S. R. M. Notas sobre a bionomia de *Trichotrigona extranea* Camargo & Moure (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 51, n. 1, p. 72-81, jan./mar. 2007.

CAMPOS, L.A.O.; PERUQUETTI, R.C. **Biologia e criação de abelhas sem ferrão**. Viçosa: Conselho de Extensão. Universidade Federal de Viçosa, Informe Técnico, 82. 1999. 38p.

CARVALHO- ZILSE, G.A. ;SOUZA, B. de A. ALVES, R. M. O. NUNES-SILVA, C.G.; SODRÉ, G.da S.; WALDSCHMIDT, A. M.; CARVALHO, C. A. L.; **Perguntas**

mais frequentes sobre as abelhas sem ferrão- I. Cruz das Almas: Universidade Federal do Recôncavo da Bahia/SEAGRI, 2011. 41p. (Serie Meliponicultura 08).

CARVALHO, C.A.L. de; ALVES, R.M. de O.; SOUZA, B. de A. **Criação de abelhas sem ferrão: aspectos práticos.** 1. ed. Salvador-BA: SEAGRI-BA, 2003. 42p.

CARVALHO, C.A.L. de; ALVES, R.M. de O.; SOUZA, B. de A.; VERAS, S.de O.; ALVES, E.M.; SODRÉ, G. da S. Proposta de regulamento técnico de qualidade físico-química do mel floral processado produzido por abelhas do gênero *Melipona*. In: Patricia Vit; David Roubik. (Org.). **Stingless bees process honey and pollen in cerumen pots.** 1ed.Merida, Venezuela: SABER-ULA, Universidade de Los Andes, 2013, v. 16, p. 1-9.

CARVALHO, C.A.L. de; MORETI, A.C. de C.C.; MARCHINI, L.C.; ALVES, R.M. de O.; OLIVEIRA, P.C.F. de. Pollen spectrum of honey of "uruçu" bee (*Melipona scutellaris* Latreille, 1811). **Revista Brasileira de Biologia**, v. 61, n.1, p. 63-67, 2001.

CARVALHO, C.A.L. de; SANTOS, W. da S.; NUNES, L.A.; SOUZA, B. de A.; CARVALHO-ZILSE, G.A.; ALVES, R.M. de O. Offspring analysis in a polygyne colony of *Melipona scutellaris* (Hymenoptera: Apidae) by means of morphometric Analyses. **Sociobiology**, v. 57, p. 347-354, 2011a.

CARVALHO, C.A.L. de; SODRÉ, G. da S.; ALVES, R.M. de O.; SOUZA, B. de A.; MARCHINI, L.C.; CLARTON, L.; PEREIRA, L.L.; SOARES, A.C.F. **Como criar abelhas sem ferrão: do cortiço à caixa racional.** 1. ed. Cruz das Almas-BA: Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2006. 30p.

CARVALHO, C.A.L. de; SOUZA, B. de A.; DIAS, C.S.; ALVES, R.M. de O.; MELO, A.F.L.; SOARES, A.C.F.; CARVALHO-ZILSE, G.A. Five egg-laying queens in a single colony of brazilian stingless bees (*Melipona scutellaris* Latreille). **Acta Amazonica**, v. 41, p. 123-126, 2011b.

CARVALHO, C.A.L. Localização e instalação de meliponários e manejo de colônias. In: Patrícia Vit. (Org.). **Abejas sin Aguijón y valorización sensorial de su miel**. 1ed.Mérida - Venezuela: Universidad de Los Andes, 2008, v. , p. 56-58.

CASTAGNINO, G.L.B. **Produtos naturais no controle do ácaro *Varroa destructor* em abelhas *Apis mellifera* L. (Africanizadas)**. Tese de doutorado, Universidade Estadual Paulista, 53p. 2008.

CONTRERA, F.A.L.; MENEZES, C.; VENTURIERI, G.C. New horizons on stingless beekeeping (Apidae, Meliponini). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, p. 48-51, 2011.

EVANGELISTA-RODRIGUES, A. et al. Análise físico-química dos méis das abelhas *Apis mellifera* e *Melipona scutellaris* produzidos em regiões distintas no Estado da Paraíba. **Ciência Rural**, v.35, n.5, p.1166-1171, 2005.

EVANGELISTA-RODRIGUES, A., GÓIS, G.C. e SILVA, C.M. 2008. Desenvolvimento produtivode colméias de abelhas *Melipona scutellaris*. **Biotemas**. 21: 59-64.

FONSECA, A. A.O; SODRÉ, G.da S.; CARVALHO, C. A. L.; ALVES, R. M. O; OLIVEIRA, G. A. de; MACHADO, C. S.; CARTON, L. **Qualidade do mel de abelhas sem ferrão: uma proposta para boas práticas de fabricação**. Cruz das Almas: Universidade Federal do Recôncavo da Bahia/SECTI-FAPESB, 2009. 46p. (Serie Meliponicultura 05).

FREE, J.B. **Insect pollination of crops**. London: Academic Press, 1993. 684p.

GALLAI, N.; SALLES, J.; SETTELE, J.; VAISSIERE, B. Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted witch pollination decline. **Ecological Economics**, v. 68, p. 810-821. 2009.

GONÇALVES, L. S.; KERR, W. E. Genética, Seleção e Melhoramento. 1. Noções sobre genética e melhoramento em abelhas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 1., **Anais...** 1970. p. 8-36.

GRAMACHO, K. P.; GONÇALVES, L. S. Estudo comparativo dos métodos de congelamento e perfuração de crias para avaliação do comportamento higiênico em abelhas africanizadas. In: CONGRESSO LATINOIBEROAMERICANO DE APICULTURA, 4., 1994. **Anais...** Cordoba-Argentina, 1994. p. 45.

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; CANHOS, D. A. L.; ALVES, D. de A. A. e SARAIVA, A. M. Polinizadores e Polinização. In: IMPERATRIZ-FONSECA, Vera Lúcia... et al. (Organizadores). **Polinizadores no Brasil: contribuição e perspectivas para a biodiversidade, uso sustentável, conservação e serviços ambientais**. São Paulo: EDUSP, 2012.

KERR, W.E.; CARVALHO, G.A.; NASCIMENTO, V.A. **Abelha uruçú: biologia, manejo e conservação**. Belo Horizonte: Fundação Acangaú, 1996. (Coleção Manejo da Vida Silvestre).

KLEIN, A. M.; VAISSIERE, B. E.; CANE, J.H.; STEFFAN-DEWENTER, I.; CUNNINGHAM, S. A. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. **Proc. R. Soc. Biol. Sci.**, v. 274, n. 1608, p. 303-313, 2007.

LIMA JÚNIOR, C.A. de; CARVALHO, C.A.L. de; NUNES, L.A.; FRANCOY, T.M. Population divergence of *Melipona scutellaris* (Hymenoptera: Meliponina) in two restricted areas in Bahia, Brazil. **Sociobiology**, v. 59, p. 107-122, 2012.

MACEDO, V. A.; TENÓRIO, E.G.; MONTEIRO, A. L. R.; BELO, J. S., ARAÚJO, J. B. Época de extração de mel de abelha Tiúba no povoado Limoeiro no município de Viana no Maranhão, **Anais....** VII Congresso Brasileiro de Agroecologia – Fortaleza/CE, 2011.

MAGALHÃES, T. L. de e VENTURIERI, G. C. **Aspectos econômicos de abelhas indígenas sem ferrão (Apidae: Meliponini) no Nordeste Paraense**. Belém- PA: Embrapa Amazonia Oriental, 2010. 36p.

MALAGODI BRAGA, K. S.; KLEINERT, A. M. P. Could *Tetragonisca angustula* Latreille (Apinae, Meliponini) be effective as strawberry pollinator in greenhouses? **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 55, n. 7, p. 771-773, 2004.

McGREGOR, S.E. **Insect pollination of cultivated crop plants**. Washington: Agriculture Handbook 411 p. 1976.

MORETTO, G., GONÇALVES, L.S. e DE JONG, D. Herdabilidade de abelhas africanizadas e europeias comportamento higiênico contra o ácaro *Varroa jacobsoni*. **Revista Brasileira de Genética**, n.16, p.71-77, 1993.

