



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL  
DOUTORADO EM CIÊNCIA ANIMAL

EDGAR RODRIGUES DE ARAUJO NETO

**Ancestralidade das abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L) na região semiárida do Brasil.**

MOSSORÓ

2023

EDGAR RODRIGUES DE ARAUJO NETO

**Ancestralidade das abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L) na região semiárida do Brasil.**

Tese apresentada ao Doutorado em Ciência Animal do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Doutor em Ciência Animal.

**Linha de Pesquisa:** Produção e Conservação Animal

**Orientadora:** Profa. Dra. Débora Andrea Evangelista Façanha.

**Co-orientadora:** Profa. Dra. Katia Peres Gramacho.

MOSSORÓ

2023

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

A  
658a      Araujo Neto, Edgar.  
            Ancestralidade das abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L) na região semiárida do Brasil. /  
            Edgar Araujo Neto. - 2023.  
            122 f. : il.

            Orientadora: Debora Façanha.  
            Coorientadora: Katia Gramacho.  
            Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural  
do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em  
Ciência Animal, 2023.

            1. Morfometria Geométrica. 2. Padrões de Asa.  
3. Ecótipos. 4. Semiárido. 5. Comportamento  
higiênico. I. Façanha, Debora, orient. II.  
Gramacho, Katia, co-orient. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada por sistema gerador automático em conformidade  
com AACR2 e os dados fornecidos pelo(a) autor(a).  
Biblioteca Campus Mossoró / Setor de Informação e Referência  
Bibliotecária: Keina Cristina Santos Sousa e Silva  
CRB: 15/120

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

## **Ancestralidade das abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L) na região semiárida do Brasil.**

Tese apresentada ao Doutorado em Ciência Animal do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Doutor em Ciência Animal.

**Linha de Pesquisa:** Produção e Conservação Animal no semiárido.

Defendida em: 24/03/2023.

### **BANCA EXAMINADORA**

Débora Andréa  
Evangelista  
Façanha

Assinado de forma  
digital por Débora  
Andréa Evangelista  
Façanha  
Dados: 2023.03.27  
13:07:11 -03'00'

---

Profa. Dra. Débora Andrea Evangelista Façanha. (UNILAB)  
Presidenta



Documento assinado digitalmente  
KATIA PERES GRAMACHO  
Data: 27/03/2023 15:01:06-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Prof. Dra. Katia Peres Gramahco (UFERSA)  
Membro Examinador



Documento assinado digitalmente

CARLOS ALFREDO LOPES DE CARVALHO

Data: 27/03/2023 15:05:21-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Prof. Dr. Carlos Alfredo Lopes de Carvalho (UFRB)  
Membro Examinador



Airton Torres Carvalho  
Professor Adjunto  
SIAPE: 1225180

Assinado digitalmente por Airton  
T Carvalho  
ND: OU=CCBS/DBIO, O=  
UFERSA, CN=Airton T Carvalho,  
E=airton.carvalho@ufersa.edu.br  
Razão: Eu sou o autor deste  
documento  
Localização: Mossoró, RN  
Data: 2023.03.27 14:44:03-03'00'  
Foxit PDF Reader Versão: 12.1.1

---

Prof. Dr. Airton Torres Carvalho (UFERSA)  
Membro Examinador

JOSE ERNANDES  
RUFINO DE  
SOUSA:44809247368

Assinado de forma digital por  
JOSE ERNANDES RUFINO DE  
SOUSA:44809247368  
Dados: 2023.03.27 16:36:45  
-03'00'

---

Prof. Dr. José Ernandes Rufino de Sousa (UFERSA)  
Membro Examinador

**DEDICO**

Ao tempo.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por muitas vezes nesse doutorado fui buscar força nele.

Em 2010 prometi a mim mesmo dedicar a tese do meu doutorado ao meu avô, **Edgar Rodrigues de Araujo Neto** (*In memoriam*), realizando um sonho que ele sempre me pedia, colocar Dr. nome dele. Quantas vezes escutei como seria bonito uma porta com o nome Dr. Edgar Rodrigues de Araujo Neto. Vovô Dadi, agora só falta a porta. Só tenho o que agradecer ao senhor por tudo que fez por mim. Sei como o senhor está feliz aí com o nosso amor, vovó Dinha – **Maria Rizelda** (*In memoriam*), vó foi para isso que fui estudar tão longe, muito obrigado por ter sido a melhor vó do mundo, minha parceira de resenha e desculpa por todos os sustos que te dei, amo muito vocês. Não esqueço vocês nem por um minuto.

Hoje agradeço aos meus principais apoiadores, aos meus pilares, as duas pessoas as quais mais amo nesse mundo, que nunca mediram esforços para que eu fosse atrás dos meus sonhos e que infelizmente fizeram a passagem durante essa minha fase. Meu pai **Carlos Alfredo Oliveira** (*In memoriam*), painho desculpa por todas as vezes que te corrigi falando que eu não era doutor e você me dizia “Você ainda não é. Mas eu tenho certeza de que você vai ser” obrigado por toda a confiança e todos os ensinamentos. A minha mãe **Gleide Selma de Araujo Oliveira** (*In memoriam*), seu neguinho ousado fez o que você pediu, não desisti mãe, fui até o final e consegui, agora vou correr atrás de conhecer o maior número de lugar possíveis, como você gostava que eu fizesse, posso escutar você falando que se realizava em mim. Cada passo que eu dou, levo vocês comigo. Amo vocês até a eternidade e sei que olham por mim sempre. Quando eu crescesse eu queria ser que nem vocês, agora que cresci ainda quero ser.

Agradeço a melhor irmã do mundo **Carlla Larissa Araújo Oliveira Costa**, a irmã mais mãe que existe no mundo! Caca você não tem noção da sua importância, do quanto te admiro, de como vejo painho e mainha em você. Sempre soube o quanto podia contar com você e agora sei o quanto podemos enfrentar qualquer tempestade, e garanto que vamos sair rindo porque se chorar fosse resolver nossos problemas choraríamos o dia todo, mas como não resolve, bola para frente e é vida que segue! Te amo Caquinha! Lado a lado sempre.

Não posso deixar de agradecer ao meu pequeno príncipe **Enzo Costa**, meu sobrinho que agora entende as idas e vindas de tio Neto, Enzo você ensinou a tio um jeito de amar que eu não conhecia. Um dia você vai ler isso e vai entender, espero que você já tenha me vencido no FIFA, te amo tio.

A **Carlos André**, meu cunhado irmão, eu não tenho nem como te agradecer por tudo que você fez e faz por mim e por todo. Aprendi e aprendo muito como você, te admiro e me espelho muito em você. Ainda vamos conquistar o mundo, pode ter certeza disso.

As minhas mães postças **Ecilene Silva de Araujo** e **Maria Telma de Araujo Passos**, minhas tias vão são incríveis! Aos meus tios, **Edney Fontes**, **Marcos Passos**, **Rui Carlos** e **Helder Ribeiro**, saibam tenho vocês como um espelho.

Muito obrigado a toda minha família, aos meus avós paternos, vovô Alfredo – **Alfredo Alves Oliveira** (*In memorian*) e vovó Maleis – **Marielze Ribeiro Aragão**, vocês fazer parte de todas a minhas conquistas. Não posso esquecer dos meus primos, que são muito mais que primos, em especial **Rodrigo de Araujo**, **Bruno de Araujo**, **Luigi de Araujo**, **Wlisses Ramon**, **Pierre Oliveira** e **Marcel Oliveira**! Obrigado por todo apoio! Nós temos muitas histórias juntos.

Agradeço a minha esposa **Jessica da Silva Valença**, você chegou em um dos momentos mais conturbados da minha vida e ficou do meu lado, apoiando em tudo, dando força e ajudando em todos os pontos possíveis. Nunca imaginou que estaria no sertão sergipano vendo tanto asa de abelha em? Te amo muito meu bem, você merece o mundo.

A minha orientadora **Débora Andréa Evangelista Façanha** por aceitar esse desafio e aderir a causa das abelhas. Agradeço por ter acreditado em mim e por ter me apresentado esse mundo incrível da conservação. Profa. a senhora é show!

A Dra. **Katia Peres Gramacho**, minha ex orientadora, atual coorientadora, mãe científica e a professora responsável por minha paixão pelas abelhas, professora saiba que se não fosse a senhora lá em 2010 com o minicurso de Biologia de Abelhas na Universidade Tiradentes provavelmente minha vida seria completamente diferente. Agora agradeço a Katinha e a nossa sincronia perfeita na cozinha, minha amiga quantas histórias temos. Saiba aquele menino cabeludo que entrou no laboratório da UNIT para fazer iniciação científica com você, hoje um homem careca ta entregando a tese de doutorado, você foi responsável por toda essa caminhada e saiba que como

sempre eu vou continuar levando seu nome comigo com maior orgulho. Obrigado, Obrigado e Obrigado.

A minha eterna criança **Sarah Gramacho**, o tempo está passando rápido demais e eu não to conseguindo acompanhar, um dia desses estava indo te buscar no Arquidiocesano e hoje você ta na porta da universidade! Sarinha obrigado por toda parceria esses anos. Sei que já te disse isso milhões de vezes, mas pode contar sempre com seu irmão aqui.

A **Lucas da Silva Moraes**, um irmão que a vida me deu e que é impossível não levar para a vida inteira. Meu velho obrigado por tudo, por toda sua sensibilidade, por ter esse coração gigante! Só você sabe o que passamos e tudo que você fez por mim. Grande parte das minhas conquistas eu tive você do meu lado e a outra parte que ainda está por vim vou continuar tendo. Obrigado por tudo meu amigo, irmão, socio e inimigo, segundo meu pai.

Agradeço aos amigos que fiz em Mossoró, em especial **Nailton Chagas, Leandro Alves, Arthur Scardini, Raul Carlos, Assis, Anderson (Balinha), Victória Moraes, Leticia Caetano, Heloisa, Kaynara, Herica, Samuel, Ewerton Tuanny e Paula Ferreira**. Obrigado a todos pelo apoio.

Aos meus amigos de Aracaju, **Lara e Lucas Dantas, Marina Oliveira** vocês são da biologia para a vida e sabem disso! A **Flavia, Adelaide, Idalia, Julio Cesar, Danilo Matos, Victor Afonso, Mayara Gouveia, Nayalla Martins, Eduardo Burle, Mirelly Deda e Henrique Ismail**. E em especial ao CSB - **Durval Tavares, Gabriel Fontes e Felipe Moraes**, com vocês quase tudo fica mais leve.

Gostaria de agradecer a corrente do bem a qual fez com que esse trabalho fosse realizado. Muito obrigado Prof. Dr. **Edilson Divino de Araujo** por toda a disponibilidade de nos ajudar e por ter me apresentado seu mestrando **Darlan da Silva**, o qual me ensinou o caminho da morfometria geométrica e indicou a disciplina de morfometria geométrica da UESB com a Profa. Dra. **Lorena Andrade Nunes**, uma pessoa encantadora que disse uma vez “ Aqui é como corda de caranguejo, ninguém solta ninguém” e não me soltou mesmo, professora muito obrigado por todos os ensinamentos e toda calma e paciência que a senhora teve comigo. Vocês foram peças fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho. Finalizando a corrente do bem, não poderia esquecer do Prof. Dr. **Tiago Mauricio Francoy**, por ser sempre solícito com nossa equipe e por

ter disponibilizado todo o seu banco de dados de asas para nossa pesquisa. E por fim agradecer do fundo do coração a todos os apicultores que contribuíram para nossa pesquisa.

*“Tu Serás Feliz, Bentinho!”.*

*Dom Casmurro – Machado de Assi*

## RESUMO

A apicultura no Brasil, com exceção da Ilha de Fernando de Noronha - PE é desenvolvida quase na maioria com abelhas africanizadas, um poli híbrido resultante do cruzamento entre subespécies de abelhas europeias com abelhas africanas. O semi-arido brasileiro possui uma vasta diversidade floral e um microclima único e condições privilegiadas para o desenvolvimento da apicultura, resultado da sua diversidade de ecossistemas, sendo que a maior parte é predominante o bioma caatinga. Sendo, a atividade apícola, uma das principais atividades de ocupação e geração de renda aos seus habitantes neste bioma e vem contribuindo para o desenvolvimento econômico das comunidades locais com a comercialização de mel e outros produtos. A apicultura desenvolvida com diferentes ecótipos pode apresentar algumas particularidades, uma vez que as abelhas que compõem essas populações possuem características específicas que as tornam mais adaptadas ao ambiente em que vivem. Informações sobre ancestralidade são importantes em programas de criação de abelhas, pois podem ajudar os apicultores a identificar e selecionar as melhores características para seus apiários. As populações de abelhas podem ser altamente diversas, com variações em características como produção de mel, resistência a doenças e temperamento. Compreender a ancestralidade de cada abelha pode ajudar a identificar aquelas com características desejáveis e a procriar seletivamente para essas características. É importante também, para entender sua distribuição geográfica, bem como suas respostas às mudanças ambientais, permitindo assim a implementação de medidas de conservação e manejo adequado no semiárido brasileiro. Técnicas como a morfometria geométrica das asas, têm sido amplamente utilizando no estudo de populações e, principalmente em abelhas africanizadas. Ela tem permitido distinguir entre diferentes espécies de abelhas, muitas das quais podem ser difíceis de identificar apenas por características visuais. Isso é especialmente importante para as abelhas africanizadas, que são frequentemente confundidas com outras espécies de abelhas nativas, também as técnicas morfométricas podem ser usadas para monitorar a saúde das abelhas africanizadas e detectar possíveis efeitos ambientais ou de doenças. Por exemplo, mudanças na morfologia das asas ou do corpo podem indicar exposição a pesticidas ou outros poluentes. A morfometria pode ser útil para a conservação e manejo das abelhas africanizadas e de seus ecossistemas e biomas. A identificação precisa de espécies e populações pode ajudar a planejar medidas de conservação e manejo mais eficazes, enquanto a monitoração da variação e da saúde pode ajudar a identificar as áreas em que essas medidas são mais necessárias. Além de ser uma técnica de baixo custo, a morfometria geométrica apresenta alta precisão na identificação das subespécies e no posicionamento racial das abelhas africanizadas. Diante disso, o objetivo geral desse trabalho foi determinar o posicionamento racial de abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.) do semiárido brasileiro. O estudo foi dividido em dois experimentos, resultando em dois capítulos. Em ambos os experimentos, foram utilizadas operárias de abelhas africanizadas provenientes de região semiárida. No experimento I, objetivou-se avaliar a existência de ecótipos localmente adaptados de populações de abelhas africanizadas em diferentes localidades do semiárido. Para tanto, as amostras foram coletadas de 20 municípios em 8 estados, totalizando 1970 amostras analisadas. As amostras foram analisadas utilizando a morfometria geométrica de asas. Destas asas foram analisados os 19 marcos anatômicos, aplicando a validação cruzada, a análise de variáveis

canônicas e distancias de Mahalanobis. Foram observadas diferenças estatísticas entre as populações de abelhas africanizadas no semiárido brasileiro. Os ecótipos mais similares foram Piauí e Minas Gerais, enquanto os mais distantes foram Sergipe e Ceará. O ecótipo de Sergipe apresentou uma menor distância genética da população africana, consequentemente uma maior similaridade com as abelhas africanas puras (*Apis mellifera scutellata*), diferindo dos demais estados. Já no experimento II, cujo objetivo foi verificar a existência de variações morfológicas nas asas de abelhas africanizadas de linhagens higiênicas e de abelhas africanizadas de linhagens não higiênicas. Para isto, foram utilizados apenas as asas de abelhas africanizadas da região de Mossoró oriundos do Setor de Apicultura da UFERSA. Foi aplicado o teste de comportamento higiênico em 33 colônias de abelhas africanizadas. Para isso, foi utilizando a validação cruzada, a Análise das Variáveis Canônicas e a Distância de Procrustes, buscando identificar padrões morfométricos e raciais que tivessem influência no comportamento higiênico. Houve diferenças estatísticas entre os grupos higiênico e não higiênico e as subespécies avaliadas ( $p < 0.01$ ). Colônias com taxa de comportamento higiênico de 100% foram as que possuíram maior proximidade com as abelhas africanas, alemães e italianas. Podemos afirmar que apesar de serem colônias de abelhas africanizadas situadas no semiárido brasileiro, cada população possui suas particularidades e necessitam proteção.

**Palavras-chave:** Morfometria Geométrica. Padrões de Asa. Ecótipos. Semiárido. Comportamento higiênico

## ABSTRACT

Beekeeping in Brazil, with the exception of the island of Fernando de Noronha - PE, is developed almost mostly with Africanized bees, a polyhybrid resulting from the crossing between subspecies of European bees with African bees. The Brazilian semi-arid region has a vast floral diversity and a unique microclimate and privileged conditions for the development of beekeeping, as a result of its diversity of ecosystems, most of which are predominantly in the caatinga biome. Being, the beekeeping activity, one of the main activities of occupation and generation of income to its inhabitants in this biome and it has been contributing for the economic development of the local communities with the commercialization of honey and other products. Beekeeping developed with different ecotypes may present some particularities, since the bees that make up these populations have specific characteristics that make them more adapted to the environment in which they live. Ancestry information is important in beekeeping programs as it can help beekeepers identify and select the best traits for their apiaries. Bee populations can be highly diverse, with variations in traits such as honey production, disease resistance and temperament. Understanding each bee's ancestry can help identify those with desirable traits and selectively breed for those traits. It is also important to understand its geographic distribution, as well as its responses to environmental changes, thus allowing the implementation of conservation measures and adequate management in the Brazilian semi-arid region. Morphometric techniques, such as geometric morphometrics of the wings, have been widely used in the study of populations and, mainly in Africanized bees, allow distinguishing between different species of bees, many of which can be difficult to identify only by visual characteristics. This is especially important for Africanized bees, which are often confused with other native bee species, also morphometric techniques can be used to monitor the health of Africanized bees and detect possible negative effects of the environment or disease. For example, changes in wing or body morphology may indicate exposure to pesticides or other pollutants. Morphometry can be useful for the conservation and management of Africanized bees and their ecosystems and biomes. Accurately identifying species and populations can help design more effective conservation and management measures, while monitoring variation and health can help identify areas where such measures are most needed. In addition to being a low-cost technique, geometric morphometrics is highly accurate in identifying subspecies and racial positioning of Africanized bees. Therefore, the general objective of this work was to determine the racial positioning of Africanized bees (*Apis mellifera* L.) in the Brazilian semi-arid region. The study was divided into two experiments, resulting in two chapters. In both experiments, Africanized bee workers from the semi-arid region were used. In experiment I, the objective was to evaluate the existence of locally adapted ecotypes of Africanized bee populations in different locations in the semiarid region. For this purpose, samples were collected from 20 municipalities in 7 states, totaling 1970 analyzed samples. Samples were analyzed using wing geometric morphometrics. Of these wings, the 19 landmarks were analyzed, applying the analysis of canonical variables and Mahalanobis distances. Statistical differences were observed between Africanized bee populations in the Brazilian semiarid region. The most similar ecotypes were Piauí and Minas Gerais, while the most distant were Sergipe and Ceará. The Sergipe ecotype presented a smaller genetic distance from the African population, consequently a greater similarity with the

pure African bees (*Apis mellifera scutellata*), differing from the other states. In experiment II, whose objective was to verify the existence of morphological variations in the wings of Africanized bees from hygienic lineages and Africanized bees from non-hygienic lineages. For this, only the wings of Africanized bees from the region of Mossoró from the Beekeeping Sector of UFERSA were used. The hygienic behavior test was applied to 33 colonies of Africanized bees. For this, the Analysis of Canonical Variables and the Procrustes Distance were used, seeking to identify morphometric and racial patterns that had an influence on hygienic behavior. There were statistical differences between hygienic and non-hygienic groups and evaluated subspecies ( $p < 0.01$ ). Colonies with a hygienic behavior rate of 100% were the ones that were closest to African, German and Italian bees. We can say that despite being colonies of Africanized bees located in the Brazilian semi-arid region, each population has its particularities and needs protection.