NEWTON, D. C.; OSTASIEWSKI, Jr., N. J. A simplified bioassay for behavioral resistance to American foulbrood in honey bees (*Apis mellifera* L.). **American Bee Journal**, v. 126, n. 4, p. 278-281, 1986.

NOGUEIRA-NETO, P. **A Criação de Abelhas Indígenas sem Ferrão**. 2ª ed. São Paulo, SP: Chácaras e Quintais, 1970. 365 p.

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

OLIVEIRA, D. de J.; SILVA, D.S.M.; SOUZA, A.V.; LIMA JUNIOR, C.A.; SODRÉ, G. da S.; CARVALHO, C.A.L. de. Avaliação de métodos de conservação do mel de *Melipona quadrifasciata* com base no perfil sensorial e aceitabilidade. **Magistra**, v. 25, p. 1-6, 2013.

OLLERTON, J.; WINFREE, R.; TARRANT S. How many flowering plants are pollinated by animals? **Oikos**, v. 120, n. 3, p. 321-326, 2011.

PARK, O.W. Testing for resistance to American foulbrood in honeybees. **Journal of Economic Entomology**, n.30, p.504-512,1937.

PIRES, S. M.A.; JOSA, A.; MARTINS, A. e COSTA, A. Estudo de alguns metodos usados para avaliar comportamento higiênico de ecotipos locais de abelhas

Portuguesas. **Revista Portuguesa de Ciência Veterinária**. n.101 vol.557-558 p. 45-49, 2006.

RAMALHO, M.; SILVA, M.D. e; CARVALHO, C.A.L. Dinâmica de uso de fontes de pólen por *Melipona scutellaris* Latreille (Hymenoptera: Apidae): uma análise comparativa com *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae), no Domínio Tropical Atlântico. **Neotropical Entomology**, v. 36, p. 38-45, 2007.

RIBEIRO, G. S. **Ecologia da polinização da laranjeira com ênfase em *Melipona scutellaris* LATREILLE, 1811 E *Apis mellifera* L., 1758 (HYMENOPTERA: APIDAE) no Recôncavo da Bahia**. Tese de doutorado, Universidade federal do Recôncavo da Bahia, 99p. 2013.

ROTHENBUHLER, W. Behavior genetics of nest cleaning behavior in honeybees. I. Response of four inbred lines to disease killed brood. **Animal Behaviour**. n.12, p.578-583, 1964.

SAMPAIO, R.B.; PAULA-LEITE, M.C. de; CARVALHO, C.A.L. de; FAQUINELLO, P. Avaliação de alimentadores para abelha mandaçaia (*Melipona quadrifasciata anthidioides*). **Archivos de Zootecnia**, v. 62, p. 619-622, 2013.

SODRÉ, G. da S.; CARVALHO, C.A.L.de; FONSECA, A.A.O.; ALVES, R.M. de O.; SOUZA, B. de A. Perfil sensorial e aceitabilidade de méis de abelhas sem ferrão submetidos a processos de conservação. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p. 72-77, 2008.

SOUZA, B. A.; CARVALHO, C. A. L.; ALVES, R. M. O.; DIAS, C. S. CLARTON, N. Munduri (*Melipona asilvai*): a abelha sestrosa. Cruz das Almas: Universidade Federal do Recôncavo da Bahia/SEAGRI, 2009. 46p. (Serie Meliponicultura 07).

SOUZA, L.S.; ALVES, R.M. de O.; CARVALHO, C.A.L. de; SOUZA, L.S.; LIMA JÚNIOR, C.A. de. Produção de geoprópolis sob diferentes métodos de coleta em colônias de *Meliponsa scutellaris* Latreille (Hymenoptera: Apidae). **Magistra**, v. 10, p. 10-13, 2011.

SPIVAK, M. e DOWNEY, D. Field assays for hygienic behavior in honey bees (Hymenoptera: Apidae). **Journal of Economic Entomology**, n.91, p. 64-70, 1998.

SPIVAK, M. Honey bee hygienic behaviour and defense against *Varroa jacobsoni*. **Apidologie**, n.27, p. 245-260, 1996.

STORT, A. C.; GONÇALVES, L. S. **Africanização das abelhas *Apis mellifera* nas Américas**. In: BARRAVIERA B. (Ed.). Venenos animais: Uma visão integrada. Rio de Janeiro: EPUC, 1994. Cap.3, p. 33-47.

VENTURIERI, G. C. **Caixa para a criação de Uruçu-Amarela *Melipona flavolineata* Friese, 1900**. Comunicado Técnico Embrapa Amazônia Oriental, Belém, n. 212, p. 1-8, 2008b.

VENTURIERI, G. C. Contribuições para a Criação Racional de Meliponíneos Amazônicos. Belém, PA: **Embrapa Amazônia Oriental** (Documento 330), 2008a. 26 p. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/27861/1/Doc330.pdf>> Acesso em: 06 de nov. 2013.

VENTURIERI, G. C.; ALVES, D. A.; VILLAS-BÔAS, J. K.; CARVALHO, C. A.L.C; MENEZES, C.; VOLLET-NETO, A.; CONTRERA, A. L.; CORTOPASSI-LAURINO, M.; NOGUEIRA-NETO, P.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. Meliponicultura no Brasil: Situação Atual e Perspectivas Futuras para o Uso na Polinização Agrícola. In: IMPERATRIZ-FONSECA, Vera Lúcia... et al. (Organizadores). **Polinizadores no Brasil: contribuição e perspectivas para a biodiversidade, uso sustentável, conservação e serviços ambientais**. São Paulo: EDUSP, 2012.

VIANA, J.L.; FRANCISCO, A.K. de; CARVALHO, C.A.L. de; WALDSCHMIDT, A.M. Genetic variability in *Melipona scutellaris* from Recôncavo, Bahia, Brazil. **Genetics and Molecular Research**, v. 12, p. 3444-3454, 2013.

CAPÍTULO 1

MÉTODO DE PERFURAÇÃO DE PUPAS PARA DETERMINAR O COMPORTAMENTO HIGIÊNICO EM *Melipona scutellaris* (HYMENOPTERA: APIDAE)

¹ Manuscrito a ser ajustado e submetido ao periódico científico Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, em versão na língua inglesa.

**AVALIAÇÃO DO MÉTODO DE PERFURAÇÃO DE CRIAS PARA DETERMINAR
O COMPORTAMENTO HIGIÊNICO EM *Melipona scutellaris*
(HYMENOPTERA: APIDAE)**

RESUMO: O crescimento da meliponicultura favorece a troca de material genético entre meliponicultores, aumentando o risco de disseminação de doenças. Devido a sua importância no que se refere à sanidade das colônias das abelhas sem ferrão, este estudo teve como objetivo testar o método de perfuração de crias em colônias de *Melipona scutellaris*, quanto a sua capacidade de detecção e remoção das crias mortas. Foram utilizadas 39 colônias de *M. scutellaris* alojadas em caixas modelo INPA. O método de perfuração de crias com auxílio de um alfinete entomológico para determinação do comportamento higiênico em *Apis mellifera* foi ajustado e utilizado neste estudo. em cada colônia foram marcadas 50 células de pupa (olho rosa) com corretivo tipo *Liqued Paper®*, sendo que 25 células foram marcadas apenas com corretivo branco (controle), e 25 células marcadas com corretivo corado com anilina vermelha. Após um período de 24 horas da marcação, as células coradas foram perfuradas e avaliadas no período de 24, 48, 72 e 96 horas após a perfuração, quando foi quantificado o número de células removidas. Para as análises dos dados foram realizados os testes de média e desvio padrão. Onde foi encontrada uma remoção média de 7,71% das pupas mortas e 2,56% das colônias apresentaram comportamento higiênico Verificou-se que a existência comportamento higiênico em colônias de *M. scutellaris* e a técnica adaptada da apicultura para determinar este comportamento pode ser aplicada na meliponicultura para a seleção de colônias.

Palavras chaves: Abelha uruçu; meliponicultura; abelhas sem ferrão.

**“MÉTODO DE PERFURAÇÃO DE PUPAS PARA DETERMINAR O
COMPORTAMENTO HIGIÊNICO EM *Melipona scutellaris*
(HYMENOPTERA: APIDAE)”**

ABSTRACT:

O Abstract será baseado no Resumo, que após avaliado pela Banca Examinadora, será encaminhado para a tradução na empresa Katzenhaus Traduções localizada em São José dos Campos-SP.

Keyword: Uruçu Bee; Meliponiculture; Stingless bees.

INTRODUÇÃO

Nas florestas tropicais do Brasil existem várias espécies de abelhas nativas (NOGUEIRA NETO, 1997), das quais muitas são conhecidas como abelhas sem ferrão as quais são criadas desde os primórdios da humanidade (SILVA E PAZ 2012).

Devido aos avanços nas pesquisas e o incentivo de instituições de ensino e de fomento, a meliponicultura (criação de abelhas sem ferrão) (NOGUEIRA NETO, 1970; VENTURIERI, 2008) vem ganhando espaço e novas técnicas tem sido desenvolvidas para facilitar o manejo, melhorar a produção e obter produtos de melhor qualidade e em quantidade, atendendo as exigências de mercado e promovendo sustentabilidade financeira aos meliponicultores (MACEDO et al., 2011). Parte do sucesso do incremento da meliponicultura se deve ao aperfeiçoamento das técnicas, permitindo promover uma melhor eficiência na produtividade com baixo custo (ALVES et al., 2012).

Para a melhoria da produção é necessário uma criação saudável e livre de doenças. Dentre as práticas de manejo de abelhas, a seleção de colônias com comportamento higiênico é uma das características importante como mecanismo de controle de algumas doenças, de forma a manter as colônias sadias. Dessa forma espera-se um melhor desenvolvimento da colônia e conseqüente aumento da produtividade (GONÇALVES e GRAMACHO, 1999).

Originalmente o comportamento higiênico é considerado um mecanismo de defesa contra doenças causadas por bactérias (ROTHENBUHLER, 1964). Além disso apresenta capacidade de detecção e remoção de crias doentes e controle parasitário (ácaros). Este é de extrema importância para evitar propagação no interior da colônia a partir de crias mortas, as quais possivelmente estão infectadas por bactérias e vírus e controle populacional de ácaros (DONZÉ et al., 1996; IBRAHIM e SPIVAK, 2006; SPIVAK, 1996).

O controle sanitário é uma ferramenta eficiente para evitar a entrada e propagação de novas doenças, o que demanda estudos em pesquisas sobre patologia e melhoramento genético de abelhas (STORT e GONÇALVES, 1994).

Atualmente o comportamento higiênico vem sendo utilizado na apicultura como critério de seleção para produção, o qual é determinado pela capacidade de

detectar crias mortas, doentes, parasitadas ou que sofreram qualquer dano, mesmo quando esta já está operculada (GRAMACHO, 2004).

Os estudos referentes às técnicas de avaliação e de resposta do comportamento higiênico em abelhas são baseados nas espécies do gênero *Apis*. Com o aumento da atividade meliponícola, certamente a aplicação de técnicas visando identificar colônias com esse comportamento será necessário, devido ao fluxo de colônias e troca de material genético, práticas comuns de manejo entre os produtores de mel. Contudo, estes estudos ainda são escassos os quais relatam a presença de comportamento higiênico nas seguintes espécies, *M. Bicheii*, *Scaptotrigona pectoralis* (MEDINA, 2009), *Plebeia remota* (NUNES-SILVA, et al. 2009), *Tetragonista angustula* e *M. Quadrifasciata* (Tenorio, 1996) para as espécies de abelhas sem ferrão, como a abelha urucu (*Melipona scutellaris*), a espécie mais criada para a produção de mel no estado da Bahia.

Devido a sua importância no que se refere à sanidade e manejo das colônias das abelhas sem ferrão, este estudo tem como objetivo avaliar o comportamento higiênico de colônias de *Melipona scutellaris*, quanto a sua capacidade de detecção e remoção das crias mortas.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Meliponário do Grupo de Pesquisa Insecta da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), município de Cruz das Almas, Bahia (12°39'20" W e 39°07'23" S, altitude 220 m), durante o período de agosto de 2012 a setembro de 2013.

Ao todo foram utilizadas 39 colônias de *M. scutellaris* alojadas em caixas modelo INPA, constituídas de ninho e sobreninho (20 x 20 x 10cm, cada), melgueira (20 x 20 x 5cm), fundo e tampa (24 x 24cm) com 2cm de espessura. As colônias foram instaladas no módulo coletivo coberto com telhas de cerâmica (Figura 1).



Figura 1. Vista geral do Meliponário do Grupo de Pesquisa Insecta da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB) com colônias de *Melipona scutellaris* instalada em caixa INPA.

Método de perfuração de pupas

O método de perfuração de crias (NEWTON e OSTASIEWSKY, 1986), com auxílio de um alfinete entomológico nº2, utilizado para determinação do comportamento higiênico em *Apis mellifera* L. (Apidae: Apini), foi ajustado da seguinte forma: em cada colônia foram marcadas 50 células de pupa (olho rosa) (MEDINA et al., 2009) com corretivo tipo *Liqued Paper*® a base d'água e atóxico, sendo que 25 células foram marcadas apenas com corretivo branco (controle), e 25 células marcadas com corretivo corado com anilina vermelha. (Figura 2). Após um período de 24 horas da marcação, as células coradas foram perfuradas. A avaliação foi realizada no período de 24, 48, 72 e 96 horas após a perfuração, quando foi quantificado o número de células removidas (adaptado de NEWTON e OSTASIEWSKY, 1986).



Figura 2. Aspecto do disco de cria de *Melipona scutellaris* com células marcadas (pupa de olho rosa) com corretivo tipo *Liqued Paper*®: as células marcadas com corretivo corado com anilina vermelha foram perfuradas e as células marcadas com corretivo de cor branca foram mantidas intactadas para o controle. Na foto observa-se o patrulhamento de operárias nas células perfuradas após o período de 24 horas.

As características avaliadas foram o número de pupas removidas e o percentual de células removidas.

Manejo das colônias

As colônias foram revisadas quinzenalmente para acompanhamento do seu estado de desenvolvimento e monitoramento de inimigos naturais. Durante todo o experimento foram alimentadas com xarope constituído de 50% de água e 50% de açúcar, fornecido duas vezes na semana, sempre que foi observada a presença de potes vazios. Foi utilizado o alimentador tipo prato instalado no interior das melgueiras (Figura 3). No período de avaliação das células marcadas,

a alimentação foi suspensa para evitar saque e alteração no comportamento das colônias.

Para evitar a destruição involuntária das células (marcadas ou não) no interior do ninho, foi utilizado um plástico entre a melgueira e o ninho/sobreninho. Este procedimento foi necessário porque as abelhas constroem pilares fixando os favos de cria localizados no ninho à parte inferior da melgueira, que são facilmente rompidos por ocasião da separação das partes da caixa para a observação e contagem das células.



Figura 3. Potes de alimento vazios em colônias de *Melipona scutellaris* e alimentador tipo prato no interior da melgueira de uma caixa INPA.

Dados climáticos

Durante todos os dias de coleta de dados foram obtidos os dados de temperatura e umidade relativa do ar por meio de termo-higrômetro instalado no Meliponário.

Análise dos dados

Foram realizadas análises descritivas dos dados e realizados os testes de média e desvio padrão utilizando o programa computacional SAS (2007).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o período experimental a temperatura média foi de $26,19 \pm 2,84$ °C, sendo a máxima de $34,6$ °C a mínima de $19,5$ °C, e a umidade relativa do ar foi de $75,04 \pm 11,74$ %. Não houve correlação entre esses dados com o percentual de remoção das pupas.

Um total de 39 observações foi realizado, sendo verificada uma remoção média acumulada de $8,31 \pm 4,55$ % das pupas mortas em 24 horas, $13,85 \pm 23,85$ % em 48 horas, $19,90 \pm 27,23$ % em 72 horas e $29,33 \pm 33,49$ % em 96 horas (Tabela 1). Neste mesma Tabela é apresentado os valores médios da remoção de pupas mortas não acumulado. As pupas das células controle se desenvolveram normalmente e não sofreram danos aparente pela marcação efetuada com o corretivo tipo *Liqued Paper*® (SAMPAIO, et al., 2013).

Tabela 1. Comportamento higiênico de *Melipona scutellaris* determinado por meio da remoção de pupas perfuradas.