**Keywords:** Geometric Morphometrics. Wing Patterns. Ecotypes. Semi-arid. hygienic behavior.

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                                        |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1</b> – Tipo1, tipo 2 e tipo 3 de marcos anatômicos correspondentes à definição dada por Bookstein (1991) em uma imagem de asa da espécie <i>Melipona flavolineata</i> ..... | 37 |
| <b>Figura 2</b> – Localização geográfica das subespécies das abelhas <i>Apis mellifera</i> .....                                                                                       | 40 |

### CAPÍTULO I – ECÓTIPOS E POSICIONAMENTO RACIAL DAS ABELHAS AFRICANIZADAS *APIS MELLIFERA* L. DO SEMIÁRIDO BRASILEIRO.

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1.</b> Localização geográfica das subespécies das abelhas <i>Apis mellifera</i> .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 61 |
| <b>Figura 2.</b> Asa mesotorácica direita de <i>Apis mellifera</i> com os 19 marcos anatômicos plotados nas intersecções das asas da abelha africanizada <i>Apis mellifera</i> L.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 67 |
| <b>Figura 3.</b> Asa mesotorácica direita de <i>Apis mellifera</i> mostrando uma nervura regular com células definidas por veias longitudinais e transversais, as últimas são indicadas por duas letras indicando quais veias longitudinais elas conectam (veia anterior primeiro, depois posterior) e abreviadas por letras minúsculas. 1: célula radial; 2: célula marginal; 3: 1ª célula submarginal; 4: 2ª célula submarginal; 5: 3ª célula submarginal; 6: 1ª célula medial; 7: 2ª célula medial; 8: 1ª célula cubital; 9: 2ª célula cubital. A: veia anal; C: veia costal; Cu: veia cubital; M: veia medial (basal); D: veia radial; Rs: setor radial; Sc: veia subcostal. A célula costal entre as veias C e Sc+M é tão reduzida que parece praticamente ausente..... | 67 |
| <b>Figura 4.</b> Gráfico de dispersão das populações de abelhas africanizadas <i>Apis mellifera</i> L. situadas no Semiárido Brasileiro em relação ao eixo cartesiano estabelecido pelas variáveis canônicas (CV 1, CV 2) obtido a partir da morfometria geométrica das asas. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 69 |

**Figura 5.** Variação média da forma das asas de diferentes populações de abelhas africanizadas *Apis mellifera* L. do Semiárido brasileiro. O contorno em azul claro significa a forma média da asa anterior direita, a forma padrão, e o contorno azul escuro refere-se a forma de asa anterior direita da abelha no respectivo a deformação referente a sua variável canônica, tanto no eixo positivo como no negativo.....70

**Figura 6.** Dendrograma gerado pelo UPGMA ilustrando as médias de distâncias morfométricas entre as diferentes populações de abelhas africanizadas *Apis mellifera* L. do Semiárido brasileiro. AL – Alagoas, BA – Bahia, CE – Ceará, MG – Minas Gerias, PA – Paraíba, PI – Piauí, RN – Rio Grande do Norte, SE – Sergipe..... 73

**Figura 7.** Gráfico de dispersão dos ecótipos de abelhas africanizadas *Apis mellifera* L. situados no Semiárido Brasileiro e subespécies de abelhas melíferas (*Apis mellifera*) em relação aos eixos cartesianos estabelecidos pelas variáveis canônicas 1 e 2 obtidos a partir da morfometria das asas. ....75

**Figura 8.** Dendrograma gerado pelo UPGMA ilustrando as médias de distâncias morfométricas entre as diferentes ecótipos de abelhas africanizadas do semiárido brasileiro e subespécies de abelhas melíferas (*Apis mellifera*). AL – Alagoas, BA – Bahia, CE – Ceará, MG – Minas Gerias, PA – Paraíba, PI – Piauí, RN – Rio Grande do Norte, SE – Sergipe, LI – *Apis mellifera lingustica*, ME – *Apis mellifera mellifera*, CA – *Apis mellifera carnica*, SC – *Apis mellifera scutellata*.....79

## CAPÍTULO II – COMPORTAMENTO HIGIÊNICO E SUAS DIVERGÊNCIAS MORFOMÉTRICAS.

**Figura 1.** Quadro teste de uma colônia de abelhas africanizadas que foi submetido ao teste do comportamento higiênico pelo método de perfuração de crias. Área (A) representa o controle e (B) o tratamento pós 24 horas..... 97

**Figura 2.** Asa com os 19 marcos anatômicos plotados nas intersecções das asas da abelha africanizada *Apis mellifera* L.....98

**Figura 3.** Asa mesotorácica direita de *Apis mellifera* mostrando uma nervura regular com células definidas por veias longitudinais e transversais, as últimas são indicadas por duas letras indicando quais veias longitudinais elas conectam (veia anterior primeiro, depois posterior) e abreviadas por letras minúsculas. 1: célula radial; 2: célula marginal; 3: 1ª célula submarginal; 4: 2ª célula submarginal; 5: 3ª célula submarginal; 6: 1ª célula medial; 7: 2ª célula medial; 8: 1ª célula cubital; 9: 2ª célula cubital. A: veia anal; C: veia costal; Cu: veia cubital; M: veia medial (basal); D: veia radial; Rs: setor radial; Sc: veia subcostal. A célula costal entre as veias C e Sc+M é tão reduzida que parece praticamente ausente. ....98

**Figura 4.** Gráfico de dispersão de colônias higiênicas e não higiênicas de abelhas africanizadas *Apis mellifera* L. e subespécies, carnica *Apis mellifera carnica*, italiana *Apis mellifera lingusta*, alemã *Apis mellifera mellifera* e a africana *Apis mellifera scutellata*, em relação aos eixos cartesianos estabelecidos pelas variáveis canônicas 1 e 2 obtidos a partir da morfometria das asas.....100

**Figura 5.** Variação média da forma das asas de abelhas *Apis mellifera* de diferentes subespécies e africanizadas de linhagens higiênicas e não higiênicas. O contorno em azul claro significa a forma média da asa anterior direita, a forma padrão, e o contorno azul escuro refere-se a forma de asa anterior direita da abelha no respectivo a deformação referente a sua variável canônica, tanto no eixo positivo como no negativo.....101

**Figura 6.** Dendrograma gerado pelo UPGMA ilustrando as médias de distâncias morfométricas entre as diferentes subespécies de abelhas melíferas (*Apis mellifera*) e linhagens higiênicas e não higiênicas de abelhas africanizadas do semiárido brasileiro.....105

**Figura 7.** Gráfico de dispersão dos grupos de colônias de abelhas africanizadas com diferentes taxas de comportamento higiênico em relação aos eixos cartesianos estabelecidos pelas variáveis canônicas 1 e 2 obtidos a partir da morfometria das asas. ....106

**Figura 8.** Variação média da forma das asas dos grupos de abelhas africanizadas do semiárido brasileiro (*Apis mellifera*) com diferentes taxas de comportamento higiênico. O contorno em azul claro significa a forma média da asa anterior direita, a forma padrão, e o contorno azul escuro refere-se a forma de asa anterior direita da abelha no respectivo a deformação referente a sua variável canônica, tanto no eixo positivo como no negativo.....107

**Figura 9:** Dendrograma gerado pelo UPGMA ilustrando as médias de distâncias morfométricas entre os grupos de abelhas africanizadas do semiárido brasileiro (*Apis mellifera*) com diferentes taxas de comportamento higiênico.....109

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                                                              |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabela 1</b> – Classificação das 25 subespécies de <i>Apis mellifera</i> em seus ramos evolutivos identificadas por Ruttner, (1988) e apresentada por Grassi (2009) ..... | 40 |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

### **CAPÍTULO I – ECÓTIPOS E POSICIONAMENTO RACIAL DAS ABELHAS AFRICANIZADAS *APIS MELLIFERA* L. DO SEMIÁRIDO BRASILEIRO.**

|                                                                                                                    |       |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| <b>Tabela 1.</b> Localizações, coordenadas e número de amostras de abelhas africanizadas utilizados no estudo..... | 65-66 |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|

|                                                                                                                                                       |       |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| <b>Tabela 2.</b> Classificação das amostras em porcentagem dentro de suas respectivas populações gerada a partir da análise de validação cruzada..... | 71-72 |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabela 3.</b> Diferenças estatísticas das distâncias quadradas de Mahalanobis (diagonal superior) e Distâncias quadradas de Mahalanobis (diagonal inferior) entre as populações de abelhas africanizadas <i>Apis mellifera</i> L. de diferentes regiões do Semiárido brasileiro obtidas a partir da análise das variáveis canônicas. *AL – Alagoas, BA – Bahia, CE – Ceará, MG – Minas Gérias, PA – Paraíba, PI – Piauí, RN – Rio Grande do Norte, SE – Sergipe..... | 72 |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

|                                                                                                                                                                                                                  |       |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| <b>Tabela 4.</b> Classificação das amostras em porcentagem dentro de seus respectivos ecótipos e subespécies de abelhas melíferas ( <i>Apis mellifera</i> ) gerada a partir da análise de validação cruzada..... | 75-76 |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |  |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|
| <b>Tabela 5.</b> Diferenças estatísticas das distâncias quadradas de Mahalanobis (diagonal superior) e Distâncias quadradas de Mahalanobis (diagonal inferior) entre os ecótipos de abelhas africanizadas <i>Apis mellifera</i> L. de diferentes regiões do Semiárido brasileiro e subespécies de abelhas melíferas ( <i>Apis mellifera</i> )., obtidas a partir da análise das variáveis canônicas. *AL – Alagoas, BA – Bahia, CE – Ceará, MG – Minas Gérias, PA – Paraíba, PI – Piauí, RN – Rio Grande do Norte, SE – |  |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|

|                                                                                                                                                                              |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Sergipe, LI – <i>Apis mellifera linguistica</i> , ME – <i>Apis mellifera mellifera</i> , CA – <i>Apis mellifera carnica</i> ,<br>SC – <i>Apis mellifera scutellata</i> ..... | 78 |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

## CAPÍTULO II – COMPORTAMENTO HIGIÊNICO E SUAS DIVERGÊNCIAS MORFOMÉTRICAS.

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Tabela 1.</b> Classificação das amostras em porcentagem dentro de suas respectivas subespécies e linhagens gerada a partir da análise de validação cruzada entre abelhas carnicas ( <i>Apis mellifera carnica</i> ) - CA, italianas ( <i>Apis mellifera linguistica</i> ) - LI, alemãs ( <i>Apis mellifera mellifera</i> ) - ME, africanas ( <i>Apis mellifera scutellata</i> ) e africanizadas ( <i>Apis mellifera</i> L.) higiênicas - H e não higiênicas - N.H..... | 102 |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Tabela 2.</b> Diferenças estatísticas das distâncias quadradas de Mahalanobis (diagonal inferior) e distância de Procrustes. (diagonal superior) entre abelhas carnicas ( <i>Apis mellifera carnica</i> ) - CA, italianas ( <i>Apis mellifera linguistica</i> ) - LI, alemãs ( <i>Apis mellifera mellifera</i> ) - ME, africanas ( <i>Apis mellifera scutellata</i> ) e africanizadas ( <i>Apis mellifera</i> L.) higiênicas - H e não higiênicas - N.H, obtidas a partir da análise das variáveis canônicas..... | 103 |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Tabela 3.</b> Distâncias quadradas de Mahalanobis (diagonal inferior) e Distância de Procrustes. (diagonal superior) entre abelhas carnicas ( <i>Apis mellifera carnica</i> ) - CA, italianas ( <i>Apis mellifera linguistica</i> ) - LI, alemãs ( <i>Apis mellifera mellifera</i> ) - ME, africanas ( <i>Apis mellifera scutellata</i> ) - SC e abelhas africanizadas ( <i>Apis mellifera</i> L.) higiênicas - H e Não Higienicas - N.H, obtidas a partir da análise das variáveis canônicas..... | 104 |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|

|                                                                                                                                                    |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Tabela 4.</b> Classificação das amostras em porcentagem dentro dos seus respectivos grupos gerada a partir da análise de validação cruzada..... | 108 |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

|        |                                                        |
|--------|--------------------------------------------------------|
| UFERSA | Universidade Federal Rural do Semi-Árido               |
| NCTA   | Núcleo de Capacitação Tecnológica em Apicultura        |
| CH     | Comportamento Higiênico                                |
| H      | Higiênica                                              |
| NH     | Não higiênica                                          |
| AL     | Alagoas                                                |
| BA     | Bahia                                                  |
| SE     | Sergipe                                                |
| PA     | Paraíba                                                |
| CE     | Ceará                                                  |
| PI     | Piauí                                                  |
| MG     | Minas Gerais                                           |
| RN     | Rio Grande do Norte                                    |
| UPGMA  | Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic Averages |
| CV     | Variável Canônica                                      |
| SC     | <i>Apis mellifera scutellata</i>                       |
| LI     | <i>Apis mellifera lingustica</i>                       |
| ME     | <i>Apis mellifera mellifera</i>                        |
| CA     | <i>Apis mellifera carnica</i>                          |
| UFERSA | Universidade Federal Rural do Semi-Árido               |
| NCTA   | Núcleo de Capacitação Tecnológica em Apicultura        |

## LISTA DE SIMBOLOS

|      |                        |
|------|------------------------|
| $>$  | Maior que              |
| $<$  | Menor que              |
| $\%$ | Porcentagem            |
| $=$  | Igual                  |
| $P$  | Nível de significância |

## SUMÁRIO

|           |                                                                                                                                                 |            |
|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>1.</b> | <b>INTRODUÇÃO.....</b>                                                                                                                          | <b>23</b>  |
| <b>2.</b> | <b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>                                                                                                               | <b>28</b>  |
| 2.1.      | O semiárido brasileiro.....                                                                                                                     | 28         |
| 2.2.      | Africanização das abelhas.....                                                                                                                  | 30         |
| 2.3       | Comportamento Higiénico.....                                                                                                                    | 32         |
| 2.4       | Estudo de populações.....                                                                                                                       | 34         |
| 2.5       | Morfometria Geométrica de Asa.....                                                                                                              | 36         |
| 2.5.1     | Morfometria geométrica de asa nas abelhas africanizadas ( <i>Apis mellifera</i> L.) do Brasil.....                                              | 38         |
| <b>3.</b> | <b>OBJETIVOS.....</b>                                                                                                                           | <b>45</b>  |
| 3.1.      | Objetivo geral.....                                                                                                                             | 45         |
| 3.2.      | Objetivos específicos.....                                                                                                                      | 45         |
| <b>4.</b> | <b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>                                                                                                          | <b>46</b>  |
|           | <b>CAPÍTULO I – ECOTYPES AND RACIAL POSITIONING OF AFRICANIZED HONEY BEES <i>APIS MELLIFERA</i> L. FROM THE BRAZILIAN SEMI-ARID REGION.....</b> | <b>59</b>  |
|           | <b>CAPÍTULO II – HYGIENIC BEHAVIOR AND ITS MORPHOMETRIC DIVERGENCES.....</b>                                                                    | <b>92</b>  |
| <b>5.</b> | <b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>                                                                                                                | <b>120</b> |

## 1. INTRODUÇÃO

O semiárido brasileiro representa 18,2% do território nacional, o que equivale a 1.128.697 km<sup>2</sup>, sendo sua maior parte na região Nordeste. Conhecido por suas temperaturas predominantemente altas, precipitações escassas e concentradas em períodos curtos e déficit hídrico o Semiárido muitas vezes tem o seu lado positivo esquecido, como o seu potencial apícola (ARAÚJO, 2011; SÁ 2018; OLIVEIRA, 2015). Possuindo uma vasta diversidade floral e um microclima único, essa região possui condições privilegiadas para o desenvolvimento da apicultura, resultado da sua diversidade de ecossistemas, sendo que a maior parte é predominante o bioma caatinga (BENDINI *et al.*, 2021).

O bioma Caatinga possui papel importante na produção de mel do nordeste, sua vegetação, exclusivamente brasileira, possui uma variada flora que abriga diversas espécies de plantas com potencial apícola, indo de plantas arbustivas a arbóreas, gerando fontes de alimento para as abelhas nos períodos de escassez (SILVA *et al.*, 2018; BENDINI *et al.*, 2021). Sendo assim, a apicultura é uma das principais atividades de ocupação e geração de renda aos seus habitantes deste bioma, além disso, a atividade contribui para o desenvolvimento econômico das comunidades locais, já que o mel e outros produtos produzidos é comercializado e gera renda para os apicultores (VIDAL, 2013). Mesmo com todas as condições adversas a região Nordeste é o segundo maior produtor de mel do Brasil, sendo o estado do Piauí o terceiro maior produtor nacional e o maior do nordeste, produzindo 6.875.615 quilogramas por ano, ficando atrás apenas do Paraná e Rio Grande do Sul, todos utilizando as abelhas africanizadas (IBGE, 2021).

A apicultura nordestina possui um diferencial de mercado, sua abundância floral, microclima favorável e vastas áreas não exploradas, possibilita um alto potencial produtivo de mel orgânico (PAULA NETO E ALMEIDA NETO, 2006; LIRA, 2008). O mel nordestino é reconhecido por suas baixas taxas de contaminação por pesticidas e antibióticos (VIDAL, 2018). Mesmo com todo o potencial, vale destacar que parte do sucesso da apicultura nordestina está associada ao tipo de abelhas utilizadas na atividade, que são as abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.).

A abelha africanizada é um poli híbrido que teve origem no Brasil em 1956, com a introdução de abelhas africanas (*Apis mellifera scutellata*), as quais acidentalmente foram soltas no ambiente e cruzaram-se livremente com as abelhas italianas (*Apis*

*mellifera linguistica*), alemãs (*Apis mellifera mellifera*) e carnicas (*Apis mellifera carnica*) que já eram presentes no Brasil, oriundas de introdução por parte dos imigrantes (KENT, 1988; GUZMÁN-NOVOA, *et al.* 2011). Esses cruzamentos resultaram em um polihíbrido com dominância dos caracteres africanos, e possuindo como principais características a precocidade de nascimento das rainhas, maior taxa de crescimento e enxameagem, garantindo sua adaptação aos mais diversos ambientes e justificando o sucesso da sua dispersão (WINSTON, 1992; SCHNEIDER *et al.*, 2004; CALFEE *et al.*, 2020), a qual provavelmente gerou diversos ecótipos, que são indivíduos da mesma subespécie que diferem unicamente em alguns caracteres morfológicos e que se encontram adaptadas às condições locais (HAIG *et al.*, 2006, NUNES *et al.*, 2012). A apicultura com ecótipos pode apresentar algumas particularidades, já que as abelhas que compõem essas populações possuem características específicas que as tornam mais adaptadas ao ambiente em que vivem (GUZMÁN-NOVOA & URIBE-RUBIO, 2004; MORETTI *et al.*, 2018).

Com o crescimento da apicultura nordestina e conhecendo a origem das abelhas africanizadas, podemos observar que existem diferentes comportamentos e características entre colônias de abelhas africanizadas alocadas no mesmo ambiente sob as mesmas condições (SILVA *et al.*, 2019; VIDAL, 2020). Sendo assim, necessário o entendimento das populações utilizadas, buscando conhecer a fundo suas origens, identificar potenciais fraquezas, benefícios e até mesmo padrões para futuras seleções (KADRI, 2016), afinal o primeiro passo da conservação é o conhecimento do animal estudado.

Os estudos de populações atualmente estão ligados a técnicas genômicas, geralmente sequenciando, mapeando e analisando os genomas das espécies de interesse comercial (COBEY & SCHLEY, 2002; LECLERCQ *et al.*, 2018; BOARDMAN, *et al.*, 2019). Porém, o que pouco se fala são os custos elevados destes tipos de pesquisa pois, muitas vezes, essas análises precisam ser realizadas fora do Brasil tendo todo o custeio em moeda estrangeira, elevando ainda mais os preços, tendo como exemplo a análise de SNP (Single Nucleotide Polymorphisms) a qual para realizar em abelhas africanizadas teria que enviar as amostras para o Canadá (CHAMPMAN, *et al.*, 2015; KADRI, 2016). Buscando solução para o estudo de populações, a morfometria geométrica de asas surge como uma alternativa simples, rápida e de baixo custo, com resultados chegando a taxas de 99,5% (FRANCOY, 2008) de acerto na identificação de abelhas africanizadas,

alcançando resultados tão confiáveis quanto os encontrados com técnicas moleculares (HENRIQUES *et al.*, 2020).

Nos últimos anos observa-se uma maior introdução de abelhas europeias por apicultores no Nordeste de Brasil na tentativa de diminuir a agressividade das abelhas africanizadas e melhorar a relação entre apicultores e a população em geral. No entanto, essa é uma ação que deve ser tomada com cautela e de forma responsável e observa-se que tem sido feito de forma clandestina e sem controle, o que pode ser uma ameaça a nossa apicultura regional, principalmente com problemas de sanidade, como já vem ocorrendo em outras partes do mundo (LA RÚA *et al.*, 2002; HARPUR *et al.*, 2012; PAREJO *et al.*, 2017) e no Brasil, como por exemplo a ocorrência do Besouro *Aethina tumida*, o qual a primeira notificação foi em 2015 no Estado de São Paulo, desde então, os Estados do Rio de Janeiro em 2016 e do Mato Grosso do Sul, Paraná em 2019 e mais recente (2022) no Espírito Santo (NOTA TÉCNICA GEDSIA Nº 003/2022) também notificaram a presença do agente nos apiários (NT Nº 3/2016/CIEP/DSA/SDA/GM/MAPA, NT-CADESA 02-1019), que acredita-se que essa praga tenha chegado ao Brasil por meio de importações de abelhas ou materiais apícolas contaminados, como caixas de colmeias e favos de mel. De acordo com a OEA e Programa Estadual de Sanidade das Abelhas (PESAb) não se pode introduzir abelhas rainhas e países que tenham doenças que não tem no Brasil.

A introdução de novas raças de abelhas sem os devidos cuidados pode trazer riscos, como a perda de características genéticas adaptativas das populações locais, a introdução de doenças e pragas que podem afetar outras espécies de abelhas e a alteração do equilíbrio ecológico local (LA RÚA *et al.*, 2002; CARVALHO, 2022). Algumas raças de abelhas são ameaçadas de extinção e sua conservação é importante para manter a biodiversidade e a saúde dos ecossistemas (REQUIER *et al.*, 2019). A presença de diferentes raças de abelhas no Brasil pode ajudar a preservar essas espécies e garantir sua sobrevivência no futuro.

Por isso, é importante que a introdução de novas raças de abelhas seja feita de forma responsável e baseada em estudos científicos e análises de riscos. É necessário avaliar cuidadosamente as características das novas raças de abelhas e sua capacidade de se adaptar ao clima e ao ambiente local, bem como os possíveis impactos da introdução sobre as populações de abelhas nativas e o meio ambiente em geral (CARMO *et al.*, 2004; WINFREE, 2010; RUSSO *et al.*, 2021). Além disso, é importante que a introdução de

novas raças de abelhas seja acompanhada de medidas de manejo e controle adequadas para garantir a segurança das pessoas e dos animais que convivem com as abelhas e a preservação do meio ambiente (ZALUSKI *et al.*, 2014; SANTOS & MENDES, 2016). A abelha africana quando comparada as abelhas europeias, possuem um comportamento defensivo mais eficaz (O'MALLEY *et al.*, 2009), esse comportamento foi herdado por diversos ecótipos de abelhas africanizadas, possuindo um comportamento defensivo tão eficiente como a das suas abelhas africanas originárias (SCHNEIDER *et al.*, 2004). O comportamento defensivo é um dos principais fatores que fazem com que os apicultores brasileiros introduzam raças europeias, buscando gerar raças mais doces de se manejar. Além da defensividade, muitas vezes a introdução de raças europeias busca o erroneamente o aumento de produtividade (GUZMÁN-NOVOA & URIBE-RUBIO, 2004) e por ser feito de forma irregular, deixa de lado os fatores como a sanidade.