Período de avaliação após perfuração	Remoção não acumulada (%)*	Remoção acumulada (%)*
24 horas	$8,31 \pm 18,22$	$8,31 \pm 18,22$
48 horas	$5,54 \pm 10,57$	$13,85 \pm 23,85$
72 horas	$6,05 \pm 12,87$	$19,90 \pm 27,23$
96 horas	$10,93 \pm 24,11$	$29,33 \pm 33,49$
Média Geral	$7,71 \pm 16,45$	$17,85 \pm 25,70$

*Valores relativos ao total de 25 células perfuradas por colônia; n = 39 colônias.

Estudos com as abelhas sem ferrão do grupo dos trigníneos que utilizaram o método de perfuração de pupas apresentaram resultados variados. Para *Plebeia remota*, Nunes-Silva et al. (2009) verificaram que houve remoção de 69,6% das crias mortas em 24 horas e 96,4% em 48 horas. Tenório (1996) observou remoção de 10% em 48 horas em *Tetragonisca angustula*, enquanto que MEDINA et al. (2009) verificaram 97% de remoção em *Scaptotrigona pectoralis* em 48 horas.

Utilizando um outro método, congelamento de pupas com olhos de cor branca, Tenório (1996) verificou remoção de 30% em 72 horas em colônias de *T. angustula*. Este autor também avaliou o comportamento de *M. quadrifasciata*,

uma espécie próxima de *M. scutellaris*, quando registrou remoção de 1% das pupas com olhos de cor branca em 72 h.

O método de congelamento de pupas com olhos de cor rosa o qual consistete em despejar nitrogênio líquido (N₂) (JAY, 1963) sobre a área do favo previamente estabelecida, foi utilizado na abelha *M. beecheii*, sendo observada a remoção de 66% das pupas em 48 horas (MEDINA et al., 2009).

Considerando o padrão utilizado para selecionar colônias higiênicas em *Apis mellifera*, remoção de no mínimo 80% das crias mortas em 24 horas Gramacho e Gonçalves (1994), verificou-se que apenas 2,56% das colônias de *M. scutellaris* apresentaram este comportamento. Embora seja um valor relativamente baixo, o fato de existir colônias no plantel com esta capacidade revela a possibilidade de utilização deste método para selecionar colônias com hábito higiênico, etapa inicial importante para futuros programas de melhoramento genético visando a sanidade do meliponário.

Verificou-se que 16,67% das colônias removeram mais de 80% das pupas mortas em 96 horas, enquanto que 87,18% removeram menos de 20% das crias em 24 horas, onde que 2,26% das colônias removeram mais de 80% sendo consideradas higiênicas e enfatizando que há possibilidade de seleção entre estas (Tabela 2).

Tabela 2. Percentual de colônias de *Melipona scutellaris* que removeram pupas perfuradas em diferentes horários e escalas de remoção.

Intervalo de Remoção de Pupas perfuradas (%)	Porcentagem de Colônias (n=39)			
	24 horas	48 horas	72 horas	96 horas
0-20%	87,18	76,92	71,79	60,00
21-40%	5,13	12,82	10,26	10,00
41-60%	5,13	5,13	10,26	10,00
61-80%	0,00	0,00	0,00	3,33
81-100%	2,56	5,13	7,69	16,67
Total	100,00	100,00	100,00	100,00

Analisando a literatura sobre o comportamento higiênico de *A. mellifera* e os dados obtidos para *M. scutellaris*, observou-se que o comportamento de remoção das crias mortas seguem etapas distintas. *Apis mellifera* remove o indivíduo após detectar a pupa morta sob opérculo de cera, enquanto que *M. scutellaris*, além de fazer este mesmo comportamento, destrói toda a célula logo após a remoção da cria morta (NOGUEIRA-NETO, 1970). Este mecanismo muito importantes desenvolvido pelas abelhas sem ferrão é muito importante para o controle de doenças e parasitas (MEDINA et al., 2009).

Segundo Gramacho e Gonçalves (2009), em *A. mellifera* a detecção de crias mortas é feita pela percepção das abelhas às substâncias voláteis deixadas por estas crias, onde as abelhas que são higiênicas tem a capacidade de perceber mesmo quando a quantidade dessas substâncias são muito baixas

É possível que o opérculo dos favos de *M. scutellaris* seja mais espesso devido a presença da mistura da cera com resina, comumente utilizada pelos meliponíneos na construção dos seus favos de cria. A maior espessura dos opérculos e o cheiro da resina podem confundir as abelhas operárias, sendo necessário mais tempo para detecção e remoção das crias mortas. O hábito de destruir as células comuns nas abelhas sem ferrão (NOGUEIRA-NETO, 1970; MEDINA et al., 2009; NUNES-SILVA et al., 2009) compensaria este tempo, que certamente superaria às 24 horas já estabelecida para *A. mellifera*.

Durante todo o período de observação para 24, 48, 72 e 96 horas o percentual de remoção foi aumentando gradualmente com o passar das horas, onde foi encontrada uma remoção de 2,56; 5,13; 7,96 e 16,67% das colônias, com remoção acima de 80% das células. O aumento gradativo também pode ser verificado na média geral de remoções na Figura 4, quando compara-se o quantitativo de remoções não acumuladas e acumuladas no decorrer das avaliações.

Um total de 44,12% das colônias não removeram as pupas perfuradas durante o período de avaliação de 96 horas. Apesar disso, a existência de variabilidade entre as colônias de *M. scutellaris* onde foi verificado a remoção de pupas, possibilita trabalhos de seleção de colônias voltado para essa característica.

A técnica de perfuração de pupa de olho rosa com alfinete entomológico apresentou resultados consistentes, além de ser uma técnica de fácil execução e

de baixo custo. Entretanto, outros trabalhos devem ser realizados para avaliar a influência do desenvolvimento da colônia na remoção de crias, como também outras fases do desenvolvimento da abelha, de forma a buscar mais eficiência do método, confirmando o comportamento higiênico da colônia e estabelecendo etapas do processo de seleção e melhoramento das colônias.

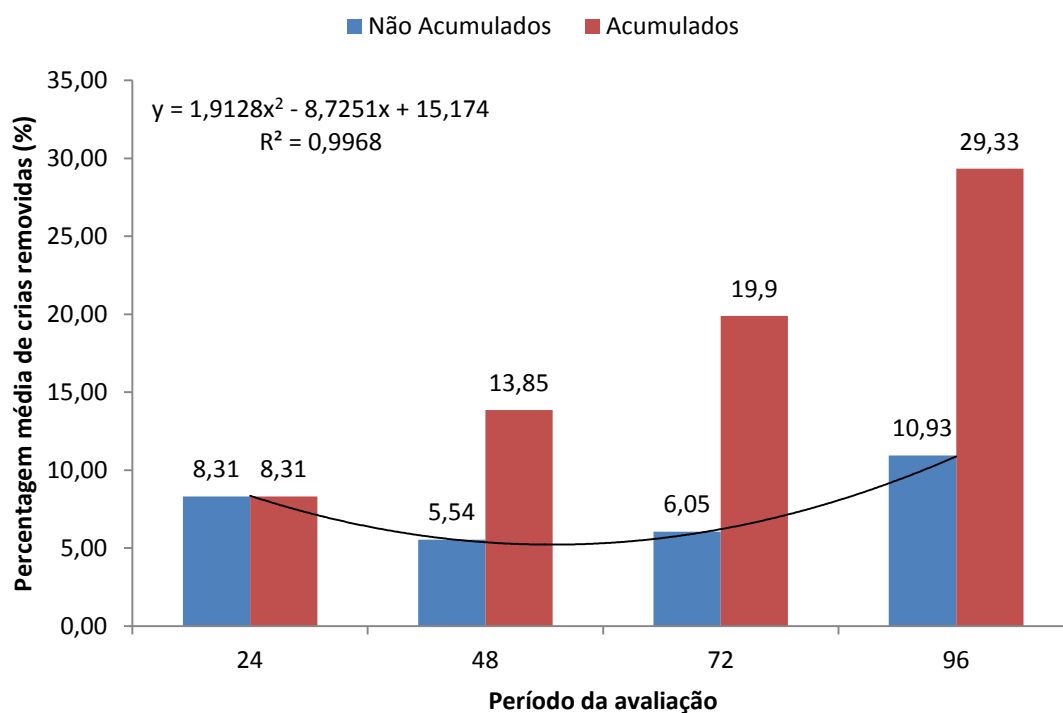


Figura 4. Remoção média de pupas de olho rosa por operárias de *Melipona scutellaris*. Período de avaliação em horas após o processo de perfuração das pupas; dados não acumulados e acumulados ao longo do período de avaliação.

CONCLUSÃO

A técnica para determinar o comportamento higiênico pode ser aplicada na meliponicultura para a seleção de colônias. Existe comportamento higiênico em colônias de *M. scutellaris*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, R. M. O.; CARVALHO, C. A. L. ; FAQUINELLO, P. ; LEDO, C. A. S. ; FIGUEREDO, L. . Parâmetros biométricos e produtivos de colônias de *Melipona*

scutellaris Latreille, 1811 (Hymenoptera: Apidae) em diferentes gerações. **Magistra**, v. 24, p. 105-111, 2012.

DONZÉ, G.; HERRMANN, M.; BACHOFEN, B.; GUERIN, P. M. Effect of mating frequency and brood cell infestation rate on the reproductive success of the honeybee parasite *Varroa jacobsoni*. **Ecological Entomology**, London, v. 21, n. 1, p. 17-26, 1996.

GONÇALVES, L. S.; GRAMACHO, K. P. Seleção de abelhas para resistência a doenças de crias através do comportamento higiênico. **Mensagem Doce**, n. 52, p. 2-7, 1999.

GRAMACHO, K. P.; GONÇALVES, L. S. Estudo comparativo dos métodos de congelamento e perfuração de crias para avaliação do comportamento higiênico em abelhas africanizadas. In: CONGRESSO LATINOIBEROAMERICANO DE APICULTURA, 4., 1994. **Anais...** Cordoba-Argentina, 1994. p. 45.

GRAMACHO, K.P. Sensorial perception of hygienic honey bee. In: Encontro sobre abelhas, 7., 2004, Ribeirão Preto. **Anais...** Ribeirão Preto: FUNPEC, 2004. p.6-10, 2004.

GRAMACHO, K.P; GONÇALVES, L. S. Comparative study of the hygienic behavior of Carniolan and Africanized honey bees directed towards grouped versus isolated dead brood cells. **Genetics and Molecular Research** n.8, v.2, p. 744-750, 2009.

GRAMACHO, K.P; GONÇALVES, L. S. Sequential hygienic behavior in Carniolan honey bees (*Apis mellifera carnica*). **Genetics and Molecular Research** n.8, v.2, p. 655-663, 2009b.

IBRAHIM, A.; SPIVAK, M. The relationship between hygienic behavior and suppression of mite reproduction as honey bee (*Apis mellifera*) mechanisms of resistance to *Varroa destructor*. **Apidologie**, Versailles, v. 37, n. 1, p. 31-40, 2006.

JAY, S. C. The development of honeybees in their cells. *Journal of Apicultural Research*, London, v. 2, p. 117-134, 1963.

MACEDO, V. A.; TENÓRIO, E.G.; MONTEIRO, A. L. R.; BELO, J. S., ARAÚJO, J. B. Época de extração de mel de abelha tíuba no povoado Limoeiro no município de Viana no Maranhão, **Anais...** VII Congresso Brasileiro de Agroecologia – Fortaleza/CE, 2011.

MEDINA, L.M., HART, A.G.; RATNIEKS, F.L.W. Hygienic behavior in the stingless bees *Melipona beecheii* and *Scaptotrigona pectoralis* (Hymenoptera: Meliponini). **Genetics and Molecular Research** n.8, v.2, p.571-576, 2009.

NEWTON, D. C.; OSTASIEWSKI, Jr., N. J. A simplified bioassay for behavioral resistance to American foulbrood in honey bees (*Apis mellifera* L.). **American Bee Journal**, v. 126, n. 4, p. 278-281, 1986.

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

NOGUEIRA-NETO, P. **A Criação de Abelhas Indígenas sem Ferrão**. 2ª ed. São Paulo, SP: Chácaras e Quintais, 1970. 365 p.

ROTHENBUHLER, W. Behavior genetics of nest cleaning behavior in honeybees. I. Response of four inbred lines to disease killed brood. **Animal Behaviour**. n.12, p.578-583, 1964.

SAMPAIO, R. B.; FAQUINELLO, P.; ALVES, E. M.; MACHADO, C. S.; LEITE, M. C. P.; CARVALHO, C. A. L. Comportamento higiênico *Melipona scutellaris* latreille 1811 (hymenoptera: Apidae) In: **Anais...** Seminário Brasileiro de Propólis e Polén, 2013, Ilheus.

SILVA, W. P. e PAZ, J.R.L. da Abelhas sem ferrão: muito mais do que uma importância econômica **Natureza on line** n.10, v.3, p.146-152, 2012.

SPIVAK, M. Hygienic behavior and defense against *Varroa jacobsoni*. *Apidologie*, Versailles, v. 27, n. 4, p. 245-260, 1996.

STORT, A. C.; GONÇALVES, L. S. **Africanização das abelhas *Apis mellifera* nas Américas**. In: BARRAVIERA B. (Ed.). *Venenos animais: Uma visão integrada*. Rio de Janeiro: EPUC, 1994. Cap.3, p. 33-47.

TENÓRIO, E. G. **Comportamento higiênico em abelhas indígenas (*Melipona quadrifasciata* Lepeletier, 1836 e *Tetragonisca angustula* Latreille, 1811) e em abelhas africanizadas (*Apis mellifera* Linnaeus, 1758)**. Tese Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. (1996).

VENTURIERI, G. C. *Contribuições para a Criação Racional de Meliponíneos Amazônicos*. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental (Documento 330), 2008. 26 p. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/27861/1/Doc330.pdf>> Acesso em: 06 de nov. 2013.

CAPÍTULO 2

COMPORTAMENTO HIGIÊNICO DE *Melipona scutellaris* EM DIFERENTES ESTÁGIOS DE DESENVOLVIMENTO DA CRIA E DA COLÔNIA

¹ Manuscrito a ser ajustado e submetido ao periódico científico Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, em versão na língua inglesa.

COMPORTAMENTO HIGIÊNICO DE *Melipona scutellaris* EM DIFERENTES ESTÁGIOS DE DESENVOLVIMENTO DA CRIA E DA COLÔNIA

RESUMO:

O crescimento da meliponicultura favorece a troca de material genético entre meliponicultores, aumentando o risco de disseminação de doenças. Devido a sua importância no que se refere à sanidade das colônias das abelhas sem ferrão, este estudo teve como objetivo avaliar o comportamento higiênico das colônias de *Melipona scutellaris*, quanto a sua capacidade de detecção e remoção das crias mortas, de forma a contribuir com futuros projetos de melhoramento genético das colônias dessa espécie. Foram utilizadas 46 colônias de *Melipona scutellaris* alojadas em caixas modelo INPA. O método de perfuração de crias com auxílio de um alfinete entomológico para determinação do comportamento higiênico em *Apis mellifera* foi ajustado e utilizado neste estudo. Em cada colônia foram marcadas 50 células de pupa (olho rosa) com corretivo tipo *Liqued Paper*®, sendo que 25 células foram marcadas apenas com corretivo branco (controle), e 25 células marcadas com corretivo corado com anilina vermelha. Este procedimento foi utilizado em colônia facas com (5 a 6 discos) e forte de (10 a 12 discos). Após um período de 24 horas da marcação, as células coradas foram perfuradas e avaliadas no período de 24, 48, 72 e 96 horas após a perfuração, quando foi quantificado o número de células removidas. Para as análises dos dados foi realizado o teste de Tukey 5%. Houve diferença significativa quanto a remoção de crias no período de 72 e 96 horas, onde as lavas foram superiores as pupas. O método de perfuração de crias também pode ser utilizado em *M. scutellaris*, sendo recomendado o uso de larvas de último ínstar no lugar de pupa de olho rosa. Colônias de *M. scutellaris* apresentaram comportamento higiênico, que não foi influenciado pelo tamanho da colônia. O comportamento higiênico não foi influenciado pelo tamanho da colônia. O método de perfuração pode ser utilizado para avaliar o comportamento higiênico em *M. scutellaris*, sendo recomendado o uso de larvas de último ínstar pela facilidade de remoção dos cadáveres.