Entender as abelhas africanizadas buscando informações de ancestralidade contribui para que os apicultores identifiquem e selecionem melhor as características para seus apiários. As populações de abelhas podem ser altamente diversas, com variações em características como produção de mel, resistência a doenças e temperamento (GUZMÁN-NOVOA & URIBE-RUBIO, 2004; KADRI, 2016; MORETTI *et al.*, 2018). Compreender a ancestralidade de cada abelha pode ajudar a identificar aquelas com características desejáveis e a procriar seletivamente para essas características.

A ancestralidade pode ser determinada pela análise da composição genética de abelhas, o que pode ser feito usando técnicas moleculares, como análise de DNA (CHAMPMAN *et al.*, 2015; BOARDMAN *et al.*, 2019). Ao estudar a composição genética de abelhas, será possível que os apicultores possam identificar aquelas que possuem características desejáveis, como alta produção de mel ou resistência a doenças, e usá-las para reprodução (HARPUR *et al.*, 2014; KADRI, 2016; HARPUR *et al.*, 2020). Isso pode ajudar a melhorar a saúde geral e a produtividade de uma população de abelhas e pode levar a melhores produções de mel e colônias mais fortes e resistentes. Além disso, o conhecimento da ancestralidade é importante para manter a diversidade genética nas populações de abelhas (PAREJO *et al.*, 2017). Ao selecionar abelhas para reprodução com base em sua ancestralidade e diversidade genética, os apicultores podem ajudar a manter populações saudáveis e diversificadas de abelhas.

As abelhas melíferas apresentam uma variação geográfica considerável, resultando em adaptação a fatores regionais variados de clima e vegetação, mas também

a pragas e patógenos predominantes. No entanto, esse patrimônio natural está cada vez mais sujeito à difusão dos esforços da apicultura humana em uma velocidade preocupante. A demanda por alto desempenho econômico das colônias de abelhas, aliada a características comportamentais desejáveis, tem levado a mudanças consideráveis causadas pela criação sistemática de abelhas. Assim, o padrão de distribuição geográfica original está sendo dissolvido em toda a União Europeia por importações em massa e uma prática crescente de comércio de rainhas e apicultura migratória (MEIXNER *et al.*, 2013).

Para entender melhor as populações de abelhas africanizadas no Semiárido do Brasil, é importante buscar respostas sobre sua origem, comportamento e resistência a doenças, produtividade e outras características. Algumas perguntas fundamentais que incluímos nesta tese como: As características estão associadas aos diferentes ecótipos? Existe um padrão racial específico para as abelhas africanizadas no Semiárido brasileiro? É possível identificar linhagens higiênicas e não higiênicas por meio de padrões morfológicos das asas? Essas perguntas serão respondidas com base em evidências científicas neste estudo, que busca analisar a variação das populações de abelhas africanizadas na região semiárida, utilizando morfometria geométrica das asas.

A presente tese teve como objetivo principal determinar o posicionamento racial de abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.) do semiárido brasileiro, e como objetivos específicos identificar a existência de ecótipos nas diferentes localidades do semiárido e observar a possível existência de variações morfológicas nas asas de abelhas africanizadas de linhagens higiênicas e de abelhas africanizadas de linhagens não higiênicas. Baseado nisso nossas hipóteses são:

- Devido as condições climáticas do semiárido brasileiro, as abelhas africanizadas nele situadas possuem maior proximidade com as abelhas africanas (*Apis mellifera scutellata*).
- Com as dimensões geográficas, existe a formação ecótipos de abelhas africanizadas dentro da região semiárido brasileiro.
- Com a introdução das abelhas italianas (*Apis mellifera lingustica*) no Rio Grande do Norte, as populações locais já podem ter sido afetadas.
- As colônias de abelhas africanizadas com maior taxa de comportamento higiênico são as mais próximas das abelhas africanas (*Apis mellifera scutellata*).

- Colônias de abelhas africanizadas com maior proximidade as abelhas carnicas (*Apis mellifera carnica*) são as que possuem menor taxa de comportamento higiênico.

Para concluir nossas hipóteses dividimos o presente trabalho em dois capítulos, utilizando como base a Revisão de literatura, buscando aprofundamento no tema de estudo. O Primeiro capítulo foi intitulado “Ecótipos e posicionamento racial das abelhas africanizadas *Apis mellifera* L. do semiárido brasileiro.” e teve como objetivo identificar se as populações de abelhas africanizadas do Semiárido brasileiro diferem entre si, e qual seria o posicionamento racial destas populações. Por fim, o segundo capítulo foi “Comportamento higiênico e suas divergências morfométricas”, o qual buscou identificar padrões morfológicos nas asas de abelhas africanizadas que estariam ligados ao seu comportamento higiênico. Além disso, investigou-se também a influência da origem racial destas abelhas no seu comportamento higiênico.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1. O semiárido brasileiro**

Um terço da cobertura terrestre (61 milhões km<sup>2</sup>) é representado por zonas áridas e semiáridas, a Oceania, África e a América do Sul possuem destaque em quantidade de áreas áridas (SÁ, 2018; REDWOOD, 2012). A América do Sul possui duas regiões semiáridas de destaque, a Região Guajira, na Venezuela e Colômbia; Argentina, Chile, Equador; e o nordeste seco do Brasil (AB’SABER, 1999). No presente trabalho, iremos tratar do nordeste do Brasil.

O semiárido brasileiro ocupa 1.128.697 km<sup>2</sup> do território nacional, cerca de 18,2%, englobando 1.262 municípios e abrigando 27.870.241 habitantes, sendo a maior parte situada no Nordeste e se estendendo pela parte setentrional de Minas Gerais (SUDENE, 2017; SÁ, 2018). Os dados acima quando comparados com o censo demográfico do IBGE (2011), demonstra o crescimento da região, onde antes possuía 22,5 milhões, sendo 14 milhões na área urbana e 8,5 milhões no espaço rural, tendo assim um crescimento de mais de 5 milhões de habitantes em 7 anos.

O termo semiárido envolve uma referência climática, tendo como principal característica o índice de pluviosidade baixa. Seguindo a classificação climática de Köppen-Geiger, o semiárido brasileiro é qualificado como um clima BSh (clima semiárido quente), sendo assim caracterizado por temperaturas predominantemente altas, precipitações escassas e concentradas em curtos períodos de tempo e déficit hídrico (ARAUJO, 2011; SÁ 2018; OLIVEIRA, 2015).

Levando em consideração a baixa altitude em quase toda a região nordeste, as temperaturas médias anuais são geralmente acima de 24°C, variando entre 23 e 27 °C, podendo a vir a ultrapassar em algumas regiões. Essa pouca variação da amplitude térmica é característica do semiárido, diferindo assim das outras regiões intertropicais. Essas regiões possuem forte insolação e um solo rochoso, arenoso e raso que em resposta ao clima, é bastante propenso à desertificação (ARAUJO, 2011; NIMER, 1979; TEXEIRA, 2016).

Segundo Sá (2018) a concentração de chuvas fica entre novembro e abril, sendo que essa distribuição pode ser irregular, resultando assim as secas constantes. As precipitações médias anuais do semiárido brasileiro variam de 280 a 800 mm, sendo que em boa parte da região a precipitação média não passa dos 800 mm, geralmente as regiões que possuem serras ou brejos apresenta precipitações médias entre 400 e 600 mm (ARAUJO, 2011). Apesar do curto período de chuvosos, é comum presença de enxurradas com trovoadas, chegando a um único período de chuva representar ou até ultrapassar a média anual esperada (NIMER, 1979).

Os períodos chuvosos estão diretamente ligados aos fluxos das massas de ar durante o ano, do relevo, da exposição aos ventos e de outros fatores. O conjunto destes fatores é o responsável pela pontualidade e variação dos períodos chuvosos, onde, por exemplo, num mês pode chover 400 mm e no resto do ano chover apenas 120 mm. Porém vale observar que existe um padrão que torna possível observar o início é o fim dos períodos chuvoso, meses que antecedem e precedem os chuvosos apresentam uma baixa precipitação, geralmente entre 30 e 40 mm (ARAUJO 2011).

Esse cenário de escassez faz com que a vegetação do semiárido também seja distinta. Esse déficit hídrico fez nos seus milhares de anos que toda a vegetação se adaptasse as variações das condições ambientais sobrevivendo durante o período de escassez, permanecendo em período de latência até as épocas com presença de chuvas,

essa vegetação é toda xenófila e chamada de Caatinga (ARAUJO, 2011; RODAL, *et al.* 2008). Essa dependência hídrica termina gerando um déficit hídrico na região devido à seca dos rios em longos períodos de estiagem (MONTENEGRO & RAGAB, 2012), forçando assim a população a procurar fontes alternativas como açudes artificiais e os reservatórios naturais (SÁ, 2018).

O Nordeste brasileiro apresenta um grande potencial para a produção de mel orgânico com baixos índices de contaminação por pesticidas e antibióticos, características que o diferenciam no mercado. Isso se deve à sua diversidade floral, ao microclima e às extensões não exploradas (PAULA NETO & ALMEIDA NETO, 2006). Um exemplo bem-sucedido da apicultura na região é o estado do Ceará, onde a região semiárida oferece excelentes condições para a produção de mel, com predominância de cajueiros e algarobeiras, ambas plantas melíferas que florescem no período de seca da região. Além disso, o estado tem a vantagem de possuir áreas livres de agrotóxicos em suas lavouras (KHAN *et al.*, 2009).

## **2.2. Africanização das abelhas**

Com a necessidade de aumento da produção nacional de mel na década de 50, a iniciativa pública por meio do governo e universidades e privada por meio de apicultores se unem em busca da hibridização das espécies europeias já existentes no Brasil com espécies africanas visando um aumento de produtividade e um menor comportamento defensivo. O responsável por esse programa foi o Dr. Warwick Estevam Keer, biólogo, geneticista e chefe do Departamento de Biologia na Unesp de Rio Claro em 1955, vindo a assumir a chefia do Departamento de Genética da Faculdade de Medicina da USP – Ribeirão Preto em 1965 (AFONSO, 2012; COELHO, 2005; GONÇALVES, 1998).

A pedido do governo, em 1956 Dr. Keer viaja para a África do Sul com a função de selecionar rainhas da espécie *Apis mellifera scutellata* com características de maior resistência e produtividade, possibilitando criar programas de melhoramento associando as abelhas africanas com as europeias já presentes no Brasil. A viagem à África resultou na seleção de 133 rainhas, das quais, apenas 47 chegaram vivas ao Brasil, sendo 46 da África e 1 da Tanzânia. Após o período de quarentena, as rainhas com destaque produtivo foram alocadas na cidade Rio Claro – SP com o intuito da hibridização com a população

européia (AFONSO, 2012; GONÇALVES, 1974; GONÇALVES, 1992; KERR, 1967). Durante o período da quarentena, 26 rainhas fugiram por erros de manejo, reproduzindo-se assim com as colônias na natureza (COELHO, 2005), o cruzamento da abelha africana com as abelhas europeias deu origem ao polihíbrido conhecido como abelha africanizada (GONÇALVES, 1998; FAQUINELLO, 2007).

O processo de africanização das abelhas pode ser considerada uma das invasões biológicas mais bem-sucedidas. Essas abelhas são consideradas africanizadas devido aos caracteres africanos predominarem sobre os europeus (GONÇALVES, 1998). Muitos são os fatores que justificam a dominância dos caracteres africanos, os principais são: o *fitness* reduzido dos híbridos, a maior produção de zangões africanos, a precocidade de nascimento das rainhas africanas; maior taxa de crescimento e enxameagem apresentadas pelas africanas e dominância de alelos africanos (AFONSO, 2012; SCHNEIDER, *et al.* 2004). Sua dispersão chegou a uma taxa estimada de 480 km/ano, chegando do Brasil ao estado do Texas no Estados Unidos em menos de 50 anos (TAYLOR, 1985; SCHNEIDER, *et al.* 2004). É possível observar em Calfee *et al.* (2020) que essa capacidade de dispersão é herança genética das abelhas africanas, onde utilizando o mapeamento genético de populações situadas na Califórnia e Buenos Aires foi comprovado a prevalência de genes africanos em ambas as populações situadas em regiões opostas do continente.

Ainda que a capacidade dispersiva das abelhas africanizadas tenha chegado a quase todas as regiões das Américas, ainda se é possível achar locais com apenas abelhas de subespécies europeias, essas regiões são marcadas pela característica do clima frio, como é o caso do Chile que apesar de próximo do Brasil possui duas barreiras naturais contra as africanizadas, o frio e a Cordilheira dos Andes a qual serve de barreira geográfica (AFONSO, 2012). Atualmente já foi demonstrando que no mundo são raras as populações de uma única subespécie pura. Harpur *et al.* (2014), aponta a ilha de Kangooro no sul da Austrália como a única população de *Apis mellifera linguistica* pura, divergindo de Oldroyd *et al.* (1993), o qual através de dados morfológicos, alozímicos e de DNA mitocondrial apontava que a população de Kangaroo também era hibridizada, demonstrando assim a capacidade de hibridização natural das abelhas *Apis*.

Segundo os relatos de Keer a Coelho (2005) o grande alarde da africanização estava associado ao despreparo para o manejo das abelhas africanizadas, pegando de surpresa os apicultores brasileiros os quais mantinham seus apiários próximos a locais

com animais confinados, vindo assim a causar a morte desses animais por ataque das abelhas africanizadas. Com essa problemática em mãos, o grupo de pesquisa do Dr. Keer foi responsável por desenvolver vários trabalhos de pesquisas sobre a biologia, genética, fisiologia, e técnicas para o manejo das abelhas africanizadas como: apiários longe das moradias, colmeias em cavaletes individuais; fumigadores maiores, macacões, botas, máscaras e luvas, pois tudo que se tinha era com base no manejo das abelhas europeias.

Durante muito tempo, o lado positivo das abelhas africanizadas foi ignorado em meio à toda a mídia negativa sobre sua africanização, inclusive utilizando o termo 'abelhas assassinas'. Apesar de seu alto nível de defensividade, isso representa uma segurança a mais contra o roubo das colônias para o apicultor. Mais do que isso, elas têm resistência maior às pragas apícolas, como o ácaro *Varroa destructor*, que tem afetado a cadeia apícola mundial e no Brasil não vem sendo um problema (CASTILHOS, *et al.*, 2023). Além disso, a defensividade pode ser controlada por meio de manejo, e, com a seleção de colônias menos agressivas e hibridização, o Brasil obteve um impacto econômico positivo na produção. Com estas adaptações de manejo associadas à diversidade floral do país, o Brasil foi capaz de se posicionar entre os dez primeiros maiores exportadores mundiais de mel, tendo exportado 112 milhões de dólares em 2022 (ABEMEL, 2022). Por seis vezes consecutivas, o mel do Brasil foi considerado o melhor mel do mundo na Apimondia, maior congresso de apicultura do mundo. Por isso, é importante repensar se a apicultura com abelhas africanizadas realmente é tão ruim. Seria melhor tentar introduzir novas raças ou selecionar características dos indivíduos localmente adaptados, melhorando assim sua produção? Como é o caso do comportamento higiênico, o qual se mostra bastante eficiente nas abelhas africanizadas.

### **2.3. Comportamento Higiênico**

Durante a sua evolução, as abelhas (*Apis mellifera*) aperfeiçoaram-se em mecanismos de imunidade social com base em comportamentos, reduzindo o risco de patologias em suas colônias (CREMER; ARMITAGE; SCHMID-HEMPEL, 2007). Entre estes aperfeiçoamentos, o comportamento higiênico possui destaque, o qual traduz a capacidade das operárias para identificar e remover crias doentes antes da doença alcançar o estágio infeccioso, danificadas ou com alguma má-formação, evitando a transmissão de esporos e influenciando diretamente na sanidade da colônia, evitando a transmissão de

esporos e influenciando diretamente na sanidade da colônia (GRAMACHO & GONÇALVES, 1994; GONÇALVES *et al.*, 2008; WILSON-RICH *et al.*, 2009).

Comportamento higiênico é uma característica genética hereditária das operárias (WILSON-RICH *et al.*, 2009) e foi observado pela primeira vez em 1930 por Park (1937) quando foram encontradas colônias de *A. mellifera* que possuíam certa resistência à cria pútrida americana, causada pela bactéria *Paenibacillus larvae*. Quase 30 anos depois, o comportamento higiênico teve pela primeira vez sua base genética analisada por Rothenbuhler *et al.* (1964a,b), como estudo pioneiro, foi proposto um modelo de dois loci para explicar hereditariedade, onde um locus (u) seria o responsável pela desorpeculação das células e o locus (r) o responsável pela remoção (JONES & ROTHENBUHLER, 1964; SPIVAK & GILLIAM, 1998) No decorrer do tempo Moritz (1988) apresentou um novo modelo, adicionando mais um locus, no passar dos anos Lapidge *et al.* (2002) utilizando de técnicas moleculares concluíram que são sete os genes responsáveis pelo controle do comportamento higiênico em abelhas. Em 2009, com base em resultados Gramacho e Gonçalves (2009) propõem uma nova hipótese para explicar o controle genético do comportamento higiênico em *Apis mellifera*, diferente de Rothenbuhler (1964a,b) que indicava dois pares de genes (u = uncapping/desoperculador e r = removedor), o novo modelo conta com três pares de genes recessivos (u1, u2 e r), sendo que para desopercular a célula, a abelha deve ter os genes u1 e u2 em homozigose, para perfurar a célula a abelha teria que ter apenas um gene u1 ou u2 em homozigose e para aberturada célula e remoção da cria morta as abelhas necessitam ter todos os três genes em homozigose. Apesar de ser determinado geneticamente, o comportamento nem sempre é expresso, dependendo assim de fatores relacionados a população e vigor da colônia.

Sabendo que comportamento higiênico é descrito como a detecção e remoção de crias não saudáveis ou mortas pelas operárias, de acordo com Gonçalves e Gramacho (1999), para uma colônia ser considerada higiênica, a mesma tem que remover 80 a 100% das crias mortas em 24 horas após o teste por perfuração. A mensuração do comportamento higiênico em abelhas pode ser feita utilizando dois métodos distintos e eficientes, o congelamento e a perfuração (LECLERCQ, *et al.* 2017), sendo o método de congelamento de crias usando um congelador ou nitrogênio líquido (SPIVAK & REUTER, 1998) ou por perfuração da cria com alfinete entomológico (NEWTON & OSTASIEWSKI, 1986; GRAMACHO & GONÇALVES, 2009) os dois métodos são

eficientes, porém adaptando para realidade do pesquisador, o método mais prático e barato seria o da perfuração (GRAMACHO, 1995). Esses dois métodos foram considerados muito mais convenientes e menos demorados em comparação com os métodos diretos, os quais consistem na adição do patógeno a colônia (PANASIUK, SKOWRONEK, & BIENKOWSKA, 2008).

Tratando do comportamento higiênico em diferenças subespécies de abelhas *Apis mellifera*, é possível afirmar que as africanizadas são as que possuem melhor resposta (GUERRA JR *et al.*, 2020; OLINTO, 2014). No trabalho de Guerra Jr *et al.* (2020) podemos observar que a cada 10 crias infestadas pelo acaro varroa, em média 6,5 eram removidas pelas africanizadas e nas italianas em média 3,5 das crias infectadas eram removidas. Essa eficiência do comportamento nas abelhas africanizadas pode ser relacionada com a sua alta capacidade de higienizar a colônia, seu comportamento defensivo, maior resistência a agentes patogênicos e sua alta taxa de enxameação, garantido assim a sua maior adaptação a diversos ambientes (SILVA *et al.*, 2006).

## **2.4. Estudo de populações**

O conceito de espécie ainda é um tema que gera debates, dois conceitos aceitos são Conceito Biológico de Espécie e o Conceito Filogenético de Espécie (QUEIROZ, 2005; AGAPOW *et al.*, 2004), Segundo Aleixo (2009) a principal diferença entre os conceitos está associado ao tratamento de populações diferenciadas e evolutivamente independentes, porém, proximamente relacionadas. No Conceito Filogenético de Espécie populações diferenciadas e com um histórico de evolução independente de outras populações proximamente relacionadas filogeneticamente, automaticamente são consideradas como espécies distintas, já no Biológico de Espécie essas populações proximamente relacionadas filogeneticamente são apenas consideradas subespécies, sendo integrantes uma única espécie que agrupa diversas populações que diferem umas das outras em maior ou menor grau, mas entre as quais existe fluxo gênico efetivo ou potencial. Essa possibilidade de categorizar subespécie torna possível a conservação específicas de populações diferenciadas (MACE, 2004; HAIG *et al.*, 2006) e seus ecótipos, que são indivíduos da mesma subespécie que diferem unicamente em alguns caracteres morfológicos e que se encontram adaptadas às condições locais, como

possivelmente é o caso das abelhas africanizadas adaptadas as condições do Semiárido brasileiro.

Para entender as relações filogenéticas de cada espécie é necessário o estudo da sua população, tentando identificar suas adaptações evolutivas ao seu meio. Levando em consideração a distribuição e a hibridização da abelha africanizada (*Apis mellifera* L.), torna-se necessário entender, buscar as interações e identificar possíveis mudanças morfológicas nas populações de estudo possibilitando assim conhecer seus ecótipos, podendo adotar possíveis programas de melhoramento genético e conservação em abelhas africanizadas mais eficientes (KADRI, 2016). Mantendo ecótipos mais adaptados, linhagens mais resistentes e com as características desejadas, trazendo uma viabilidade comercial para esse tipo de estudo (COBEY & SCHLEY, 2002).