Palavras Chaves: Meliponicultura; remoção de crias; larvas e pupa.;

“COMPORTAMENTO HIGIÊNICO DE *Melipona scutellaris* EM DIFERENTES ESTÁGIOS DE DESENVOLVIMENTO DA CRIA E DA COLÔNIA”

ABSTRACT:

O Abstract será baseado no Resumo, que após avaliado pela Banca Examinadora, será encaminhado para a tradução na empresa Katzenhaus Traduções localizada em São José dos Campos-SP.

Keywords: “Meliponicultura; remoção de crias; larvas e pupa.”

INTRODUÇÃO

A criação de abelhas é uma atividade que vem se desenvolvendo ao longo dos anos, despertando o interesse de criadores e várias instituições do Brasil, devido a sua rentabilidade e o seu baixo custo de implantação e manutenção (EVANGELISTA-RODRIGUES et al., 2005).

Devido a grandes avanços nas pesquisas e o incentivo de instituições de ensino a meliponicultura (criação de abelhas sem ferrão) (NOGUEIRA NETO, 1970; VENTURIERI, 2008) vem ganhando espaço e novas técnicas vêm sendo desenvolvidas para facilitar o manejo, melhorar a produção e assim produzir produtos de qualidade e quantidade para atender as exigências de mercado promovendo um melhor retorno financeiro a seus criadores (MACEDO et al., 2011).

Entre os meliponíneos podem ser encontradas espécies como jandaíra (*Melipona subnitida*), mandaçaia (*Melipona quadrifasciata*), mirins (*Plebeia* sp) e urucu nordestina (*Melipona scutellaris*) (NOGUEIRA NETO, 1997). E por sua facilidade de manejo vem ganhando espaço na criação de abelhas, entretanto, novas pesquisas devem ser realizadas para aprimoramento de técnicas.

Para melhoria na produção é necessário uma criação saudável e livre de doenças. Dentre as práticas de manejo em abelhas, o comportamento higiênico é uma das características importante como mecanismo de controle de algumas doenças e de manter colônias sadias. Dessa forma, permite um melhor desenvolvimento da colônia (GONÇALVES e GRAMACHO, 1999), e aumento da produtividade.

A primeira observação de comportamento higiênico foi realizada por Park et al. (1937) buscando determinar se existia resistência à bactéria causadora da Cria Pútrida Americana em abelhas *Apis mellifera*.

Para o comportamento higiênico há um critério de avaliação, a colônia é considerada higiênica quando há remoção de 80 a 100% das crias mortas em 24 horas (GRAMACHO e GONÇALVES, 1998).

Diante de vários métodos para avaliar o comportamento higiênico das abelhas os que se destacam são os de perfuração de crias desenvolvidas por NEWTON e OSTASIEWISKI (1986) e modificado por GRAMACHO e

GONÇALVES (1994) e o de congelamento de crias por (GONÇALVES e KERR 1970).

Os estudos referentes a técnicas de avaliação e resposta do comportamento higiênico em abelhas do gênero *Apis* são amplamente utilizados como critério de seleção para o melhoramento genético, entretanto em abelhas sem ferrão (meliponicultura) estes estudos são incipientes devido a grande diversidade de espécies.

Em virtude do incremento da atividade meliponícola em todo o território nacional e em especial no estado da Bahia, certamente a demanda por colônias e manejo, como migração e troca de material genético, aumentarão o risco potencial de aparecimento de doenças.

Neste contexto, este estudo teve como objetivo Avaliar o comportamento higiênico de *M. scutellaris* em diferentes estágios de desenvolvimento da cria (pupa e larva) e da colônia (fraca e forte).

Metodologia

O trabalho foi realizado no Meliponário do Grupo de Pesquisa Insecta da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), município de Cruz das Almas, Bahia (12°39'20" W e 39°07'23" S, altitude 220 m), durante o período de agosto de 2012 a setembro de 2013, utilizando 46 colônias de *Melipona scutellaris* (Apidae: Meliponini) alojadas em caixas modelo INPA, constituídas de ninho e sobreninho (20 X 20 X 10 cm, cada), melgueira (20 x 20 x 5 cm), fundo e tampa (24 X 24 cm) com 2 cm de espessura. As colônias foram instaladas no módulo coletivo coberto com telhas de cerâmica.

Método de perfuração de pupas

O método de perfuração de pupas (NEWTON e OSTASIEWSKY, 1986), com auxílio de um alfinete entomológico nº2 (GRAMACHO e GONÇALVES, 1994), utilizado para determinação do comportamento higiênico em *Apis mellifera* L. (Apidae: Apini), foi ajustado da seguinte forma: em cada colônia foram marcadas 50 células de pupa (olho rosa) com corretivo tipo Lique Paper®, sendo que 25 células foram coradas com anilina vermelha (células para perfuração) e 25 células com corretivo de cor branca (controle). Após um período de 24 hs da marcação, as células coradas foram perfuradas. A avaliação foi realizada no

período de 24, 48, 72 e 96 horas após a perfuração, quando foi quantificado o número de células removidas (NEWTON e OSTASIEWSKY, 1986).

O experimento foi dividido em quatro tratamentos, de forma a avaliar o estado de desenvolvimento da colônia e da cria (pupa e larva de último ínstar): Tratamento 1: Colônia fraca e cria nova; Tratamento 2: Colônia fraca e pupa de olho rosa; Tratamento 3: Colônia forte e cria nova; e Tratamento 4: Colônia forte e pupa de olho rosa.

O estado de desenvolvimento da colônia foi considerado forte, quando a colônia estava instalada em dois módulos (ninho e sobre ninho com 10 a 12 discos de crias) e fraca, quando a colônia estava instalada em apenas um módulo (ninho com 5 a 6 discos de crias), restringindo o espaço de postura da rainha (Figura 1).

Durante o procedimento de quantificação foi observado o número de células parcialmente removidas, pontuadas, desoperculadas e destruídas.



Figura 1. Colônias de *Melipona scutellaris* instaladas em caixa tipo INPA: A. colônias fracas com um módulo de cria; B. colônias fortes com dois módulos de cria.

Para a determinação dos estádios de desenvolvimento foi considerado a pupa de olho rosa e a larva de último ínstar (larva em pé). Em ambos os casos,

células dos discos de crias foram abertas para avaliação do estágio de desenvolvimento e posteriormente descartadas (Figura 2).



Figura 2. Aspecto da larva de último instar (A) e da pupa de olho rosa (B) de *Melipona scutellaris*.

Manejo das colônias

As colônias foram revisadas quinzenalmente para acompanhamento do seu estado de desenvolvimento e monitoramento de inimigos naturais. Durante todo o experimento foram alimentadas com xarope constituído de 50% de água e 50% de açúcar, fornecido duas vezes na semana para as colônias fortes e uma vez na semana para as colônias fracas. Foi utilizado o alimentador tipo prato instalado no interior das melgueiras. No período de avaliação das células

marcadas, a alimentação foi suspensa para evitar saque e alteração no comportamento das colônias.

Para evitar a destruição involuntária das células (marcadas ou não) no interior do ninho, foi utilizado um plástico entre a melgueira e o ninho/sobreninho. Este procedimento foi necessário porque as abelhas constroem pilares fixando os favos de cria localizados no ninho à parte inferior da melgueira, que são facilmente rompidos por ocasião da separação das partes da caixa para a observação e contagem das células.

Dados climáticos

Durante o período de avaliação foram obtidos os dados de temperatura e umidade relativa do ar por meio de termo higrômetro instalado no Meliponário.

Análise estatísticas

O teste de Tukey a nível de 5% foi utilizado por meio do programa computacional SAS (2007).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram realizadas um total de 76 observações para avaliar o comportamento higiênico pelo método de perfuração da cria, considerando o estado de desenvolvimento da colônia (caixa forte e caixa fraca) e da cria (pupa e larva de último ínstar).

Considerando o estado de desenvolvimento da colônia, pode-se verificar que não houve diferença estatística ($P > 0,05$) entre colônias fortes e fracas em todos os períodos de avaliação (Tabela 1).

Ao avaliar conjuntamente o tipo de colônia e estágio da cria, observou-se que as maiores percentagens de remoção 96 horas após a perfuração das células de cria (final das avaliações), foram encontradas em colônias fortes com crias em estágio de larva (último ínstar). Isto também foi verificado ao analisar apenas o tipo de cria, onde a partir de 72 horas foi possível observar que as crias em estágio de larva de último ínstar apresentaram valores de remoção estatisticamente superior aos das crias em estágio de pupa.