Uma das maneiras atuais para realização de estudos de populações é a utilização das técnicas de genômica, a qual tem como função sequenciar os nucleotídeos, mapear e analisar os genomas das espécies (KADRI, 2016). A abelha *Apis mellifera*, teve seu genoma sequenciado em 2006 (THE HONEYBEE GENOME SEQUENCING CONSORTIUM, 2006), a amostra utilizada foi oriunda de uma linhagem norte americana (WHITFIELD *et al.*, 2006) e com o sequenciamento foi observado que o mesmo é rico em bases de adenina e timina, característica encontrada em outros insetos. Esse sequenciamento vem sendo utilizado como bases para estudos com *Apis mellifera* de interesse comercial (LECLERCQ *et al.*, 2018; MONTERO-MENDIETA *et al.*, 2018, OLDROYD, 2012; HARPUR *et al.*, 2012; HARPUR *et al.*, 2014). Podemos observar o desenvolvimento no estudo de sequenciamento em abelhas onde até o ano de 2015 apenas a *A. cerana* e a *Apis mellifera intermissa*, tinham o genoma inteiro sequenciado (KADRI, 2016; PARK *et al.*, 2015; HADDAD *et al.*, 2015) e em menos de 3 anos já temos outros genomas sequenciados, como o da *Apis mellifera unicolor* (BOARDMAN *et al.*, 2015).

Os estudos com genoma são conduzidos para a identificação de QTLs (Quantitative trait loci) que são regiões do genoma responsáveis pela expressão de caracteres fenotípicos e que são associadas aos seus respectivos alelos, porém necessitam de uma identificação de alta densidade de marcadores moleculares (TOLEDO *et al.*, 2008; JORDE, 1995; LANDER E SCHORK, 1994). Segundo Kadri (2016) esses marcadores podem ser desenvolvidos através da identificação de SNPs. Um Single Nucleotide Polymorphisms (SNP) é um polimorfismo em único nucleotídeo na sequência do DNA genômico; por exemplo, quando um T se torna um G, podem acontecer dentro

de genes ou entre eles. Alguns estão associados a características como: comportamento, produção, doenças entre outras (CAETANO, 2009; CLARK, 2010). Quin *et al.* (2006) aponta os SNPs como a forma mais frequente de variabilidade genética, tornando assim necessário o entendimento dos SNPs para facilitar os estudos de genética populacional e permitir a utilização de SNPs selecionados nos programas de melhoramento genéticos, como é o caso das abelhas africanizadas, porém o que pouco se fala é sobre os custos e as especificações das análises genômicas, as quais ainda são muito caras e tratando-se de trabalhos populacionais que precisam de um número grande de amostras muitas vezes dificulta ou impossibilita a execução de pesquisas. Além disso, em países como o Brasil se torna mais complicado devido aos altos custos de importações dos primers e reagentes e variações cambiais.

Como citado anteriormente, apesar da genômica possuir certo destaque para realização de estudos de populações, não é a única forma de realizar este tipo de estudo. A morfometria geométrica de asas surge como uma alternativa simples, rápida e de baixo custo, com resultados chegando a taxas de 99,5% de acerto na identificação de ecótipos africanizados (FRANCOY, 2007) e podemos reafirmar a eficiência da mesma em Henriques *et al* (2020) o qual realizou o estudo populacional das *Apis mellifera iberiensis* utilizando SNPs e morfometria geométrica de asa, obtendo como resultado a capacidade da morfometria geométrica das asas capturar padrões genéticos complexos, oferecendo uma alternativa confiável e de baixo custo para estimativa preliminar da estrutura populacional.

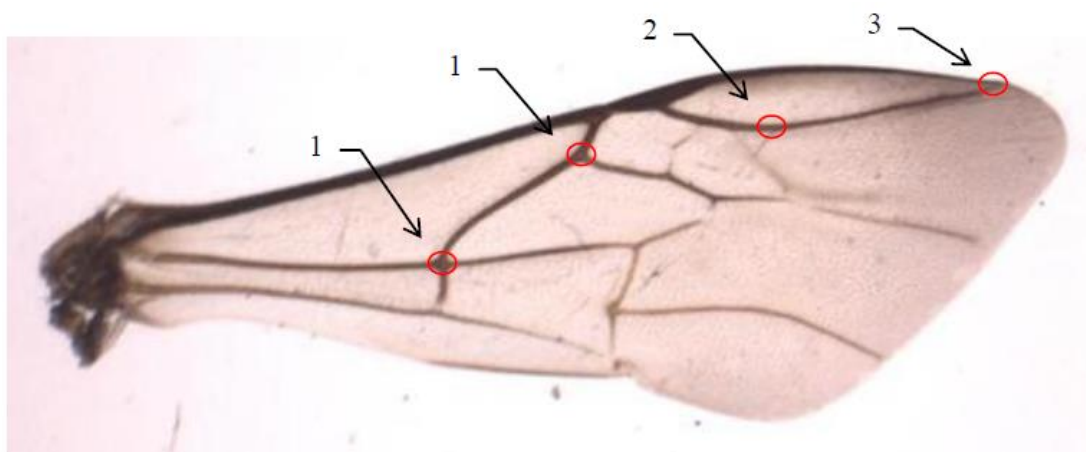
## **2.5. Morfometria Geométrica de Asa**

Surgindo no início da década de 80 e sendo amplamente divulgada em 90, a morfometria geométrica vem com o intuito de aplicar técnicas que possam descrever e representar a forma geométrica real do objeto de estudo (BOOKSTEIN, 1991, MORAES 2003). Para Villemant *et al.* (2007) esta técnica tem destaque pela sua capacidade de detectar variações morfológicas em frequências mínimas, as quais são indetectáveis na morfometria tradicional. Sendo assim Slice (2005) define a técnica como “um conjunto de métodos de aquisição, processamento e análise de variáveis de forma que preserva toda a informação geométrica contida nos dados originais”.

A morfometria geométrica não utiliza mais as medições das distâncias e ângulos, utiliza as coordenadas cartesianas dos pontos, os quais são chamados de marcos anatômicos ou landmarks (KENDALL *et al.*, 1999; FORNEL & CORDEIRO-ESTRELA, 2012). Essas coordenadas podem ser definidas num plano e ter duas dimensões ( $x, y = 2D$ ) ou em um espaço de três dimensões ( $x, y, z = 3D$ ), sendo elas distâncias especiais (em relação à origem de um referencial) que preservam toda a informação geométrica entre um conjunto de pontos (FORNEL & ESTRELA, 2012). Para Rohlf & Marcus (1993) a utilização das coordenadas possui vantagens sobre o uso de medidas lineares devido à inclusão das informações sobre as posições relativas dos marcos, permitindo assim a reconstrução do material estudado.

Essas coordenadas cartesianas utilizadas na morfometria geométrica são determinadas como marcos anatômicos homólogos. Para a Zelditch *et al* (2004), esses marcos são pontos bem definidos na anatomia que podem ser reconhecidos em todos os espécimes escolhidos para estudo. É de suma importância relatar que os marcos anatômicos representam características importantes do espécime estudando, tornando-se assim necessário a presença de um especialista para localizá-los (BUENO, 2010).

Seguindo o estudo de Bookstein (1991), os marcos anatômicos podem ser classificados em três tipos, os quais podemos observar no trabalho de Bueno (2010) (Figura 1):



**Figura 1.** Tipo1, tipo 2 e tipo 3 de marcos anatômicos correspondentes à definição dada por Bookstein (1991) em uma imagem de asa da espécie *Melipona flavolineata*, apresentada por Bueno (2010).

Tipo 1 - Justaposição de tecidos. São pontos no espaço onde três estruturas se encontram como suturas ósseas, ramificações de nervuras em folhas de árvores ou em estruturas do sistema nervoso, ou arterial.

Tipo 2- Pontos de máxima curvatura ou outros processos morfogenéticos locais. Pontos que incluem extremidades de processos e vales de invaginações. São marcos mais difíceis de serem reconhecidos, porém apresentam características que podem ser interessantes para explicações biológicas. No entanto, explicações complexas relacionadas a este tipo de ponto são menos confiáveis.

Tipo 3 - Pontos extremos. Estes pontos estão relacionados à maior distância que pode ser medida em uma estrutura, como diâmetros, extremidades de centroides e interseção de segmentos entre marcos. São considerados pouco eficientes quanto à homologia dificultando assim as explicações biológicas decorrentes dos seus resultados. Podendo ser chamado pseudo-marcos anatômicos. O marco anatômico tipo 3 em 1997 deixa de ser considerado marco anatômico e passar a ser um semimarco (BOOKSTEIN 1997).

Entendendo a técnica, como funcionam os marcos anatômicos e quais são seus tipos, torna-se possível começar decidir onde podemos aplicar, quais marcos utilizamos, tipos de análises que podemos obter através da técnica e aplicá-la nas mais diversas áreas, seja na utilização dos marcos do tipo 1 na identificação do posicionamento racial de abelhas africanizadas feito por Silva *et al* (2019) ou na avaliação das deformidades das diatomáceas realizada por Cerisier *et al* (2018). Demonstrando assim a capacidade de alcance da técnica da morfometria geométrica.

### **2.5.1. Morfometria geométrica de asa nas abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.) do Brasil**

O primeiro passo para um programa de conservação de sucesso é identificar a espécie a ser estudada. Quando falamos em identificação de espécies de abelhas, temos uma diversidade que chega em cerca de 20.000 espécies, onde dentre elas temos a sua grande maioria abelhas solitárias e cerca de 1000 sociais (FRANCOY & IMPERATRIZ-FONSECA, 2010). Santos (2021) aponta que das espécies sociais encontradas no Brasil, 245 são de abelhas-sem-ferrão, sendo a *Ceratina* (*Ceratinula*) *fioresseana* a mais nova

subespécie descoberta na região Nordeste por Oliveira *et al.* (2020). Em relação as abelhas do gênero *Apis* o que se sabe é do cruzamento entre as subespécies europeias com a subespécie africana dando origem ao polihíbrido africanizado, o qual ainda não se tem uma definição clara da sua classificação.

Quando tratamos de abelhas no geral, podemos observar uma gigante variedade de morfometrias, podemos diferenciar de forma rápida uma *Xylocopa* de uma *Euglossini*, porem quando comparamos subespécies do gênero *Apis* os estudos começam a exigir técnicas mais avançadas, então quando partimos para a identificação de ecótipos de abelhas africanizadas situadas no vasto território brasileiro e com apenas pequenas diferenciações essas técnicas mais avançadas são fundamentais, é foi assim que a morfometria geométrica de asa teve início no Brasil, visando diferenciar esses ecótipos e associa-los as suas subespécies de origem.

Os estudos realizados por Ruttner (1988) utilizando da morfometria nas abelhas obteve resultados que possibilitaram a classificação de 25 subespécies de *Apis mellifera* (Figura 2) e separação das mesmas em seus ramos evolutivos, os quais foram chamados de Ramo A, formado pelas subespécies da África; Ramo M, subespécies do norte da Europa, Espanha, Portugal e norte da África; Ramo C, subespécies da Itália, da Áustria, Iugoslávia, Norte da Grécia, Bulgária, sul da Grécia e Sicília, e Ramo O, subespécies presentes nas montanhas caucasianas, Armênia, Irã, Iraque, Síria, Turquia, Chipre e ilha de Creta na Grécia (Tabela 1).



**Figura 2.** Localização geográfica das subespécies das abelhas *Apis mellifera* (Franck *et al.*, 1998 modificado por Grassi, 2009).

**Tabela 1:** Classificação das 25 subespécies de *Apis mellifera* em seus ramos evolutivos identificadas por Ruttner, (1988) e apresentada por Grassi (2009).

| Ramo A                  | Ramo M                   | Ramo C                  | Ramo O                  |
|-------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|
| <i>A. m. lamarckii</i>  | <i>A. m. mellifera</i>   | <i>A. m. ligustica</i>  | <i>A. m. caucasica</i>  |
| <i>A. m. jemenitica</i> | <i>A. m. iberica</i>     | <i>A. m. carnica</i>    | <i>A. m. armeniaca</i>  |
| <i>A. m. litorea</i>    | <i>A. m. intermissa</i>  | <i>A. m. macedonica</i> | <i>A. m. meda</i>       |
| <i>A. m. scutellata</i> | <i>A. m. sahariensis</i> | <i>A. m. cecropia</i>   | <i>A. m. anatoliaca</i> |
| <i>A. m. monticola</i>  | <i>A. m. major</i>       | <i>A. m. sicula</i>     | <i>A. m. syriaca</i>    |
| <i>A. m. adansonii</i>  |                          |                         | <i>A. m. cypria</i>     |
| <i>A. m. unicolor</i>   |                          |                         | <i>A. m. adami</i>      |
| <i>A. m. capensis</i>   |                          |                         |                         |

Como os ramos propostos por Ruttner (1988) a identificação dos ecótipos das abelhas africanizadas localizadas no Brasil se torna mais fácil. Em entrevista a Coelho (2005), Dr. Kerr, geneticista que era responsável pelo projeto de introdução da abelha africana (*Apis mellifera scutellata*) no Brasil, afirma que a hibridização teve início com cruzamentos entre as abelhas africanas (*Apis mellifera scutellata*), ibéricas (*Apis mellifera iberica*), italianas (*Apis mellifera ligustica*) e alemãs (*Apis mellifera mellifera*) que já se encontravam na natureza. Essas subespécies oriundas do início da africanização fazem parte do Ramo A (*Apis mellifera ligustica*), M (*Apis mellifera iberica* e *Apis mellifera mellifera*) e C (*Apis mellifera ligustica*), possibilitando assim estudos de posicionamento racial/subespécies dos diferentes ecótipos de abelhas africanizadas brasileiras.

Tratando de abelhas africanizadas brasileiras, vale ressaltar tese de doutorado do Dr. Francoy (2007) a qual teve como uns dos seus objetivos testar o uso de morfometria geométrica e do software ABIS na identificação de populações, subespécies e outros grupos de abelhas *Apis mellifera*. Foi identificado que as abelhas africanizadas do Brasil possuem um padrão de venação mais similar ao padrão das africanas *A. m. scutellata*, porém, apesar da similaridade ainda é possível distinguir as abelhas africanizadas das abelhas africanas utilizando a morfometria geométrica. O trabalho de Francoy (2007) é um trabalho que se tornou uma referência para o estudo de populações de abelhas aplicando a técnica da morfometria de asas, até a presente data a metodologia aplicada é baseada nos 19 marcos anatômicos propostos na sua tese.

Mesmo antes do final da sua tese, Francoy *et al.* (2006) propôs que diferenças morfométricas em uma única célula da asa podem discriminar subespécies de *Apis mellifera*, no presente trabalho a metodologia que propôs marcar os 19 marcos anatômicos referentes as nervuras das asas foi substituída pela marcação de apenas 5 marcos anatômicos somente na célula radial da asa. O que temos que chamar atenção é que mesmo com essa metodologia mais simples proposta por Francoy *et al.* (2006),

trabalhos recentes como Nunes *et al.* (2012) observando a variação morfométrica de abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.) nas cinco regiões do Brasil, Silva *et al.* (2015) reafirmando a utilização dos 19 marcos anatômicos para a identificação de subespécies de abelhas e Santos e Silva *et al.* (2019) usando da morfometria geométrica para verificar o posicionamento racial de abelhas africanizadas em três localidades do Piauí, todas utilizaram metodologias que consideram os 19 marcos anatômicos.

Pode-se observar que os primeiros anos da morfometria geométrica de asa das abelhas africanizadas foram de aperfeiçoamento da técnica e as pesquisas estavam concentradas nos pesquisadores da Universidade de São Paulo (USP), onde mais uma vez Francoy *et al.* (2008) propôs a identificação de abelhas africanizadas coletadas em todas as regiões do Brasil por meio da morfometria das asas utilizando dois procedimentos rápidos e eficientes, os quais são o ABIS e a morfometria geométrica da asa. A metodologia aplicada neste artigo é a de identificação dos 19 marcos anatômicos em toda a asa e não a dos 5 marcos anatômicos apenas na célula radial da asa. Os resultados obtidos foram uma taxa de acerto de 98,05% dos indivíduos utilizando o ABIS e 99,2% de acertos na identificação utilizando a morfometria geométrica, concluindo que ambas as metodologias são muito eficientes para a identificação de abelhas africanizadas. Portanto, para o presente trabalho iremos utilizar a metodologia de Francoy por apresentar a morfometria geométrica como uma importante ferramenta para a conservação dos ecótipos localmente adaptados.

No ano seguinte ao trabalho de Francoy, foi observada a continuidade dos trabalhos de morfometria geométrica por parte da equipe da USP, agora a dissertação de mestrado de Grassi (2009), a qual propunha caracterizar as asas anteriores de 26 subespécies de *Apis mellifera* e das abelhas africanizadas utilizando morfometria tradicional, morfometria geométrica e ABIS, comparando a eficiência da técnica baseando-se somente em características das asas anteriores. Grassi (2009) conclui que o método mais rápido e eficiente é a utilização do ABIS, obtendo uma taxa de acerto nas identificações e de 100%, seguido na morfometria geométrica a qual obteve uma taxa de 99,5% de acertos e por último, porém também eficiente, a morfometria tradicional com 90% de acertos, corroborando com os resultados encontrados por Francoy *et al.* (2008). Esses resultados possibilitam a visualização dos distintos grupos em seus ramos evolutivos.

Se a utilização do sistema ABIS é mais rápida e mais eficiente, por que continuar utilizando morfometria geométrica? A perpetuação da utilização morfometria geométrica em asas de abelhas está diretamente associada sua aplicação simples e rápida, e a utilização de softwares de livre acesso, diferindo assim do sistema ABIS o qual é um software de uso restrito. Esses fatores fizeram com que a técnica morfometria geométrica em asas de abelhas fosse constantemente utilizada em trabalhos posteriores.

Podemos observar que após o processo de validação da técnica, poucos foram os trabalhos aplicando as técnicas de morfometria geométrica de asas e sempre focando na parte de caracterização das abelhas africanizadas. Nunes *et al.* (2012) é um bom exemplo onde o trabalho propôs estudar as variações da forma em asas e corbículas de operárias de abelhas oriundas das cinco regiões do Brasil, confirmando assim que existem diferenças morfométricas com base na morfometria das asas e que possuem um padrão de acordo com a região que se encontram, onde foi observado que a distância geográfica favorece as divergências entre as populações de *Apis mellifera* provenientes das cinco regiões brasileiras.

Levando em consideração as diferenças regionais, como seria dinâmica populacional em populações de abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.) no nordeste brasileiro? É com essa dúvida que surge a dissertação de Moretti (2014) buscando caracterizar e mapear a variabilidade genética das abelhas africanizadas *A. mellifera* no Nordeste brasileiro, tendo em vista o conhecimento da dinâmica populacional e a distribuição geográfica desta variabilidade utilizando a morfometria geométrica como ferramenta de identificação. Com os resultados das análises da morfometria geométrica foi possível concluir que as populações de diferentes locais do nordeste são morfometricamente muito similares, sugerindo alto fluxo gênico e ausência de estruturação entre as populações amostradas, porém essa variação cresce quando populações de regiões climáticas distintas são comparadas, demonstrando assim a influência climática sobre a dispersão dessas populações, terminado por gerar ecótipos diferentes.

O nordeste brasileiro passa a ter um destaque nos estudos de morfometria geométrica e quatro anos após a dissertação de Moretti (2014), Moretti *et al.* (2018) fizeram um trabalho usando a morfometria da asa para revelar possíveis padrões de migração de abelhas africanizadas no nordeste do Brasil, os resultados encontrados nessa pesquisa são de suma importância para a apicultura nordestina, já que um dos grandes

problemas enfrentados na região é o abandono de colônias e os resultados encontrados apontam que existem diferenças no padrão de asa das abelhas que migram e das que não migram, essa característica pode ser usada futuramente como parâmetro de seleção, porém ainda é passível de mais estudos. Além disso os autores destacam importância da utilização da morfometria como uma ferramenta de conservação.

Um trabalho mais recente no Nordeste com morfometria geométrica da asa foi Silva *et al.* (2019) o qual utiliza a metodologia de Franco (2006) para a marcação dos 19 marcos anatômicos com o intuito de verificar posicionamento racial de abelhas africanizadas oriundas de 3 municípios do Piauí, sendo eles provenientes da região litorânea e do sertão. Os dados encontrados por Silva *et al.* (2019) corroboram com os dados encontrados anteriormente, sendo possível verificar o posicionamento racial das abelhas africanizadas do estado do Piauí e observar as diferenças na forma das asas das subespécies utilizando a morfometria geométrica, porém não foi possível confirmar a existência de ecótipos entre as populações do sertão e do litoral.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo geral**

- Determinar o posicionamento racial de abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.) do semiárido brasileiro.

#### **3.2. Objetivos específicos**

- Avaliar a existência de ecótipos localmente adaptados de populações de abelhas africanizadas em diferentes localidades do semiárido.
- Verificar a existência de variações morfológicas nas asas de abelhas africanizadas de linhagens higiênicas e de abelhas africanizadas de linhagens não higiênicas.

#### 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ab'sáber, A. N. (1999) Dossiê nordeste seco. *Estudos avançados*, 13(36), 7-59.
- ABEMEL. Dados Estatísticos do Mercado de Mel - 2022. 2023. Disponível em: <<https://www.brazilletsbee.com.br/2022.10.17%20ABEMEL%2020Dados%20Estatisticos%20-%20Jan-Set%202022.pdf>>. Acesso em: 22 fev. 2023.
- Adapar (2019) Nota Técnica GSA 01/2019. 1 - 4.
- Afonso, J. **Origem das linhagens mitocondriais nas abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.) do Brasil**. 2012. 80p. Dissertação (Mestrado em Genética Evolutiva e Biologia Molecular) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2012.
- Agapow, P. M., Bininda-Emonds, O. R., Crandall, K. A., Gittleman, J. L., Mace, G. M., Marshall, J. C., & Purvis, A. (2004). The impact of species concept on biodiversity studies. *The quarterly review of biology*, 79(2), 161-179.
- Aleixo, A. L. P. (2009). Conceitos de espécie e suas implicações para a conservação. *MEGADIVERSIDADE*, 5(1-2), 88-95.
- Araújo, S. D. A. (2011) A região semiárida do nordeste do Brasil: questões ambientais e possibilidades de uso sustentável dos recursos. *Rios Eletrônica-Revista Científica da FASETE*, 5(5), 2-4.
- Bendini, J. N., Souza, D. C., de Barros, R. F. M., Medeiros, S. V., de Abreu, M. C., & Melquíades, C. D. C. V. (2021). Mapping bee flora in honey producing areas of the Alto Médio Canindé microregion in Piauí state, Brazil. *Revista Agro@mbiente On-line*, (15), 1 - 14.
- Boardman, L., Eimanifar, A., Kimball, R. T., Braun, E. L., Fuchs, S., Grünwald, B., Ellis, J. D. (2019). The complete mitochondrial genome of *Apis mellifera unicolor* (Insecta: Hymenoptera: Apidae), the Malagasy honey bee. *Mitochondrial DNA Part B*, 4(2), 286-3287.
- Bookstein, F. L. (1982). Foundations of morphometrics. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 13(1), 451-470.
- Bookstein, F. L. (1997). Landmark methods for forms without landmarks: morphometrics of group differences in outline shape. *Medical image analysis*, 1(3), 225-243.

Bueno, J. F. **Sistema automatizado de classificação de abelhas baseado em reconhecimento de padrões.** 2010. 183p. Tese (Doutorado em Engenharia) - Universidade de São Paulo. 2010.

Caetano, A. R. (2009) Marcadores SNP: conceitos básicos, aplicações no manejo e no melhoramento animal e perspectivas para o futuro. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 38(8), 64-71.

Calfee, E., Agra, M. N., Palacio, M. A., Ramírez, S. R., & Coop, G. (2020). Selection and hybridization shaped the rapid spread of African honey bee ancestry in the Americas. *PLoS Genetics*, 16(10), 1-36.

Carvalho, A. F. (2022). Ilegalidades no comércio online de abelhas sem ferrão no Brasil. *Acta Biológica Paranaense*, 51(1), 1-16.

Castilhos, D., Polesso, A. M., da Silva, A. C. F., dos Santos, A. B., de Carvalho Lopes, A. T., de Oliveira Filho, A. A., ... & de Medeiros, V. F. (2023). *Varroa destructor* infestation levels in Africanized honey bee colonies in Brazil from 1977 when first detected to 2020. *Apidologie*, 54(1), 1-16.

Cerisier, A., Vedrenne, J., Lavoie, I., & Morin, S. (2019). Assessing the severity of diatom deformities using geometric morphometry. *Botany Letters*, 166(1), 32-40.

Chapman, N. C., Harpur, B. A., Lim, J., Rinderer, T. E., Allsopp, M. H., Zayed, A., & Oldroyd, B. P. (2015). A SNP test to identify Africanized honeybees via proportion of ‘African’ ancestry. *Molecular Ecology Resources*, 15(6), 1346-1355.

Clark, A. G.; Harti, D. L. (2010) **Princípios de Genética de Populações.** 4ª Ed. Artmed Editora, Porto Alegre, Rio Grande do Sul.

Cobey, S.; Schley, P. (2002) Innovations in instrumental insemination. The compact, versatile right and left handed Schley model II instrument. *American Bee Journal*, 142(6) 433-435.

Coelho, M. A. (2005) Warwick Kerr: a Amazônia, os índios e as abelhas. *Estudos Avançados*, 19(53), 51-69.

Cremer, S., Armitage, S. A., & Schmid-Hempel, P. (2007). Social immunity. *Current biology*, 17(16), R693-R702.

- da Silva, F. T., Alan, D. Ã., de Almeida, R. R. P., de Medeiros, A. C., & Maracaja, P. B. (2018). Phytosociological and floristic analysis of caatinga biome in Aparecida, PB, Brazil. *Journal of Agroindustry Systems*, 1(01), 11-23.
- De La Rúa, P., Serrano, J., & Galián, J. (2002). Biodiversity of *Apis mellifera* populations from Tenerife (Canary Islands) and hybridisation with East European races. *Biodiversity & Conservation*, 11, 59-67.
- do Carmo, R. M., Franceschinelli, E. V., & da Silveira, F. A. (2004). Introduced honeybees (*Apis mellifera*) reduce pollination success without affecting the floral resource taken by native pollinators. *Biotropica*, 36(3), 371-376.
- dos Santos, A. M. M., & Mendes, E. C. (2016). Abelha africanizada (“*Apis melífera*” L.) em áreas urbanas no brasil: necessidade de monitoramento de risco de acidentes. *Revista Sustinere*, 4(1), 117-143.
- Faquinello, P. **Avaliação genética em abelhas *Apis mellifera* africanizadas para a produção de geléia real.** 2007, 70p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual de Maringá. Maringá, 2007.
- Fornel, R., & Cordeiro-Estrela, P. (2012). Morfometria geométrica e a quantificação da forma dos organismos. *Temas em Biologia: Edição comemorativa*, 20, 101-120.
- Franck, P., Garnery, L., Solignac, M., & Cornuet, J. M. (1998). The origin of west European subspecies of honeybees (*Apis mellifera*): new insights from microsatellite and mitochondrial data. *Evolution*, 52(4), 1119-1134.
- Francoy, T. M. **Variabilidade genético-morfológica em populações neotropicais de *Apis mellifera*.** 2007. 179p. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. 2007.
- Francoy, T. M., & Imperatriz-Fonseca, V. L. (2010). A morfometria geométrica de asas e a identificação automática de espécies de abelhas. *Oecologia Australis*, 14(1), 317-321.
- Francoy, T. M., Prado, P. R. R., Gonçalves, L. S., da Fontoura Costa, L., & De Jong, D. (2006). Morphometric differences in a single wing cell can discriminate *Apis mellifera* racial types. *Apidologie*, 37(1), 91-97.

Francoy, T. M., Wittmann, D., Drauschke, M., Müller, S., Steinhage, V., Bezerra-Laure, M. A., ... & Gonçalves, L. S. (2008). Identification of Africanized honey bees through wing morphometrics: two fast and efficient procedures. *Apidologie*, 39(5), 488-494.

Garcia, R. C., & Couto, R. H. N. (2005). Produção de geléia real por abelhas *Apis mellifera* italianas, africanizadas e descendentes de seus cruzamentos. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 27(1), 17-22.

Gonçalves, J. C., Teixeira, A., Pereira, F. D. M., & Lopes, M. D. R. (2008). **Comportamento higiênico em abelhas africanizadas**. 1ª Ed. Embrapa Meio-Norte, Teresina, Piauí.

Gonçalves, L. S. (1974) The introduction of the African Bees (*Apis mellifera scutellata*) into Brazil and some comments on their spread in South America. *American Bee Journal*. 114(11), 414-419.

Gonçalves, L. S. (1992) Africanização das abelhas nas Américas, impactos e perspectivas de aproveitamento do material genético. *Naturalia*, 126-134.

Gonçalves, L. S.; Gramacho, K. P. (1999) Seleção de abelhas para resistência a doenças de crias através do comportamento higiênico. *Mensagem Doce*, 52(7), 2-7.

Gonçalves, L.S. Principais impactos biológicos causados pela africanização das abelhas *Apis mellifera* e perspectivas da apicultura brasileira. **In:** Encontro sobre abelhas, 3, 1988, Ribeirão Preto, Brasil. Anais do III Encontro sobre Abelhas, p. 31-36. 1998.

Gramacho, K. P., & Gonçalves, L. S. (2009). Comparative study of the hygienic behavior of Carniolan and Africanized honey bees directed towards grouped versus isolated dead brood cells. *Genetics and Molecular Research*, 8(2), 744-750.

Gramacho, K. P., & Gonçalves, L. S. (2009). Comparative study of the hygienic behavior of Carniolan and Africanized honey bees directed towards grouped versus isolated dead brood cells. *Genetics and Molecular Research*, 8(2), 744-750.

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:** X Congresso Brasileiro de Apicultura, Rio Quente. Anais, 1994. p. 342-342. 1994.

Gramacho, K.P Estudo do comportamento higiênico em *Apis mellifera*, como subsídio a programas de seleção e melhoramento genético em abelhas. 1995. 108p. Dissertação (Mestrado em Ciência) - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. 1995.

Grassi, M. L. **Discriminação morfométrica de 26 subespécies de *Apis mellifera* L. e abelhas africanizadas por técnicas de morfometria tradicional, morfometria geométrica e sistema ABIS de identificação de espécies.** 2009. 121p. Dissertação (Mestrado em Ciência) - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. 2009.

Guerra Jr, J. C. V., Gonçalves, L. S., & Jong, D. D. (2000). Africanized honey bees (*Apis mellifera* L.) are more efficient at removing worker brood artificially infested with the parasitic mite *Varroa jacobsoni* Oudemans than are Italian bees or Italian/Africanized hybrids. *Genetics and Molecular Biology*, 23, 89-92.

Guzman-Novoa, E., & Uribe-Rubio, J. L. (2004). Honey production by European, Africanized and hybrid honey bee (*Apis mellifera*) colonies in Mexico. *American bee journal*.

Guzmán-Novoa, E., Benítez, A. C., Montañó, L. G. E., & Novoa, G. G. (2011). Colonización, impacto y control de las abejas melíferas africanizadas en México. *Veterinaria México*, 42(2), 149-178.

Haddad, N. J.; Loucif-Ayad, W.; Noureddine, A.; Saini, D.; Manchiganti, R.; Krishnamurthy, V.; Mugasimangalam, R. (2015) Draft genome sequence of the algerian bee *Apis mellifera* intermissa. *Genomics data*, 4, 24-25.

Haig, S. M., Beever, E. A., Chambers, S. M., Draheim, H. M., Dugger, B. D., Dunham, S., & Sheffield, L. M. (2006). Taxonomic considerations in listing subspecies under the US Endangered Species Act. *Conservation Biology*, 20(6), 1584-1594.

Harpur B. A., Minaei S, Kent C. F., Zayed, A. (2012) Management increases genetic diversity of honey bees via admixture. *Molecular Ecology*, 21(18), 4414–4421.

Harpur, B. A., Kadri, S. M., Orsi, R. O., Whitfield, C. W., & Zayed, A. (2020). Defense response in Brazilian honey bees (*Apis mellifera scutellata* × spp.) is underpinned by complex patterns of admixture. *Genome Biology and Evolution*, 12(8), 1367-1377. doi: 10.1093/gbe/evaa128

Harpur, B. A., Kent, C. F., Molodtsova, D., Lebon, J. M., Alqarni, A. S., Owayss, A. A., Zayed, A. (2014) Population genomics of the honey bee reveals strong signatures of

positive selection on worker traits. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(7), 2614-2619.

Henriques, D., Chávez-Galarza, J., SG Teixeira, J., Ferreira, H., J. Neves, C., Franco, T. M., & Pinto, M. A. (2020). Wing geometric morphometrics of workers and drones and single nucleotide polymorphisms provide similar genetic structure in the Iberian honey bee (*Apis mellifera iberiensis*). *Insects*, 11(2), 1-14.

Idaf (2022) NOTA TÉCNICA GEDSIA Nº 003/2022. 1 - 5.

Instituto brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. **Censo Demográfico 2010**. Rio de Janeiro: IBGE, 2011.

Instituto brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA, 2021

Jones, R. L., & Rothenbuhler, W. C. (1964). Behaviour genetics of nest cleaning in honey bees. II. Responses of two inbred lines to various amounts of cyanide-killed brood. *Animal Behaviour*, 12(4), 584-588.

Jorde, L. B. (1995). Linkage disequilibrium as a gene-mapping tool. *American journal of human genetics*, 56(1), 11.

Kadri, S, M. **Identificação de regiões polimórficas para alta produtividade de mel e sequenciamento genômico em abelhas *Apis mellifera* africanizadas**. 2016. 85p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2016.

Kendall, D. G., Barden, D., Carne, T. K., & Le, H. (2009). **Shape and shape theory**. John Wiley & Sons.

Kent, R. B. (1988). The introduction and diffusion of the African honeybee in South America. *Yearbook of the Association of Pacific Coast Geographers*, 50(1), 21-43.

KERR, W.E. (1967) The history of the introduction of African bees to Brasil. *South African Bee Journal*, 39, 3-5.

Khan, A. S., Matos, V. D. D., Lima, P. V. P. S. Desempenho da apicultura no estado do Ceará: competitividade, nível tecnológico e fatores condicionantes. *Revista de Economia e Sociologia Rural*, 47(3), 651-676.

- Lander, E. S., & Schork, N. J. (2006). Genetic dissection of complex traits. *Focus*, 265(3), 2037-458.
- Lapidge, K. L., Oldroyd, B. P., & Spivak, M. (2002). Seven suggestive quantitative trait loci influence hygienic behavior of honey bees. *Naturwissenschaften*, 89, 565-568.
- Leclercq, G., Francis, F., Gengler, N., & Blacqui re, T. (2018). Bioassays to quantify hygienic behavior in honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies: a review. *Journal of Apicultural Research*, 57(5), 663-673.
- Leclercq, G., Francis, F., Gengler, N., & Blacqui re, T. (2018). Bioassays to quantify hygienic behavior in honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies: a review. *Journal of Apicultural Research*, 57(5), 663-673. doi: 10.1080/00218839.2018.1494916
- Leclercq, G., Pannebakker, B., Gengler, N., Nguyen, B. K., & Francis, F. (2017). Drawbacks and benefits of hygienic behavior in honey bees (*Apis mellifera* L.): a review. *Journal of Apicultural Research*, 56(4), 366-375.
- Lira, G. A. A expans o da agroind stria do mel no Rio Grande do Norte. 2008, 82 p. Disserta o (Mestrado em Ci ncias em Engenharia de Produ o) Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Mossor , 2008.
- Mace, G. M. (2004). The role of taxonomy in species conservation. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 359(1444), 711-719.
- Marcus F. J, Rohlfand, L. F. (1993). "A revolution in morphometrics." *Trends in Ecology and Evolution*, 8(4), 129-132.
- Meixner, M. D., Pinto, M. A., Bouga, M., Kryger, P., Ivanova, E., & Fuchs, S. (2013). Standard methods for characterising subspecies and ecotypes of *Apis mellifera*. *Journal of Apicultural Research*, 52(4), 1-28.
- Montenegro, S., Ragab, R. (2012) Impact of possible climate and land use changes in the semi arid regions: A case study from North Eastern Brazil. *Journal of Hydrology*, 434(435), 55-68.
- Montero-Mendieta, S., Tan, K., Christmas, M. J., Olsson, A., Vil , C., Wallberg, A., & Webster, M. T. (2018) The genomic basis of adaptation to high-altitude habitats in the eastern honey bee (*Apis cerana*). *Molecular ecology*, 28(4), 746-760.

- Moraes, D. A. (2003) A morfometria geométrica e a “revolução na morfometria” localizando e visualizando mudanças na forma dos organismos. *Bioletim*, 3(3), 1-6.
- Moretti CJ, Costa CP, Franco TM. (2018). Wing morphometrics reveals the migration patterns of Africanized honey bees in Northeast Brazil. *Sociobiology*, 65(4), 679-685.
- Moretti CJ, Costa CP, Franco TM. (2018). Wing morphometrics reveals the migration patterns of Africanized honey bees in Northeast Brazil. *Sociobiology*, 65(4), 679-685.
- Moretti, C. J. (2014). **Dinâmica populacional em populações de abelhas Africanizadas (*Apis mellifera* L.) no Nordeste brasileiro**. 2014. 132p. Dissertação (Mestrado em Ciência) - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. 2014.
- Moritz, R. F. A. (1988). A reevaluation of the two-locus model for hygienic behavior in honeybees (*Apis mellifera* L.). *Journal of Heredity*, 79(4), 257-262.
- Newton, D. C.; Ostasiewski JR., N. J. (1986) A simplified bioassay for behavioral resistance to American foulbrood in honey bees (*Apis mellifera* L.). *American Bee Journal*, 126(4) 278-281.
- Nimer, E. **Pluviometria e recursos hídricos de Pernambuco e Paraíba**. Rio de Janeiro: IBGE, 1979. 128 p.
- Nunes, L. A., Araújo, E. D. D., Marchini, L. C., & Moreti, A. C. (2012). Variation morphogeometrics of Africanized honey bees (*Apis mellifera*) in Brazil. *Iheringia. Série Zoologia*, 102, 321-326.
- Oldroyd, B. P. (2012) Domestication of honey bees was associated with expansion. *Molecular Ecology*, 21(18), 4409-4411.
- Oldroyd, B. P., Sheppard, W. S., Stelzer, J. A. (1993). Genetic characterization of the bees of Kangaroo Island, South Australia. *Journal of Apicultural Research*, 31(3-4), 141-148.
- Olinto, F. (2014). **Comportamento higiênico e identificação de patógenos em colmeias de *Apis mellifera* L. africanizadas no Sertão paraibano**. 2014. 62p. Dissertação (Mestrado em Sistemas Agroindustriais) – Universidade Federal de Campina Grande, Pombal, 2014.
- Oliveira, F. F., de Sousa Silva, L. R., Zanella, F. C. V., Garcia, C. T., Pereira, H. L., Quagliarini, C., & Pigozzo, C. M. (2020). A new species of Ceratina (*Ceratinula*) Moure, 1941, with notes on the taxonomy and distribution of Ceratina (*Ceratinula*) manni

Cockerell, 1912, and an identification key for species of this subgenus known from Brazil (Hymenoptera, Apidae, Ceratinini). *ZooKeys*, 1006, 137-165.

Oliveira, F. L. D. (2015). Apicultura no Sertão Paraibano: principais dificuldades, sob a ótica dos pequenos apicultores. 2015. 69p. Dissertação (Mestrado em Sistemas Agroindustriais) – Universidade Federal de Campina Grande, Pombal, 2015.

O'Malley, M. K., Ellis, J. D., & Nalen, C. M. Z. (2009). Differences Between European and African Honey Bees: ENY-147/IN784, 10/2009. *EDIS*, 2009(10).

Panasiuk, B., Skowronek, W., & Bienkowska, M. (2008). Influence of genotype and method of brood killing on brood removal rate in honey bee. *Journal of Apicultural Science*, 52(2), 55-65.

Parejo, M., Wragg, D., Henriques, D., Vignal, A., & Neuditschko, M. (2017). Genome-wide scans between two honeybee populations reveal putative signatures of human-mediated selection. *Animal genetics*, 48(6), 704-707.

Park, D.; Jung, J. W.; Choi, B. S.; Jayakodi, M.; Lee, J.; Lim, J.; Choi, I. Y. (2015) Uncovering the novel characteristics of Asian honey bee, *Apis cerana*, by whole genome sequencing. *BMC Genomics*, 16(1), 1-16.

Park, O. W. (1937). Testing for resistance to American foulbrood in honeybees. *Journal of Economic Entomology*, 30(3), 504-512.

Paula Neto, F. L.; Almeida Neto, R. M. (2006) **Apicultura nordestina: principais mercados, riscos e oportunidades**. Série Documentos do ETENE - Banco do Nordeste do Brasil, Fortaleza, Ceará.

Queiroz, K. (2005). Ernst Mayr and the modern concept of species. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(1), 6600-6607.

Redwood, J. (2012) Clima, sustentabilidade e desenvolvimento em terras secas. *Parcerias Estratégicas*, 17(35), 167-178.

Requier, F., Garnery, L., Kohl, P. L., Njovu, H. K., Pirk, C. W., Crewe, R. M., & Steffan-Dewenter, I. (2019). The conservation of native honey bees is crucial. *Trends in ecology & evolution*, 34(9), 789-798.

Rodal, M. J. N., Martins, F. R., Sampaio, E. V. D. S. B. (2008) Levantamento quantitativo das plantas lenhosas em trechos de vegetação de caatinga em Pernambuco. *Revista Caatinga*, 21(3), 192-205.

Rothenbuhler, W. C. (1964). Behavior genetics of nest cleaning in honey bees. IV. Responses of F 1 and backcross generations to disease-killed brood. *American Zoologist*, 4(2), 111-123.

Rothenbuhler, W. C. (1964). Behaviour genetics of nest cleaning in honey bees. I. Responses of four inbred lines to disease-killed brood. *Animal behaviour*, 12(4), 578-583.

Russo, L., de Keyzer, C. W., Harmon-Threatt, A. N., LeCroy, K. A., & MacIvor, J. S. (2021). The managed-to-invasive species continuum in social and solitary bees and impacts on native bee conservation. *Current Opinion in Insect Science*, 46, 43-49.

Ruttner, F (1988) **Biogeography and Taxonomy of Honeybees**. Springer, New York City, New York.

SÁ, E. S. S. C. G. Caracterização de solos e pedogênese em lagoa temporária no semiárido brasileiro. 2018. 98p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife, 2018.

Santos e Silva, F. A., Souza, D. C., Alves, A. A., Campelo, J. E. G., do Nascimento Bendini, J., Nunes, L. A., Verznigassi, J. R., Paludo, F., Fernandes, P. B., Da Silva, J. R. G., & da Silva, J. Q. (2019). Morfometria geométrica das asas permite verificar o posicionamento racial de abelhas africanizadas. *Pubvet*, 13, 1-7.

Schneider, S. S, Degrandi-Hoffman, G., Smith, D. R. (2004) The African honey bee: factors contributing to a successful biological invasion. *Annual Reviews in Entomology*, 49(1), 351-376.

Silva FL, Sella MLG, Franco TM, Costa AHR. (2015). Evaluating classification and feature selection techniques for honeybee subspecies identification using wing images. *Computers and Electronics in Agriculture*, 114, 68-77.

Silva, Á. L. S., Sosnowski, L. A., & de Campos Velho, N. M. (2006). Avaliação preliminar do comportamento higiênico sanitário em colmeias da empresa ser *Apis*, coletadas no Vale do Paraíba. X Encontro Latino-Americano de Iniciação Científica e VI Encontro Latino-Americano de Pós-Graduação. Anais do VI Encontro Latino-Americano de Pós-Graduação, São José dos Campos-SP.