Tabela 1. Comportamento higiênico de *Melipona scutellaris* com base na porcentagem de remoção de larvas e pupas em dois padrões de desenvolvimento das colônias quanto ao tamanho populacional medido em quantidade de discos ao longo de diferentes horários após a perfuração das crias

Tratamentos	Remoção das crias (%)			
	24h	48h	72h	96h
Colônia Forte (larva)	10,67 ^a	25,52 ^a	51,81 ^a	75,81 ^a
Colônia Forte (pupa)	9,00 ^a	16,00 ^a	20,50 ^b	26,25 ^b
Colônia Fraca (larva)	13,75 ^a	25,00 ^a	36,25 ^{ab}	51,25 ^{ab}
Colônia Fraca (pupa)	7,83 ^a	12,35 ^a	19,48 ^b	29,74 ^b
Média Cria (larva)	12,00 ^a	25,30 ^a	45,08 ^a	65,19 ^a
Média Cria (pupa)	8,31 ^a	13,85 ^a	19,90 ^b	28,31 ^b
Média Colônia Forte	9,95 ^a	21,41 ^a	38,27 ^a	54,38 ^a
Média Colônia Fraca	10,26 ^a	17,54 ^a	26,36 ^a	38,56 ^a

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Durante o trabalho foi observado que as larvas eram removidas com mais eficiência pelas abelhas, dessa forma mais rápido, uma vez que são retiradas de dentro das células com maior facilidade devido a estrutura corporal ser mais compacta e mais resistente. Por outro lado as abelhas tinham dificuldade em retirar a pupa morta por ser mais robusta e ficar comprimida na célula, pois faziam de forma parcial ou em partes, devido a mesma ser mais sensível e ser despedaçada durante o processo de remoção. Estes resultados demonstram que a padronização do uso de uma fase de desenvolvimento da abelha (cria ou pupa) é fundamental na resposta durante a avaliação dos testes de comportamento higiênico.

O método de perfuração foi eficiente e a remoção das crias foram realizadas pelas operárias (Figura 3).

A porcentagem de colônias com característica de remoção de pupa e/ou larva morta no intervalo de 0-20, 21-40, 41-60, 61-80 e 81-100% em 24, 48, 72 e 96 horas é encontrado na Figura 4.

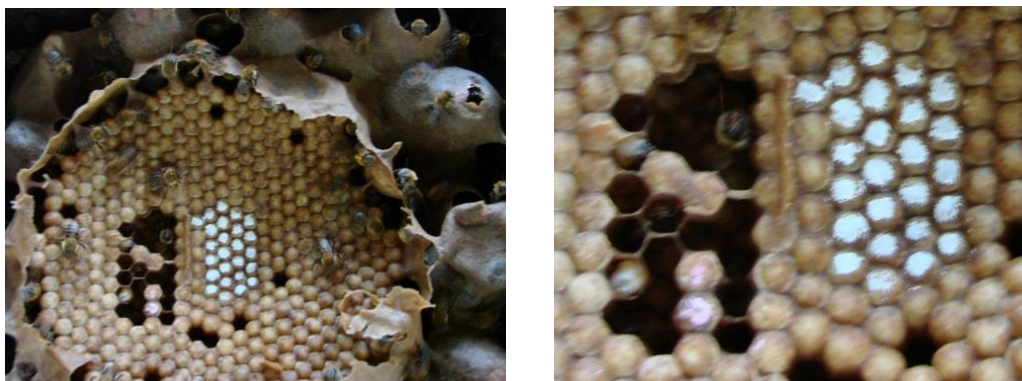


Figura 3. Aspecto da remoção de crias por *Melipona scutellaris*, evidenciando o conjunto de células removidas contra as células controle, não perfuradas.

Observou-se que em todos os horários de avaliação a maior porcentagem de cria removida, seja larva ou pupa, foi de 0-20% totalizando para larva e pupa em 24 horas de 86,50 e 87,18%, em 48 horas de 67,57 e 76,92%, em 72 horas de 40,54 e 71,79%, em 96 horas de 27,03 e 60% e em geral de 55,41 e 73,97%, respectivamente.

Utilizando o mesmo critério de avaliação para *A. mellifera*, que considera higiênica as colônias com a porcentagem de remoção superior a 80%, verificou-se que 23,65% das colônias avaliadas quanto à remoção de larvas e 8,01% das colônias avaliadas quanto à remoção de pupas poderiam ser classificadas como higiênicas. Essa diferença poderia estar relacionada pela maior facilidade das abelhas em detectar cria morta de acordo com seu estágio de desenvolvimento, sendo que em estágio de larva a remoção foi mais eficiente, seja por mecanismos mecânicos de remoção ou de detecção.

Os resultados demonstraram que a resposta na remoção da cria é independente do estado da colônia, ou seja, o tamanho da colônia, que envolve o número de discos de cria e o alimento estocado, não interferem no comportamento higiênico. Dessa forma, o comportamento de remoção de cria morta em *M. scutellaris* provavelmente está relacionado à origem genética, semelhantemente como foi detectado em *A. mellifera* (GRAMACHO, 1995 e PALACIO et al.; 2005). Nesta última espécie, as operárias são capazes de detectar as crias mortas pela percepção às substâncias voláteis, onde algumas possuem maior sensibilidade e, mesmo em níveis baixos, são capazes de

detectar e iniciar o processo de remoção (GRAMACHO e GONÇALVES, 2009; GRAMACHO e SPIVAK, 2003; MASTERMAN et al., 2001).