- Silva, F. A. S, Souza, D. C., Alves, A. A., Campelo, J. E. G., do Nascimento Bendini, J., Nunes, L. A., Verzignassi, J. R., Paludo, F., Fernandes, P. B., Da Silva, J. R. G., & da Silva, J. Q. (2019). Morfometria geométrica das asas permite verificar o posicionamento racial de abelhas africanizadas. *Pubvet*, 13, 1-7.
- Slice, D. E. (2006). *Modern morphometrics in physical anthropology*. Springer Science & Business Media.
- Spivak, M., & Danka, R. G. (2021). Perspectives on hygienic behavior in *Apis mellifera* and other social insects. *Apidologie*, 52, 1-16.
- Spivak, S.; Gilliam, M. (1998) Hygienic behaviour of honey bees and its application for control of brood diseases and varroa Part I. Hygienic behaviour and resistance to American foulbrood. *Bee World* 79,124-134.
- Spivak, S.; Reuter, G. S. (1998) Honey bee hygienic behavior. *American Bee Journal*, 138, 283-286.
- SUDENE. Superintendência para o Desenvolvimento do Nordeste. Nova delimitação Semiárido. Recife: SUDENE, 2017. 63p.
- Taylor, O. R. (1985) "African bees: potential impact in the United States". *Bulletin of the ESA*, 31(4), 15-24.
- Teixeira, M. N. (2016) O sertão semiárido. Uma relação de sociedade e natureza numa dinâmica de organização social do espaço. *Sociedade e Estado*, 31(3), 769-797.
- The Honeybee Genome Sequencing Consortium. (2006) Insights into social insects from the genome of the honey bee *Apis mellifera*. *Nature*, 443, 931-949, 2006
- Toledo, E. R., Leandro, R. A., Souza Junior, C. L., Souza, A. P. (2008) Mapeamento de QTLs: uma abordagem bayesiana. *Revista Brasileira de Biometria*, 26(2), 107-114.
- Vidal, M. D. F. (2020). Evolução da produção de mel na área de atuação do BNB. *Caderno Setorial ETENE*, 5 (112), 1 – 10.
- Vidal, M. F. (2012) Efeitos da seca de 2012 sobre a apicultura nordestina. *Informe Rural*, 7(2), 1-5.
- Vidal. M. F. (2018) Produção de mel na área de atuação do bnb entre 2011 e 2016. *Caderno Setorial ETENE*. 1(30), 1 – 12.

- Villemant C, Simbolotti G, Kenis M. (2007). Discrimination of *Eubazus* (Hymenoptera, Braconidae) sibling species using geometric morphometrics analysis of wing venation. *Systematic Entomology*, 32(4), p.625-634.
- Whitfield, C. W., Behura, S. K., Berlocher, S. H., Clark, A. G., Johnston, J. S., Sheppard, W. S. & Tsutsui, N. D. (2006). Thrice out of Africa: ancient and recent expansions of the honey bee, *Apis mellifera*. *Science*, 314(5799), 642-645.
- Wilson-Rich, N., Spivak, M., Fefferman, N. H., & Starks, P. T. (2009). Genetic, individual, and group facilitation of disease resistance in insect societies. *Annual review of entomology*, 54, 405-423.
- Winfrey, R. (2010). The conservation and restoration of wild bees. *Annals of the New York academy of sciences*, 1195(1), 169-197.
- Winston, M. L. (1992). The biology and management of Africanized honey bees. *Annual review of entomology*, 37(1), 173-193.
- Zaluski, R., Kadri, S. M., Souza, E. A. D., Silva, V. M. C. D., Silva, J. R. C. D., Rodrigues-Orsi, P., & Orsi, R. D. O. (2014). Africanized honeybees in urban areas: a public health concern. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 47, 659-662.
- Zelditch ML, Swiderski DL, Sheets HD, Finf WL. (2004). Geometric morphometrics for biologists: A primer, Elsevier Academic Press, Londres.

**CAPÍTULO I – Ecotypes and racial positioning of Africanized honey bees *Apis mellifera* L. from the Brazilian Semi-Arid region.**

(Artigo de pesquisa original)

**SUBMETIDO NA JOURNAL OF APICULTURAL RESEARCH**

**QUALIS: A2**

**FATOR DE IMPACTO: 2.407**

## **Ecotypes and racial positioning of Africanized honey bees *Apis mellifera* L. from the Brazilian Semi-Arid region**

Ecótipos e posicionamento racial das abelhas africanizadas *Apis mellifera* L. do Semiárido brasileiro.

Edgar Rodrigues de Araujo Neto<sup>1</sup>, Lucas da Silva Moraes<sup>1</sup>, Lorena Andrade Nunes<sup>2,\*</sup>,  
Débora Andréa Evangelista Façanha<sup>4</sup>, Katia Peres Gramacho<sup>1</sup>,

<sup>1</sup>Beekeeping Technological Training Center, Federal Rural University of Semi-Arid – UFERSA, 59625900, Mossoró, Rio Grande do Norte, Brazil.

<sup>2</sup>College of Technology and Sciences – UniFTC, 45204-068, Jéquié, Bahia, Brazil.

<sup>4</sup>University of the International Integration of Afro-Brazilian Lusophony – UNILAB, Rural Development Institute, 62790790, Redenção, Ceará, Brazil

**Resumo:** Diferentes raças de abelhas podem se adaptar a seus habitats específicos, tornando-as mais adequadas para a produção de mel em determinadas condições climáticas e ambientais. Os ecótipos são subpopulações de espécies especificamente adaptadas ao seu habitat. Na apicultura, a escolha de ecótipos apropriados pode ter grande influência na produção e sanidade das colônias de abelhas. As abelhas africanizadas são um poli híbrido adaptado ao clima tropical, resistente a doenças e com alta capacidade de defesa contra predadores. Essas abelhas têm sido amplamente utilizadas na apicultura em regiões tropicais, como a América Latina. Por outro lado, as abelhas europeias possuem ecótipos mais adaptados a climas temperados, e são menos agressivas do que as africanizadas. A escolha do ecótipo correto pode influenciar a produtividade, a qualidade do mel e a resistência da colônia a doenças e parasitas. Portanto, é importante que os apicultores considerem as características dos diferentes ecótipos antes de selecionar as abelhas para suas colônias. a região semiárida pode apresentar ecótipos adaptados às condições climáticas e ambientais específicas desse bioma, a caatinga. Esta região apresenta condições adversas para a sobrevivência de muitas espécies de animais e plantas, sendo as abelhas africanizada *Apis mellifera* L. uma exceção devido à sua grande capacidade de adaptação como às condições de escassez de água e baixa umidade relativa do ar. De fato, estudos mostram que as abelhas africanizadas, são capazes de se adaptar ao clima semiárido devido a mecanismos de termorregulação e enxameação, características herdadas da espécie africana originária. Com isso, técnicas morfométricas estão sendo utilizadas para identificar a formação de ecótipos e investigar o posicionamento racial das populações de abelhas africanizadas. Portanto, o presente estudo teve como objetivo avaliar a existência de ecótipos localmente adaptados de

populações de abelhas africanizadas em diferentes localidades do semiárido. Para isso, foi utilizado a morfometria geométrica de asas para identificar a existência de padrões de variação de forma e tamanho em abelhas africanizadas em relação aos ecótipos. O presente estudo utilizou amostras de abelhas operárias adultas que foram coletadas de 20 municípios em 8 estados que abrangem o semiárido brasileiro, totalizando 1970 amostras analisadas. Destas abelhas, asas direitas foram analisadas os 19 marcos anatômicos, aplicando validação cruzada, a análise de variáveis canônicas e distâncias de Mahalanobis. A análise da forma junto as análises multivariadas da asa permitiram observar que existe diferença estatística entre as populações de abelhas africanizadas no semiárido ( $p < 0.01$ ). Os ecótipos mais similares são Piauí e Minas Gerais, enquanto os mais distantes são Sergipe e Ceará. O ecótipo de Sergipe apresentou uma menor distância genética da população africana, consequentemente uma maior similaridade com as abelhas africanas puras (*Apis mellifera scutellata*), diferindo dos demais estados. Essas variações podem ser atribuídas a diversos fatores, como por exemplo, a introdução de outras subespécies em cada estado.

**Palavras-chave:** Morfometria Geométrica. Padrões de Asa. Ecótipos. Semiárido.

## 1. Introdução

As abelhas *Apis mellifera* L. estão amplamente distribuídas no mundo e se dividem em quatro ramos biogeográficos, os quais são; Ramo A, África do Sul e Central; Ramo M, da Europa Ocidental e Norte da África; Ramo C, Norte do Mediterrâneo e o Ramo O com as subespécies do Oriente Próximo e do Oriente Médio (RUTTNER *et al.*, 1978; RUTTNER, 1988) (Figura 1). Porém, muitas subespécies não estão ou ainda não podem ser classificadas em ramos, como é o caso da abelha africanizada por tratar-se de um poli híbrido.



**Figura 1.** Localização geográfica das subespécies das abelhas *Apis mellifera* (Franck *et al.*, 1998 modificado por Grassi, 2009).

Em 1956, o Dr. Keer introduziu rainhas africanas *Apis mellifera scutellata* no Brasil, onde elas de forma acidental foram liberadas no meio ambiente e acabaram se cruzando com abelhas europeias que haviam sido trazidas para o país pelos jesuítas no século XIX (KENT, 1988; GUZMÁN-NOVOA, *et al.* 2011). Esse cruzamento gerou um poli híbrido conhecido como abelhas africanizadas, que apresentam maior semelhança com as abelhas africanas do que com as europeias. Esse fator foi crucial para a capacidade adaptativa dessas abelhas (WINSTON, 1992; SCHNEIDER *et al.*, 2004; CALFEE *et al.*,

2020). Segundo Garcia & Couto (2005) o sucesso da adaptação das abelhas africanas ao Brasil está atrelado as condições ambientais semelhantes às encontradas na África e as vantagens adaptativas voltadas à prole, garantindo assim uma expansão mais eficiente destas populações pelas Américas. O semiárido do Brasil é uma região com características muito semelhantes ao ambiente africano. Ainda no nordeste brasileiro é possível encontrar uma linhagem pura de abelhas italianas (*Apis mellifera linguistica*), essa população ainda se mantém devido a localização geográfica, estando situada na ilha de Fernando de Noronha, porém, com a recente criação da Associação Nacional de Apicultores, Criadores de Abelhas Melíferas Italianas-ANACINI, material genético desta população vem sendo introduzida no continente, muitas vezes sem controle.

A região do semiárido brasileiro é descrita por vários autores como ocupando 1.128.697 km<sup>2</sup>, o que representa 18,2% do território nacional, com a maior parte situada no Nordeste (ARAÚJO, 2011; SUDENE, 2017). De acordo com Paula Neto e Almeida Neto (2006), o nordeste brasileiro é reconhecido por sua vasta área de semiárido. A região semi-árida é composta por dez estados brasileiros: Maranhão, Bahia, Ceará, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe, Rio Grande do Norte, Piauí e parte de Minas Gerais. Embora ainda não seja muito explorada, esta região apresenta uma grande diversidade floral e um microclima único. O semiárido é uma região caracterizada por períodos prolongados de estiagem, altas temperaturas e baixa umidade relativa do ar. Essas condições podem afetar negativamente a produção de mel e a sobrevivência das abelhas.

Com o desenvolvimento da apicultura e as dificuldades encontradas no clima semiárido, tornou-se essencial compreender a origem do animal que estamos estudando. É possível contornar esses desafios com a adoção de algumas medidas específicas. Por exemplo, é importante escolher ecótipos, que são indivíduos da mesma subespécie que diferem unicamente em alguns caracteres morfológicos e que se encontram adaptados às condições locais (HAIG *et al.*, 2006), como é o caso das abelhas africanizadas adaptadas as condições do Semiárido brasileiro. Também é necessário adotar técnicas de manejo adequadas, como a utilização de colmeias com boa ventilação, a disponibilização de água e alimento suplementar para as abelhas em períodos de seca e a seleção de locais adequados para a instalação das colmeias (DOMINGOS & GONÇALVES, 2014; SANTOS *et al.*, 2016; SANTOS *et al.*, 2017; DOMINGOS *et al.*, 2018).

A produção de mel no Nordeste brasileiro é uma importante atividade econômica, vem gerando renda e empregos para muitas comunidades rurais da região. Apesar das

adversidades climáticas, como a falta de chuvas e altas temperaturas, o Nordeste é responsável por uma significativa parcela da produção nacional de mel (IBGE, 2021). Entre os estados nordestinos, os maiores produtores de mel são o Piauí, Bahia, Ceará e Rio Grande do Norte. Caatinga é um bioma caracterizado por longos períodos de seca e temperaturas elevadas, o que pode afetar negativamente a produção de mel e a sobrevivência das abelhas.

A Caatinga é um bioma que se destaca por apresentar longos períodos de seca e altas temperaturas, o que pode ter um impacto negativo na produção de mel e na sobrevivência das abelhas. Apesar dessas adversidades, a Caatinga é uma região com uma grande diversidade de flora, abrigando diversas espécies de plantas que fornecem néctar e pólen para as abelhas (SILVIA *et al.*, 2018). Com uma grande variedade de fisionomias vegetais, devido à ocorrência de vegetações de transição, é possível encontrar uma grande diversidade de espécies vegetais arbustivas e arbóreas com grande potencial apícola na Caatinga (BENDINI *et al.*, 2021). Algumas dessas espécies são exclusivas da região, como o juazeiro e a baraúna, que podem ser uma importante fonte de alimento para as abelhas durante os períodos de seca. Mesmo com condições ambientais aparentemente adversas, a região Nordeste é a segundo maior produtora de mel do Brasil, ficando atrás apenas da região Sul (VIDAL, 2022).

Para compreender as abelhas africanizadas, é importante investigar entender suas relações filogenias e identificar suas diferentes populações, possibilitando comprovar suas adaptações evolutivas ao ambiente, demonstrando assim a necessidade de trabalhar com seus possíveis ecótipos. Por sua vez, essa informação pode ser usada para desenvolver programas de melhoramento genético e conservação mais eficientes, conforme afirmam Cobey e Schley (2002). Ao manter e perpetuar as linhagens mais resistentes e com as características desejadas, é possível gerar mais viabilidade comercial para esse tipo de estudo. Portanto, compreender a população e a filogenia das abelhas africanizadas é fundamental para desenvolver estratégias de conservação e melhoramento genético e forma de manejo mais eficazes.

Nos últimos anos, uma das maneiras mais utilizada para estudos de populações é a utilização das técnicas de genômica, a qual tem como função sequenciar os nucleotídeos, mapear e analisar os genomas das espécies (LECLERCQ *et al.*, 2018). Mas vale ressaltar que apesar da genômica possuir destaque, não é a única forma de realizar este tipo de estudo, com isso a morfometria geométrica de asas surge como uma

alternativa simples, rápida e de baixo custo, com resultados chegando a taxas de 99,5% de acerto na identificação de ecótipos africanizados (FRANCOY, 2008) e podemos reafirmar a eficiência da mesma como no trabalho de Henriques *et al* (2020) o qual realizaram o estudo populacional das *Apis mellifera iberiensis* utilizando SNPs e morfometria geométrica de asa, obtendo como resultado a capacidade da morfometria geométrica das asas capturar padrões genéticos complexos, oferecendo uma alternativa confiável e de baixo custo para estimativa preliminar da estrutura populacional.

O presente estudo tem como objetivo identificar se as populações de abelhas africanizadas do Semiárido brasileiro diferem entre si, e qual seria o posicionamento racial destas populações. Nossas principais expectativas são que as populações de estudo formem ecótipos devido as distancias geográficas e que seja possível identificar o posicionamento racial de cada população estudada.

## **2. Material e Métodos**

### **Amostragem**

As coletas das amostras foram realizadas em 2 anos – de outubro de 2020 a novembro de 2022 – Foram amostradas 20 municípios em 8 estados situados no Semiárido brasileiro: Monte Alegre de Sergipe, Nossa Senhora da Glória e Porto da Folha, estado de Sergipe; Mossoró, Portalegre e Alto do Rodrigues, no Rio Grande do Norte; Pacajus, Independência e Parambu, Ceará; Central, Irecê e Tucano, na Bahia; Santa Cruz do Piauí, Vera Mendes e Patos do Piauí, no estado do Piauí; Gameleiras, Janaúba e Porteirinha, em Minas Gerais; Arara, na Paraíba e Piranhas em Alagoas (Tabela 1). Em cada município foram amostradas 10 colmeias de um apiário e coletados 10 operarias por colmeia, totalizando 100 operarias por município e 300 por estado. Alguns estados tiveram a metodologia adaptada reduzindo o número de colônias e apiários analisados devido a disponibilidade dos produtores, chegando a um total de 1970 amostras analisadas.

**Tabela 1.** Localizações, coordenadas e número de amostras de abelhas africanizadas utilizados no estudo.

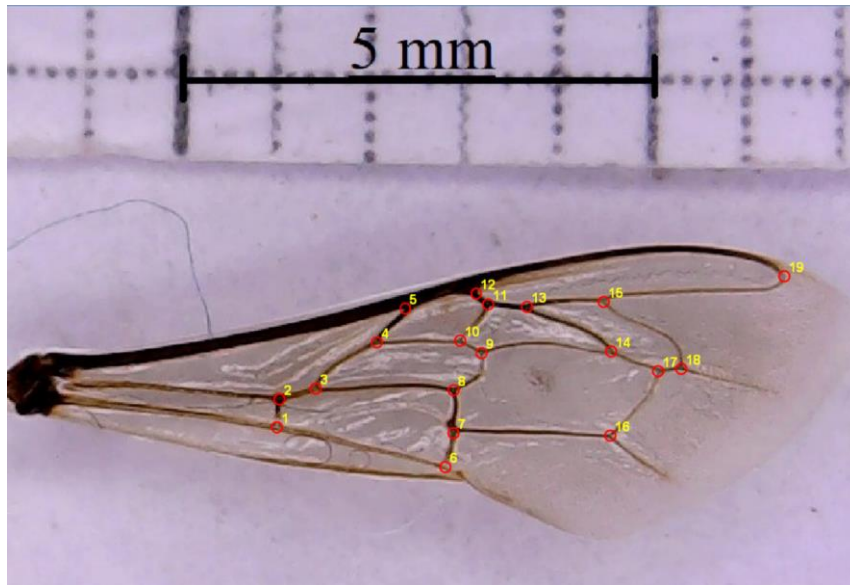
| Localizações                       | Coordenadas geográficas |               | Número de amostras |
|------------------------------------|-------------------------|---------------|--------------------|
|                                    | Latitude                | Longitude     |                    |
| <b>Monte Alegre de Sergipe, SE</b> | 10°01'37" S             | 37°33'43" W   | 100                |
| <b>Nossa Senhora da Glória, SE</b> | 10°13'06" S             | 37°25'13" W   | 100                |
| <b>Porto da Folha, SE</b>          | 9° 54' 34" S            | 37° 16' 41" W | 100                |
| <b>Mossoró, RN</b>                 | 5° 11' 17" S            | 37° 20' 39" W | 100                |
| <b>Portalegre, RN</b>              | 6° 1' 28" S             | 37° 59' 4" W  | 100                |
| <b>Alto do Rodrigues, RN</b>       | 5° 17' 16" S            | 36° 45' 43" W | 100                |
| <b>Pacajus, CE</b>                 | 4° 10' 26" S            | 38° 27' 50" W | 100                |
| <b>Independência, CE</b>           | 5° 23' 33" S            | 40° 17' 59" W | 100                |
| <b>Parambu, CE</b>                 | 6° 12' 34" S            | 40° 41' 41" W | 100                |
| <b>Central, BA</b>                 | 11° 08' 09" S           | 42° 06' 46" W | 100                |
| <b>Irecê, BA</b>                   | 11° 17' 60" S           | 41° 51' 24" W | 100                |
| <b>Tucano, BA</b>                  | 10° 57' 45" S           | 38° 47' 25" W | 100                |
| <b>Santa Cruz do Piauí, PI</b>     | 7° 11' 7" S             | 41° 46' 7" W  | 90                 |
| <b>Vera Mendes, PI</b>             | 7° 36' 10" S            | 41° 28' 58" W | 100                |
| <b>Patos do Piauí, PI</b>          | 7° 39' 60" S            | 41° 14' 10" W | 100                |
| <b>Gameleiras, MG</b>              | 15° 04' 55" S           | 43° 07' 26" W | 100                |
| <b>Janaúba, MG</b>                 | 15° 47' 50" S           | 43° 18' 31" W | 100                |

|                        |               |               |             |
|------------------------|---------------|---------------|-------------|
| <b>Porteirinha, MG</b> | 15° 44' 38" S | 43° 1' 29" W  | 100         |
| <b>Arara, PB</b>       | 6° 49' 58" S  | 35° 44' 56" W | 100         |
| <b>Piranhas, AL</b>    | 9° 35' 59" S  | 37° 45' 31" W | 80          |
| <b>Total</b>           |               |               | <b>1970</b> |

Para análise morfométricas das subespécies originárias, foram utilizados os padrões de venação das asas anteriores das subespécies *Apis mellifera ligustica*, *Apis mellifera carnica*, *Apis mellifera* e *Apis mellifera scutellata* que foram obtidas a partir de imagens digitais cedidas do banco de dados do Dr. Tiago Maurício Franco professor da Escola de Artes, Ciências e Humanidades da Universidade de São Paulo.