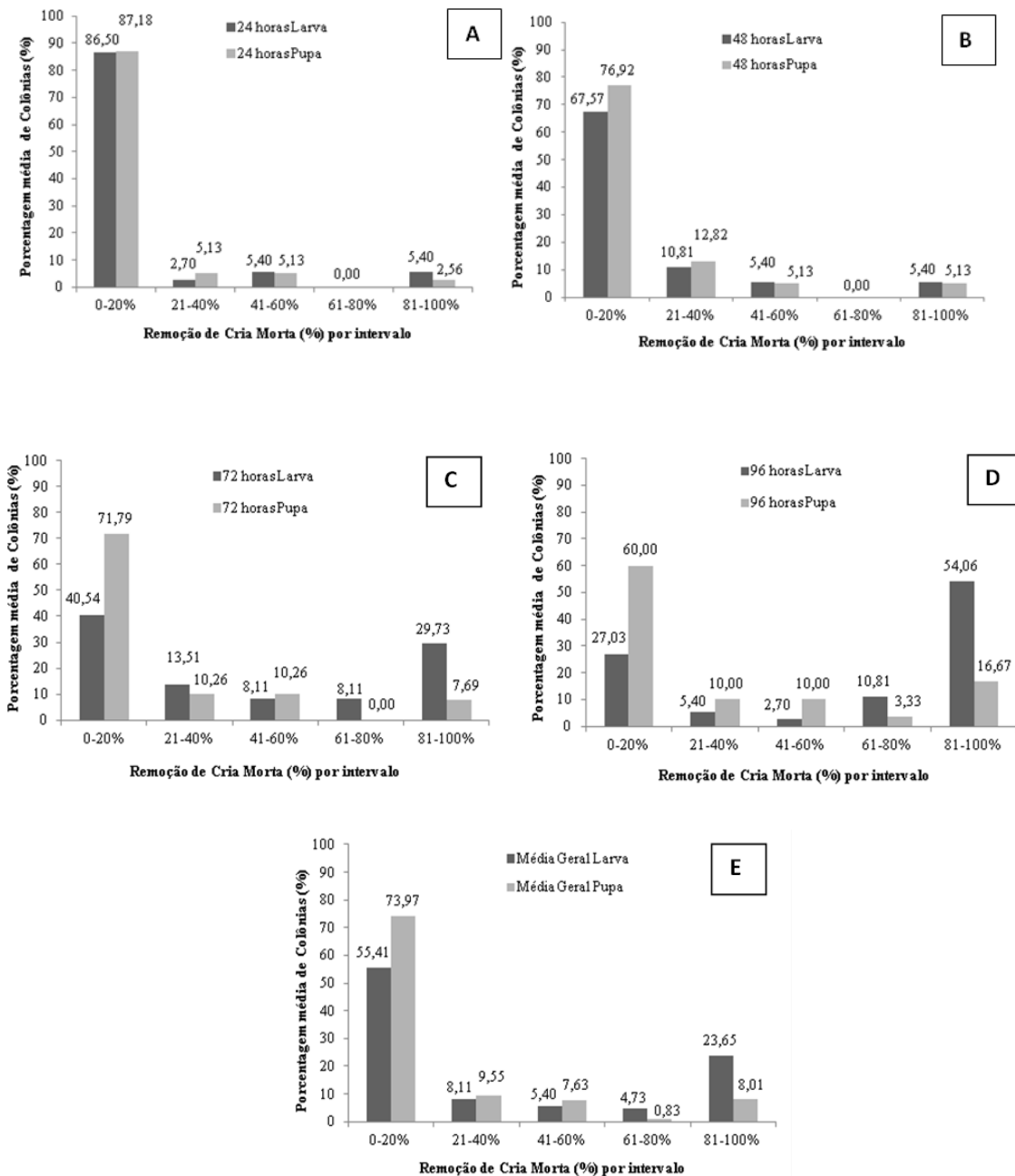


Figura 4. Porcentagem de colônias (%) com característica de remoção de pupa e/ou larva mortas no intervalo de 0-20%, 21-40%, 41-60%, 61-80% e 81-100% em 24 horas (A), 48 horas (B), 72 horas (C) e 96 horas (D). A remoção média geral (E).

Testes realizados comprovam que as abelhas sem ferrão (*Plebeia remota*; *M. beecheii*; *Scaptotrigona pectoralis*; *M. quadrifasciata* e *Tetragonisca angustula*) possuem comportamento higiênico eficaz e semelhantes aos de *A. mellifera* (MEDINA et al., 2009; NUNES-SILVA et al., 2009). Adicionalmente, ao comportamento de remoção, estas abelhas possuem o hábito de destruir totalmente as células de cria após a eclosão do adulto ou devido a alguma deficiência com as larvas e pupas, portanto não sendo reutilizadas para novas posturas como é observado em *A. mellifera* (MEDINA et al., 2009; NUNES-SILVA et al., 2009).

Durante o período experimental a temperatura média foi de $26,19 \pm 2,84$ °C, sendo a máxima de $34,6^{\circ}\text{C}$ a mínima de $19,5^{\circ}\text{C}$, e a umidade relativa do ar foi de $75,04 \pm 11,74\%$. Não houve correlação entre esses dados com o percentual de remoção das pupas e larvas.

Conclusões

O comportamento higiênico não foi influenciado pelo tamanho da colônia, sugerindo que esta característica pode está relacionada a fatores genéticos e/ou ambientais.

O método de perfuração pode ser utilizado para avaliar o comportamento higiênico em *M. scutellaris*, sendo recomendado o uso de larvas de último instar diante da facilidade em remoção das larvas mortas.

Referência Bibliográfica

EVANGELISTA-RODRIGUES, A.; SILVA, E.M.S. da; BESERRA, E.M.F.; RODRIGUES, M.L. Análise físico-química dos méis das abelhas *Apis mellifera* e *Melipona scutellaris* produzidos em regiões distintas no Estado da Paraíba. **Ciência Rural**, v.35, n.5, p.1166-1171, 2005.

GONÇALVES, L. S.; GRAMACHO, K. P. Seleção de abelhas para resistência a doenças de crias através do comportamento higiênico. **Mensagem Doce**, n. 52, p. 2-7, 1999.

GONÇALVES, L. S.; KERR, W. E. Genética, Seleção e Melhoramento. 1. Noções sobre genética e melhoramento em abelhas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 1., **Anais...** 1970. p. 8-36.

GRAMACHO, K. P. **Estudo do comportamento higiênico em *Apis mellifera* como subsídio a programas de seleção e melhoramento genético em abelhas.** 1995. 108 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

GRAMACHO, K. P.; GONÇALVES, L. S. Estudo comparativo dos métodos de congelamento e perfuração de crias para avaliação do comportamento higiênico em abelhas africanizadas. In: CONGRESSO LATINOIBEROAMERICANO DE APICULTURA, 4., 1994. **Anais...** Cordoba-Argentina, 1994. p. 45.

GRAMACHO, K. P.; GONÇALVES, L. S. O comportamento higiênico e sua aplicação no melhoramento de abelhas *Apis mellifera*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 13., 1998. **Anais...** Salvador. 1998. p. 82-87.

GRAMACHO, K.P. e SPIVAK, M. Differences in olfactory sensitivity and behavioral responses among honey bees bred for hygienic behavior. **Behavioral Ecology and Sociobiology.** n.54, p.472-479, 2003.

GRAMACHO, K.P; GONÇALVES, L. S. Comparative study of the hygienic behavior of Carniolan and Africanized honey bees directed towards grouped versus isolated dead brood cells. **Genetics and Molecular Research** n.8, v.2, p. 744-750, 2009.

MACEDO, V. A.; TENÓRIO, E.G.; MONTEIRO, A. L. R.; BELO, J. S., ARAÚJO, J. B. Época de extração de mel de abelha Tiúba no povoado Limoeiro no município de Viana no Maranhão, **Anais....** VII Congresso Brasileiro de Agroecologia – Fortaleza/CE, 2011.

MASTERMAN, R.; ROSS, R.; MESCE, K. e SPIVAK, M. Olfactory and behavioral response thresholds to odors of diseased brood differ between hygienic and non-hygienic honey bees (*Apis mellifera* L.). **Journal of Comparative Physiology A** n.187, p.441-452, 2001.

MEDINA, L.M., HART, A.G.; RATNIEKS, F.L.W. Hygienic behavior in the stingless bees *Melipona beecheii* and *Scaptotrigona pectoralis* (Hymenoptera: Meliponini). **Genetics and Molecular Research** n.8, v.2, p.571-576, 2009.

NEWTON, D. C.; OSTASIEWSKI, JR., N. J. A simplified bioassay for behavioral resistance to American foulbrood in honey bees (*Apis mellifera* L.). **American Bee Journal**, v. 126, n. 4, p. 278-281, 1986.

NOGUEIRA-NETO, P. A. **Criação de Abelhas Indígenas sem Ferrão**. 2ª ed. São Paulo, SP: Chácaras e Quintais, 1970. 365 p.

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

NUNES-SILVA, V.L.P, IMPERATRIZ-FONSECA e L.S. GONÇALVES Hygienic behavior of the stingless bee *Plebeia remota* (Holmberg, 1903) (Apidae, Meliponini) **Genetics and Molecular Research** n.8, v.2, p.649-654, 2009.

PALÁCIO, M. A.; FLORES, J. M.; RUFFINENGO, S. R.; ESCANDE, A.; BEDASCARRASBURE, E. L.; RODRIGUEZ, E. M.; GONÇALVES, L. Evaluation of the time of uncapping and removing dead brood from cell by hygienic behavior and non-hygienic honey bees. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 4, n. 1, p. 105-114, 2005.

PARK, O. W. Testing for resistance to American foulbrood in honeybees. **Journal of Economical Entomology**, n.30, p.504-512,1937.

VENTURIERI, G. C. Contribuições para a Criação Racional de Meliponíneos Amazônicos. Belém, PA: **Embrapa Amazônia Oriental** (Documento 330), 2008.

<<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/27861/1/Doc330.pdf>> Acesso em: 06 de nov. 2013.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O crescimento da meliponicultura oportuniza o aparecimento de doenças e pragas, tanto pelo aumento do número de colônias, quanto pela circulação e troca de material genético entre regiões.

A confirmação da presença do comportamento higiênico em *Melipona scutellaris* possibilita a instalação de programa de melhoramento genético visando selecionar colônias com essas características, capazes de minimizar os eventuais impactos de disseminação de patógenos.

O método de perfuração de crias utilizado na apicultura para selecionar colônias de *Apis mellifera* mais higiênicas e conseqüentemente mais resistentes a patógenos, também pode ser utilizado em *M. scutellaris*, sendo recomendado o uso de larvas de último ínstar no lugar de pupa de olho rosa.

Portanto, é possível avançar com projetos de melhoramento genético que visem selecionar colônias de *M. scutellaris* higiênicas, de forma a garantir a sanidade da colônia e o aumento da produtividade. Adicionalmente, vislumbra-se a possibilidade de se testar o método em outras espécies de abelhas sem ferrão de interesse econômico, visando a sanidade dos meliponários de produção.