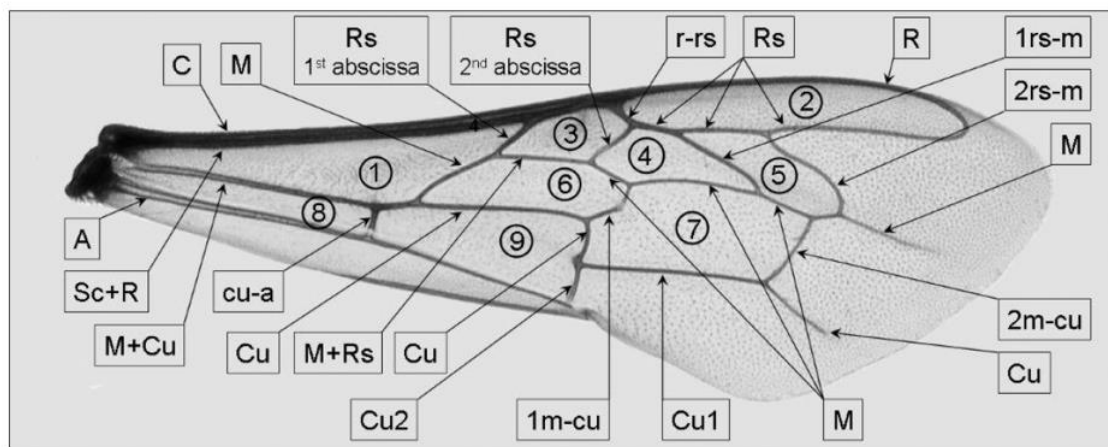
### **Análises morfométricas**

Foram utilizadas asas anteriores direitas de 1970 operárias, as asas de cada uma foram removidas com uma pinça, fixadas com esmalte incolor a uma lâmina de microscópio previamente montada em uma escala de 5 mm e fotografadas com uma lupa portátil acoplada a um notebook. Os dezenove marcos anatômicos utilizado por Franco *et al.* (2008), foram plotados nas interseções das nervuras das asas (Figura 2) usando o programa tpsDig2 versão 2.64, as imagens foram alinhadas pela análise generalizada de Procrustes (GPA) e o tamanho do centróide obtidos com o auxílio do software MorphoJ (KLINGENBERG, 2016).



**Figura 2.** Asa mesotorácica direita de *Apis mellifera* com os 19 marcos anatômicos plotados nas intersecções das asas da abelha africanizada *Apis mellifera* L.

Cada nervura possui sua identificação, e a estrutura de nervuras geralmente apresenta-se formando células fechadas que também recebem nomes específicos, (Porporato *et al.*, 2014) (Figura 3), facilitando assim a identificação das deformações apontadas com a morfometria geométrica.



**Figura 3.** Asa mesotorácica direita de *Apis mellifera* mostrando uma nervura regular com células definidas por veias longitudinais e transversais, as últimas são indicadas por duas letras indicando quais veias longitudinais elas conectam (veia anterior primeiro, depois posterior) e abreviadas por letras minúsculas. 1: célula radial; 2: célula marginal; 3: 1<sup>a</sup>

célula submarginal; 4: 2ª célula submarginal; 5: 3ª célula submarginal; 6: 1ª célula medial; 7: 2ª célula medial; 8: 1ª célula cubital; 9: 2ª célula cubital. A: veia anal; C: veia costal; Cu: veia cubital; M: veia medial (basal); D: veia radial; Rs: setor radial; Sc: veia subcostal. A célula costal entre as veias C e Sc+M é tão reduzida que parece praticamente ausente. Imagem retirada de Porporato *et al.* (2014).

Utilizamos os softwares MORPHOJ e PAST, para realizar análise de Variáveis Canônicas (AVC), potencializando a variação entre as populações estudadas explicada por cada variável canônica, testando se as médias destes grupos são significativamente diferentes e posteriormente, possibilitando a identificação das similaridades entre eles. Os dados foram apresentados em gráficos de dispersão bidimensionais, tendo cada um dos seus eixos representando uma variável canônica, facilitando assim a interpretação geométrica.

Para medir a confiabilidade dos resultados, evitando os erros de medição, quantificamos o erro de medição, analisando um grupo de asas três vezes em dias três dias distintos, feita as medições, foi aplicado uma ANOVA de Procrustes para identificar o desvio de erros de medição aleatórios entre as repetições. Além de quantificar o erro de medição, foi realizado o teste de Validação Cruzada (Cross-Validation), o qual analisa os percentuais de alocação correta dos indivíduos em seus respectivos grupos. O teste de Validação Cruzada foi realizado com o programa PAST.

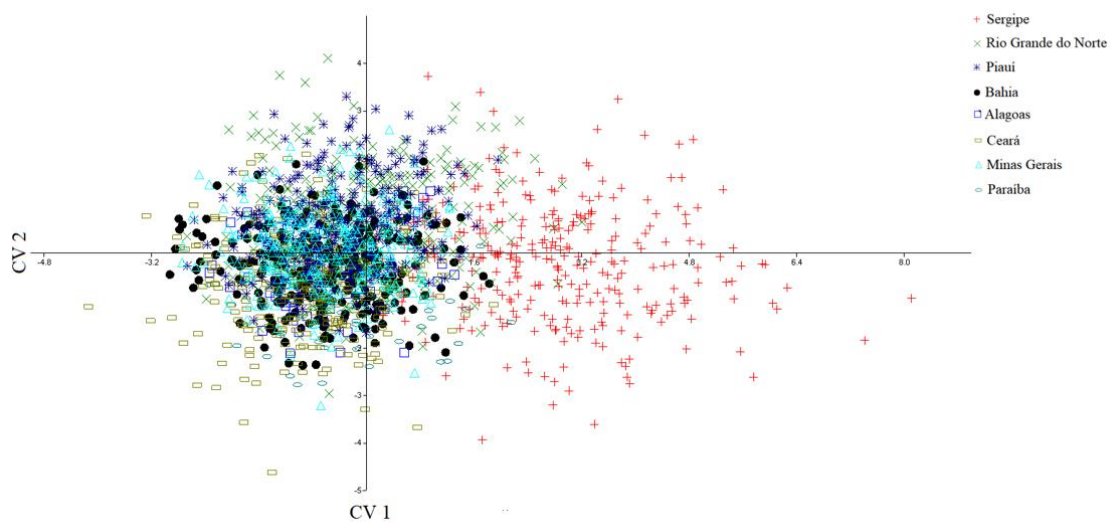
Utilizando o método da ligação média entre grupos não ponderado, mais conhecido como UPGMA (Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic Averages), junto a distância Mahalanobis  $D^2$ , obtivemos um dendrograma, onde a distância intergrupos foi obtida pela média das distâncias pareadas dos integrantes dos grupos estudados.

### **3. Resultados**

3.1. Ecótipos de abelhas africanizadas localmente adaptados em diferentes localidades do semiárido brasileiro.

Os resultados encontrados com as análises de população das abelhas africanizadas do Semiárido brasileiro, por meio da morfometria das asas, demonstraram que 7 variáveis foram suficientes para determinar 100% da variação total, tendo sido identificada 76% da variação já nas duas primeiras variáveis. A variável canônica 1 (65,65%) foi a responsável

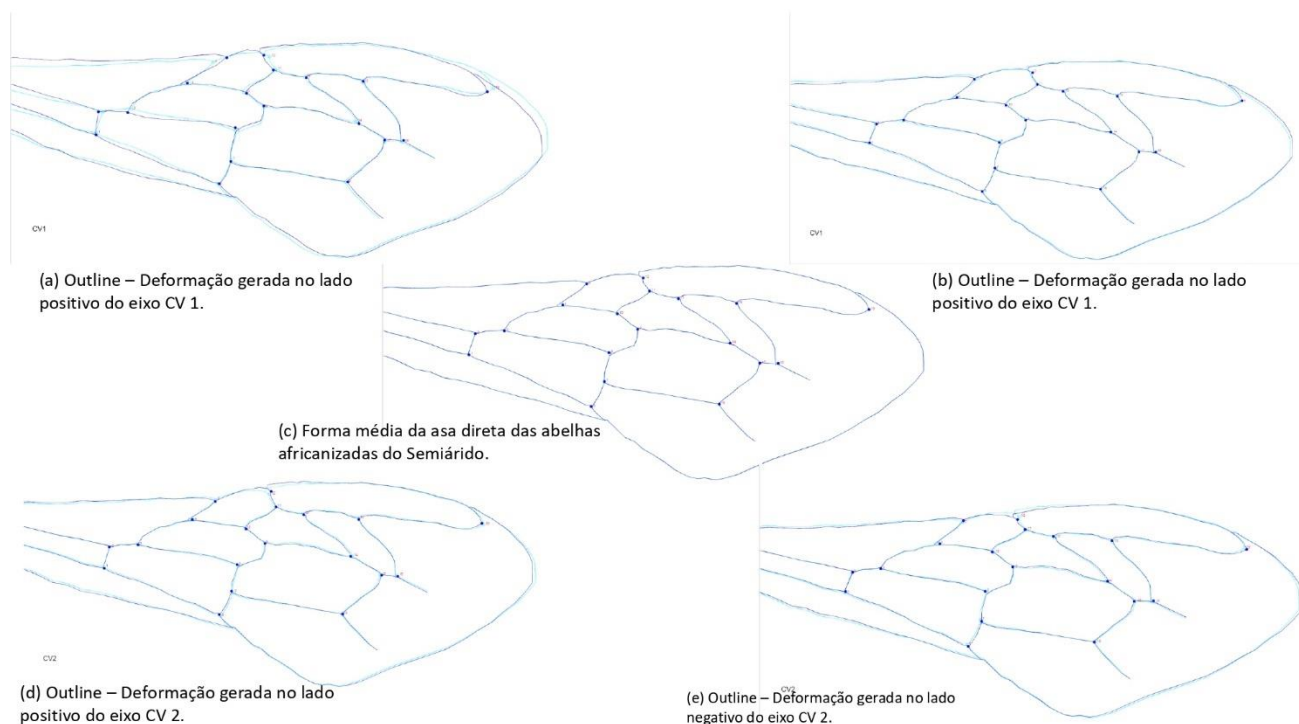
por diferenciar a população de abelhas africanizadas do semiárido de Sergipe, localizadas no eixo positivo, das populações de abelhas africanizadas do semiárido do Ceará, Bahia, Alagoas e Minas Gerais, todas situadas no eixo negativo da variável canônica 1. Já a variável canônica 2 (10,40%) conseguiu diferenciar, no seu eixo positivo, as populações do Semiárido do Rio Grande do Norte e Piauí, da população de abelhas africanizadas do semiárido da Paraíba, no eixo negativo (Figura 4).



**Figura 4.** Gráfico de dispersão das populações de abelhas africanizadas *Apis mellifera* L. situadas no Semiárido Brasileiro em relação ao eixo cartesiano estabelecido pelas variáveis canônicas (CV 1, CV 2) obtido a partir da morfometria geométrica das asas.

Para identificar quais áreas das asas são responsáveis pela diferença entre as populações, foram geradas grades de deformação da forma média (Figura 4). Partindo da forma média (Figura 5.c), foi identificada na população situada no eixo positivo da variável canônica 1 (Figura 5.a) que a célula radial se comprime no ponto 2 e se expande no ponto 5, além da célula radial, foram encontradas deformações na célula radial, 1º medial e na célula marginal, todas sofreram compressão. O oposto ocorreu no eixo negativo da variável canônica 1 (Figura 4.b), o que se comprime no eixo negativo, se expande no eixo positivo, identificando as deformações responsáveis por diferenciar a população de Sergipe das populações do Ceará, Bahia, Alagoas e Minas Gerais.

Os resultados do eixo positivo da variável canônica 2 (Figura 5.d), no qual se encontra as populações do Rio Grande do Norte e Piauí, foram identificadas deformações apenas na 1ª célula submarginal, a qual se expande no ponto 12, ocorrendo o oposto na população da Paraíba, situada no eixo negativo da variável canônica 2 (Figura 5.e), o ponto 12 que se comprime no eixo negativo, gera uma deformação da célula marginal, identificando assim um possível padrão de diferenciação entre as populações.



**Figura 5.** Variação média da forma das asas de diferentes populações de abelhas africanizadas *Apis mellifera* L. do Semiárido brasileiro. O contorno em azul claro significa a forma média da asa anterior direita, a forma padrão, e o contorno azul escuro refere-se a forma de asa anterior direita da abelha no respectivo a deformação referente a sua variável canônica, tanto no eixo positivo como no negativo.

Com a validação cruzada foi encontrada diferença estatística entre todas as populações estudadas (Tabela 2). Os resultados apontam que apesar de todas os indivíduos estudados terem sido de abelhas africanizadas, cada população tem suas particularidades, o que possibilitou a sua diferenciação com a morfometria geométrica de

asas. As populações com maior similaridade foram Piauí e Rio Grande do Norte (68%) e as populações que mais diferiram foi Sergipe e Ceará (94%).

**Tabela 2.** Classificação das amostras em porcentagem dentro de suas respectivas populações gerada a partir da análise de validação cruzada.

| Populações                         | Validação cruzada (%) | P-Value                            |
|------------------------------------|-----------------------|------------------------------------|
|                                    |                       | Mahalanobis distance( $p < 0.01$ ) |
| Alagoas x Bahia                    | 76%                   | <.0001                             |
| Alagoas x Ceará                    | 78%                   | <.0001                             |
| Alagoas x Minas Gerais             | 80%                   | <.0001                             |
| Alagoas x Paraíba                  | 72%                   | <.0001                             |
| Alagoas x Piauí                    | 73%                   | <.0001                             |
| Alagoas x Rio Grande do Norte      | 79%                   | <.0001                             |
| Alagoas x Sergipe                  | 91%                   | <.0001                             |
| Bahia x Ceará                      | 71%                   | <.0001                             |
| Bahia x Minas Gerais               | 80%                   | <.0001                             |
| Bahia x Paraíba                    | 77%                   | <.0001                             |
| Bahia x Piauí                      | 72%                   | <.0001                             |
| Bahia x Rio Grande do Norte        | 76%                   | <.0001                             |
| Bahia x Sergipe                    | 92%                   | <.0001                             |
| Ceara x Minas Gerais               | 74%                   | <.0001                             |
| Ceara x Paraíba                    | 84%                   | <.0001                             |
| Ceara x Piauí                      | 79%                   | <.0001                             |
| Ceara x Rio Grande do Norte        | 77%                   | <.0001                             |
| Ceara x Sergipe                    | 94%                   | <.0001                             |
| Minas gerais x Paraíba             | 83%                   | <.0001                             |
| Minas Gerais x Piauí               | 69%                   | <.0001                             |
| Minas Gerais x Rio Grande do Norte | 74%                   | <.0001                             |
| Minas Gerais x Sergipe             | 92%                   | <.0001                             |

|                               |     |        |
|-------------------------------|-----|--------|
| Paraíba x Piauí               | 83% | <.0001 |
| Paraíba x Rio Grande do Norte | 80% | <.0001 |
| Paraíba x Sergipe             | 93% | <.0001 |
| Piauí x Rio Grande do Norte   | 68% | <.0001 |
| Piauí x Sergipe               | 91% | <.0001 |
| Rio Grande do Norte x Sergipe | 87% | <.0001 |

Com a Distância de Mahalanobis encontramos diferenças estatísticas ( $p < 0.01$ ) entre todas as populações e identificamos quais populações são mais próximas umas das outras, demonstrando assim a formação de ecótipos adaptados a cada região semiárida estudada (Tabela 3).

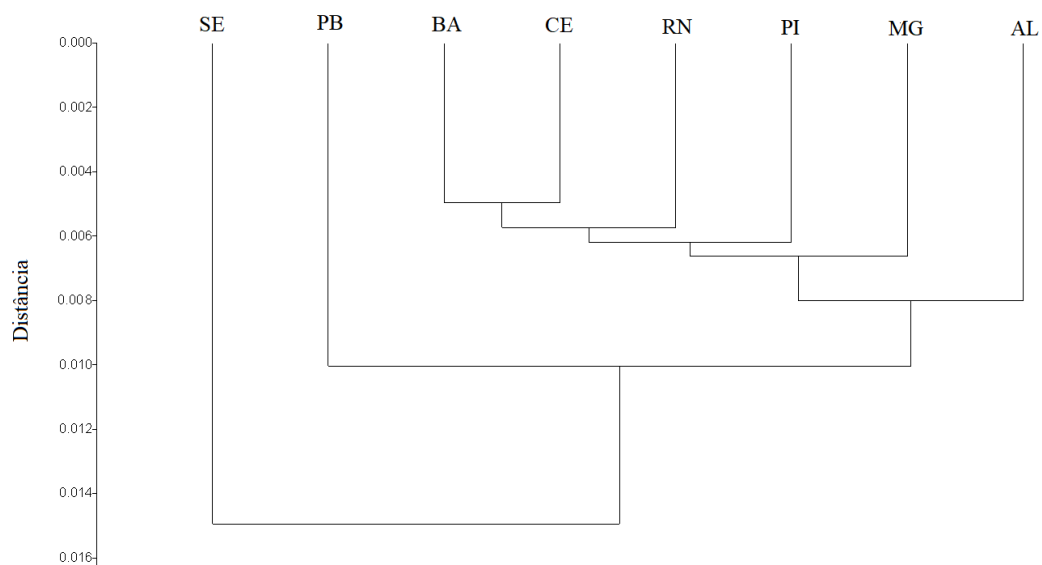
**Tabela 3.** Diferenças estatísticas das distâncias quadradas de Mahalanobis (diagonal superior) e Distâncias quadradas de Mahalanobis (diagonal inferior) entre as populações de abelhas africanizadas *Apis mellifera* L. de diferentes regiões do Semiárido brasileiro obtidas a partir da análise das variáveis canônicas. \*AL – Alagoas, BA – Bahia, CE – Ceará, MG – Minas Geras, PA – Paraíba, PI – Piauí, RN – Rio Grande do Norte, SE – Sergipe.

|           | AL     | BA     | CE            | MG            | PB     | PI     | RN     | SE     |
|-----------|--------|--------|---------------|---------------|--------|--------|--------|--------|
| <b>AL</b> |        | <.0001 | <.0001        | <.0001        | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 |
| <b>BA</b> | 1,6872 |        | <.0001        | <.0001        | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 |
| <b>CE</b> | 1,6037 | 1,2709 |               | <.0001        | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 |
| <b>MG</b> | 1,7995 | 1,2771 | 1,3891        |               | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 |
| <b>PB</b> | 1,8823 | 1,8521 | 1,9826        | 1,8953        |        | <.0001 | <.0001 | <.0001 |
| <b>PI</b> | 1,5007 | 1,3508 | 1,5646        | <b>1,2043</b> | 2,1844 |        | <.0001 | <.0001 |
| <b>RN</b> | 1,8359 | 1,4875 | 1,7453        | 1,4689        | 1,9893 | 1,1871 |        | <.0001 |
| <b>SE</b> | 3,6351 | 3,4871 | <b>3,7616</b> | 3,5258        | 3,5331 | 3,3203 | 3,0522 |        |

A população de abelhas africanizadas de Sergipe foi a que apresentou maior distância entre outras populações. Sergipe teve como população mais próxima a do estado do Rio Grande do Norte e mais distante a população do Ceará. As populações com maior proximidade foram Piauí e Minas Gerais. Alagoas teve como população mais próxima a população do Piauí. A população da Bahia teve maior proximidade com a do Ceará, já a

população do Ceará foi mais similar à de Minas Gerais e a população de abelhas africanizadas da Paraíba apresentou maior proximidade com a população da Bahia. (Tabela 3)

Por fim, utilizamos a análise de agrupamento UPGMA (Figura 6) com base na AVC, para demonstrar a formação grupos distintos por estado, demonstrando no dendrograma quais possuem maior similaridade. O resultado da análise de agrupamento alcançou uma correlação cofenética de 96%, garantindo assim que mesmo se tratando do mesmo poli híbrido cada população situada em diferentes regiões do semiárido brasileiro são diferentes, formando assim ecótipos por região.

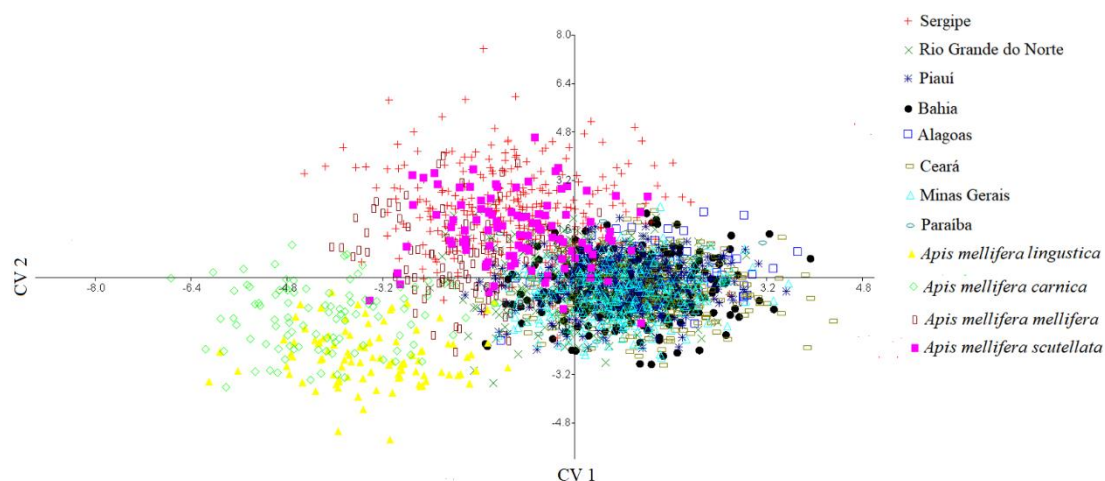


**Figura 6.** Dendrograma gerado pelo UPGMA ilustrando as médias de distâncias morfométricas entre as diferentes populações de abelhas africanizadas *Apis mellifera* L. do Semiárido brasileiro. AL – Alagoas, BA – Bahia, CE – Ceará, MG – Minas Gerais, PA – Paraíba, PI – Piauí, RN – Rio Grande do Norte, SE – Sergipe.

### 3.2. Posicionamento racial dos ecótipos de abelhas africanizadas do Semiárido brasileiro.

Com a identificação de ecótipos de abelhas africanizadas em diferentes regiões semiáridas do Brasil, foi possível investigar o posicionamento racial destas populações localmente adaptadas. Utilizando a análise de variáveis canônicas para identificar o posicionamento racial, foram encontradas 11 variáveis responsáveis por 100% da variação total do ecótipos e das raças puras de abelhas *Apis mellifera*. Com as duas primeiras variáveis foi possível determinar 72,59% de toda a variação encontrada.

Com os resultados da primeira variável canônica (46%) as populações de Minas Gerais, Alagoas, Ceara, Ceará, Bahia, Piauí e Paraíba ficaram localizadas no eixo positivo, tendo como contraponto no eixo negativo as populações de abelhas europeias puras, Italianas (*Apis mellifera lingustica*), Alemães (*Apis mellifera mellifera*), Carnicas (*Apis mellifera carnica*), a população da abelha africana (*Apis mellifera scutellata*) e a população de abelhas africanizadas de Sergipe. Os resultados demonstram que a primeira variável canônica foi suficiente para diferenciar quase todos os ecótipos africanizados das raças puras, com exceção da população de Sergipe (Figura 7). O resultado apresentado pela segunda variável canônica (26,54%) foi responsável por separar as raças puras e a população africanizada de Sergipe, tendo no eixo positivo as populações de abelhas alemãs, africanas e africanizadas de Sergipe e no eixo negativo apenas as populações de abelhas carnicas e italianas (Figura 7).



**Figura 7.** Gráfico de dispersão dos ecótipos de abelhas africanizadas *Apis mellifera* L. situados no Semiárido Brasileiro e subespécies de abelhas melíferas (*Apis mellifera*) em relação aos eixos cartesianos estabelecidos pelas variáveis canônicas 1 e 2 obtidos a partir da morfometria das asas.

Realizamos a validação cruzada em todos os indivíduos de cada população estudada, identificando o percentual de classificação dos indivíduos dentro de cada grupo. O resultado encontrado é que todas as populações possuem diferença estatística ( $p < 0.01$ ) (Tabela 4). A população de ecótipos africanizados mais similar as populações africana e alemã foi a de Sergipe, já as italianas apresentaram maior similaridade com as africanizadas da Bahia, Minas Gerais e Rio Grande do Norte. A população das carnicas apresentaram 100% de diferença da maioria dos ecótipos africanizados, menos de Sergipe, apresentando uma porcentagem de 98%.

**Tabela 4.** Classificação das amostras em porcentagem dentro de seus respectivos ecótipos e subespécies de abelhas melíferas (*Apis mellifera*) gerada a partir da análise de validação cruzada.

| Ecótipos x Subespécies                      | Validação cruzada (%) | P-Value                            |
|---------------------------------------------|-----------------------|------------------------------------|
|                                             |                       | Mahalanobis distance( $p < 0.01$ ) |
| Alagoas x <i>Apis mellifera carnica</i>     | 100%                  | <.0001                             |
| Alagoas x <i>Apis mellifera linguistica</i> | 100%                  | <.0001                             |
| Alagoas x <i>Apis mellifera mellifera</i>   | 98%                   | <.0001                             |

|                                                         |      |        |
|---------------------------------------------------------|------|--------|
| Alagoas x <i>Apis mellifera scutellata</i>              | 91%  | <.0001 |
| Bahia x <i>Apis mellifera carnica</i>                   | 100% | <.0001 |
| Bahia x <i>Apis mellifera linguistica</i>               | 98%  | <.0001 |
| Bahia x <i>Apis mellifera mellifera</i>                 | 98%  | <.0001 |
| Bahia x <i>Apis mellifera scutellata</i>                | 92%  | <.0001 |
| <i>Apis mellifera carnica</i> x Ceará                   | 100% | <.0001 |
| <i>Apis mellifera carnica</i> x Minas Gerais            | 100% | <.0001 |
| <i>Apis mellifera carnica</i> x Paraíba                 | 100% | <.0001 |
| <i>Apis mellifera carnica</i> x Piauí                   | 100% | <.0001 |
| <i>Apis mellifera carnica</i> x Rio Grande do Norte     | 100% | <.0001 |
| <i>Apis mellifera carnica</i> x Sergipe                 | 98%  | <.0001 |
| Ceará x <i>Apis mellifera linguistica</i>               | 100% | <.0001 |
| Ceará x <i>Apis mellifera mellifera</i>                 | 98%  | <.0001 |
| Ceará x <i>Apis mellifera scutellata</i>                | 91%  | <.0001 |
| <i>Apis mellifera linguistica</i> x Minas Gerais        | 98%  | <.0001 |
| <i>Apis mellifera linguistica</i> x Paraíba             | 100% | <.0001 |
| <i>Apis mellifera linguistica</i> x Piauí               | 100% | <.0001 |
| <i>Apis mellifera linguistica</i> x Rio Grande do Norte | 98%  | <.0001 |
| <i>Apis mellifera linguistica</i> x Sergipe             | 100% | <.0001 |
| <i>Apis mellifera mellifera</i> x Minas Gerais          | 97%  | <.0001 |
| <i>Apis mellifera mellifera</i> x Paraíba               | 96%  | <.0001 |
| <i>Apis mellifera mellifera</i> x Piauí                 | 97%  | <.0001 |
| <i>Apis mellifera mellifera</i> x Rio Grande do Norte   | 98%  | <.0001 |
| <i>Apis mellifera mellifera</i> x Sergipe               | 96%  | <.0001 |
| Minas Gerais x <i>Apis mellifera scutellata</i>         | 91%  | <.0001 |
| Paraíba x <i>Apis mellifera scutellata</i>              | 93%  | <.0001 |
| Piauí x <i>Apis mellifera scutellata</i>                | 82%  | <.0001 |
| Rio Grande do Norte x <i>Apis mellifera scutellata</i>  | 85%  | <.0001 |
| <i>Apis mellifera scutellata</i> x Sergipe              | 71%  | <.0001 |

Utilizando a distâncias de Mahalanobis para identificar o posicionamento racial dos ecótipos de abelhas africanizadas do Semiárido brasileiro, obtemos os seguintes resultados: Todos os grupos demonstraram diferença estatística significativa ( $p < 0.01$ )

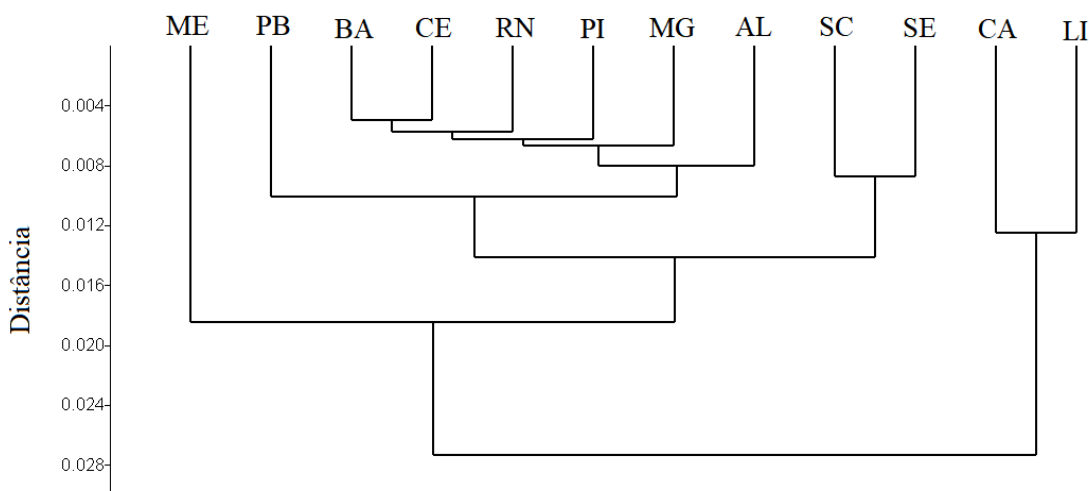
(Tabela 5), sendo assim, todas as populações estudadas apresentaram diferenças morfométricas a partir da forma das asas. Com o presente resultado foi possível identificar o posicionamento racial dos ecótipos do Semiárido brasileiro. Os ecótipos da Bahia, Minas Gerais, Piauí, Ceará, Alagoas e Paraíba apesar de possuírem distâncias diferentes entre as populações puras de abelhas europeias e africana, todos apresentaram o mesmo posicionamento racial, possuindo uma menor distância genética da população africana e respectivamente da alemã, italiana e carnica, vale destacar que o ecótipo do Rio Grande do Norte foi o que apresentou menor distância genética das abelhas italianas puras (Tabela 5).

Diferente de todos os ecótipos estudados, a população de Sergipe apresentou um posicionamento racial diferenciado, apresentando uma menor distância genética da população africana e respectivamente da alemã, carnicas e italianas, diferente de todos os outros ecótipos que apresentaram maior semelhança com as italianas em comparação com as carnicas. Outro resultado importante a destacar foi que o ecótipo de Sergipe é mais próximo geneticamente das abelhas africanas puras do que dos outros ecótipos encontrados nas regiões semiáridas do Brasil.

**Tabela 5.** Diferenças estatísticas das distâncias quadradas de Mahalanobis (diagonal superior) e Distâncias quadradas de Mahalanobis (diagonal inferior) entre os ecótipos de abelhas africanizadas *Apis mellifera* L. de diferentes regiões do Semiárido brasileiro e subespécies de abelhas melíferas (*Apis mellifera*), obtidas a partir da análise das variáveis canônicas. \*AL – Alagoas, BA – Bahia, CE – Ceará, MG – Minas Gérias, PA – Paraíba, PI – Piauí, RN – Rio Grande do Norte, SE – Sergipe, LI – *Apis mellifera lingustica*, ME – *Apis mellifera mellifera*, CA – *Apis mellifera carnica*, SC – *Apis mellifera scutellata*.

|    | AL     | BA     | CA     | CE     | LI     | ME     | MG     | PB     | PI     | RN     | SC     | SE     |
|----|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| AL |        | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 |
| BA | 1,6821 |        | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 |
| CA | 5,9028 | 5,3721 |        | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 |
| CE | 1,6158 | 1,2673 | 5,6117 |        | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 |
| LI | 5,6783 | 5,0484 | 2,5836 | 5,1964 |        | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 |
| ME | 4,8620 | 4,2323 | 4,9283 | 4,5172 | 5,0350 |        | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 |
| MG | 1,7960 | 1,2668 | 5,2083 | 1,3857 | 4,7912 | 4,2177 |        | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 |
| PB | 1,8669 | 1,8472 | 5,6805 | 1,9770 | 5,2913 | 4,3039 | 1,8953 |        | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 |
| PI | 1,4932 | 1,3484 | 5,2091 | 1,5504 | 4,9742 | 4,1967 | 1,1963 | 2,1836 |        | <.0001 | <.0001 | <.0001 |
| RN | 1,8186 | 1,4744 | 4,9336 | 1,7126 | 4,6051 | 3,9323 | 1,4523 | 1,9592 | 1,1802 |        | <.0001 | <.0001 |
| SC | 3,1893 | 3,1973 | 4,7156 | 3,3912 | 5,0899 | 3,6349 | 3,1396 | 3,2263 | 2,7618 | 2,6271 |        | <.0001 |
| SE | 3,5534 | 3,4201 | 4,8806 | 3,6658 | 5,4178 | 3,9778 | 3,4446 | 3,4855 | 3,2490 | 3,0085 | 1,9275 |        |

Usando a análise de agrupamento UPGMA (Figura 8) com base na AVC, verificamos a formação de grupos distintos por região, demonstrando possíveis influências regionais da diferenciação no posicionamento racial de cada ecótipos. A análise de agrupamento UPGMA alcançou uma correlação cofenética de 98%, demonstrando que apesar de próximos, todos os ecótipos estudados são diferentes e possuem suas particularidades.



**Figura 8.** Dendrograma gerado pelo UPGMA ilustrando as médias de distâncias morfométricas entre as diferentes ecótipos de abelhas africanizadas do semiárido brasileiro e subespécies de abelhas melíferas (*Apis mellifera*). AL – Alagoas, BA – Bahia, CE – Ceará, MG – Minas Gérias, PA – Paraíba, PI – Piauí, RN – Rio Grande do Norte, SE – Sergipe, LI – *Apis mellifera lingustica*, ME – *Apis mellifera mellifera*, CA – *Apis mellifera carnica*, SC – *Apis mellifera scutellata*.

#### 4. Discussão

Tratando-se de um trabalho com amostras de um mesmo poli híbrido e região similar, vale justificar o número de variáveis responsáveis pela variação total das populações estudadas. Com nossos resultados 2 variáveis foram suficientes para reunir 76% da variação total das populações de abelhas africanizadas do semiárido brasileiro, diferindo dos resultados encontrados por Nunes *et al.* (2012), tendo 6 variáveis responsáveis por 76% da variação total das populações de abelhas

africanizadas nas 5 regiões do Brasil, essa diferença entre os nossos dados está associada a distribuição geográfica das amostras, o número reduzido de variáveis se dá ao fato de todas as amostras serem oriundas da mesma região, diferente das amostras utilizadas por Nunes, as quais foram oriundas de diferentes regiões do Brasil (qual a diferença). Podemos reafirmar a influência das distâncias geográficas e regionais corroborando nossos resultados com os encontrados por Santos e Silva *et al.* (2019), os quais trabalhando com 3 populações de abelhas africanizadas, sendo 2 de região litorânea e 1 na região semiárida, ambos no Piauí, obtiveram 77,95% da variação total destas 3 populações, demonstrando que quanto mais próximas as populações, menor a quantidade de variáveis necessárias.

Os dados obtidos com as variáveis canônicas possibilitaram a separação de grupos onde Sergipe foi o mais distinto, as populações de abelhas africanizadas do Ceará Minas Gerais Bahia, e Alagoas foram similares entre elas, as populações do Rio Grande do Norte e do Piauí também apresentaram maior similaridade entre elas, e mais afastada a população da Paraíba. Apesar da similaridade todas as populações estudadas apresentaram diferenças estatísticas. Segundo o Guzman-Novoa *et al.* (2020) essa similaridade entre as populações estudadas tem relação ao fato de as abelhas africanizadas estarem entre as abelhas melíferas com maior diversidade genética.

Quando a pesquisa restringe a sua área as regiões semiáridas do Brasil, teoricamente se espera uma homogeneidade maior dos dados, porém, é necessário levar em conta a dimensão continental do Brasil e as diversas variações climáticas do Semiárido brasileiro, tendo variações de temperaturas com mínimas acima de 15° C e as máximas podendo atingir os 40° C e precipitações entre 280 a 800 mm de médias anuais (ARAUJO, 2011). Podemos usar como exemplo prático 2 localidades do presente estudo, o estado do Rio Grande do Norte com o município de Mossoró e o estado de Sergipe com o município de Nossa Senhora da Glória, o qual possui de maio a agosto período chuvoso, diferindo de Mossoró, que no mesmo período passar por escarces de chuva. Essa diferença de fatores climáticos está diretamente ligada as adaptações e o bem-estar das abelhas africanizadas no semiárido (Domingos & Gonçalves, 2014).

Logo, no presente estudo, a distribuição geográfica das amostras dentro de diferentes regiões do semiárido brasileiro, foi fator determinante para os resultados encontrados demonstrando que todas as populações estudadas apesar de similares diferem entre si. Farshineh

*et al.* (2007) em proporção de área geográfica, estudando populações *Apis mellifera anatoliaca*, *Apis mellifera caucasica* e *Apis mellifera meda*, identificaram que as mais *Apis mellifera anatoliaca* e *Apis mellifera caucásica* eram morfometricamente similares e se separavam da *Apis mellifera meda* devido a geografia acidentada do Cáucaso e a montanhosa Anatólia oriental, resultados similares aos nossos, onde as distancias geográficas, diferentes vegetações e fatores ambientais influenciaram na diferenciação das populações estudadas.

Trabalhos científicos apontam como principal fator para formação de ecótipos a distribuição geográfica, levando em considerações fatores como vegetação, diferentes altitudes, condições climáticas e outros (Kekecoglu & Soysal, 2010; Parker *et al.*, 2010; Montero-Mendieta *et al.* 2018) com isso a formação ecótipos em regiões do Brasil se torna fácil devido às suas dimensões continentais, podemos confirmar comparando o volume de amostras do presente trabalho, com o realizado por Charistos *et al.* (2014) a nível de discriminação das populações de abelhas gregas a nível de país. A dimensão territorial do Brasil, facilita a formação de ecótipos africanizados e isso obtivemos como resultado, demonstrando que mesmo localizadas em uma região similar, todas as populações estudadas se diferem formando grupos localmente adaptados.

Nossos resultados demonstram que apesar de diferente, todos os grupos possuem uma certa similaridade, muito se fala da distância geográfica, porém essa similaridade pode estar atrelada há um fator humano, o manejo para apicultura, o qual influencia diretamente nas populações locais. Em países da Europa pesquisas com genômica já identificaram a influência da seleção humana nos genes de abelhas selvagens do gênero *Apis*. No Brasil trabalhos com genoma ainda não foram realizados, porém, nossos resultados apontaram Sergipe como a população mais distantes das outras, isso pode estar atrelado ao baixo nível de profissionalização da apicultura nesta região, pouca utilização da apicultura migratória e consequentemente redução da troca de material genético de forma natural ou por obtenção de rainhas das outras regiões do estudo (Correia-Oliveira *et al.*, 2010; Harpur *et al.*, 2012; Parejo *et al.*, 2017).

Com a grade de deformação foi possível identificar deformações nas asas de cada ecótipo, no de Sergipe ocorreu uma compressão na célula radial, na primeira medial e marginal, o oposto ocorreu nos ecótipos do Ceará, Minas Gerais, Bahia e Alagoas tendo uma expansão na célula radial, primeira medial e marginal. Nos ecótipos do Rio Grande do Norte e Piauí foi possível

observar uma expansão na primeira célula sub marginal, por se tratar de uma variável oposta, a Paraíba apresentou uma compressão na primeira célula sub marginal. nossos resultados apontam um possível padrão de venação nas asas dos diferentes ecótipos de abelhas africanizadas do semiárido brasileiro, necessitando de repetições para validação dos padrões. A identificação de padrões de venação auxiliam na facilitação de estudos futuros, atualmente padrões de venação são já são usados para identificar tipos raciais de abelhas, linhagens de abelhas africanizadas com tendencia a migrações e indicações de comportamentos passíveis de seleção (Francoy *et al.*, 2006; Parejo *et al.*, 2017; Moretti *et al.*, 2018).

Com os resultados da validação cruzada dos indivíduos de cada ecótipo podemos a eficiência na identificação deles, a qual teve uma média de acerto de 80%. Nossa média de acertos diferiram das encontradas em trabalhos como Francoy *et al.* (2008) e Nunes *et al.* (2012) devido ao tipo de população estudada, quando comparadas as abelhas africanizadas com as raças puras europeias e africana a taxa de acerto encontra por Francoy *et al.* (2008) foi de 99,2%, já a encontrada por Nunes *et al.* (2012) foi de 62% utilizando populações geograficamente distantes, oriundas das 5 regiões do Brasil. Nossos resultados demonstram que a proximidade das populações influenciou na taxa de acerto e demonstrou a formação de ecótipos.

Reafirmando a formação dos ecótipos, todas as populações apresentarão diferenças estatísticas na Distância de Mahalanobis. Em relação a Distância de Mahalanobis entre os ecótipos, o ecótipo de Sergipe se apresentou como o ecótipo mais distante de todos, tendo maior distância o ecótipo do Ceará. Os ecótipos mais similares foram o de Minas Gerais e Piauí. Com os dados podemos associar a distância do ecótipo de Sergipe com os demais ao fato já citado anteriormente profissionalização da apicultura, apicultura migratória pouco aplicada, reduzindo troca de material genético de forma natural ou por obtenção de rainhas das outras regiões estudo (Correia-Oliveira *et al.*, 2010). Já a proximidade dos demais ecótipos está ligada ao fator oposto, a exploração da apicultura de forma comercial, utilização da apicultura migratória, troca de matéria genético por venda ou troca de rainhas (DINIZ – FILHO & MALASPINA, 1995; Harpur *et al.*, 2012; Parejo *et al.*, 2017)

A identificação dos ecótipos tornou possível buscar o posicionamento racial de cada um deles. O resultado encontrado apontou que todos os ecótipos possuem maior similaridade com as

abelhas africanas (*Apis mellifera scutellata*), essa proximidade entre abelhas africanizadas e africanas pode ser observada em diferentes pontos das Américas, indo da Califórnia a Buenos Aires, essa predominância está associada a capacidade da abelha africana (*Apis mellifera scutellata*) de produzir mais zangões (Calfee *et al.*, 2020); ao nascimento precoce da rainha; taxa de crescimento do enxame e sua maior sensibilidade a enxameagem, garantindo assim sua dispersão de forma eficiente e rápida (Winston, 1992; Schneider *et al.*, 2004; Calfee *et al.*, 2020). A predominância de alelos africanos na hibridização com populações de ancestrais europeus, resultou em populações poli híbridas que respondem de forma mais eficiente a distúrbios nas colônias (Stort, 1974).

Observando os resultados da validação cruzada, obtivemos uma média de acerto de 96%, chamamos a atenção para os dados encontrados para Bahia, Rio Grande de Norte e Minas Gerais, dos 8 ecótipos estudados, os 3 apresentaram maior similaridade com as abelhas italianas, O resultado da população do Rio Grande do Norte provavelmente está associado a introdução de abelhas italianas oriundas de Fernando de Noronha, recentemente no estado do Rio Grande do Norte foi criada a Associação Nacional de Apicultores, Criadores de Abelhas Melíferas Italianas-ANACINI uma parceria entre os Apicultores do continente e dos apicultores da ilha de Fernando de Noronha, no entanto, observa-se que muitos apicultores ainda fazem a introdução clandestina de abelhas italianas no país, inclusive de países onde tem criação pútrida americana, o que é uma ameaça à nossa apicultura em função da sanidade. Situação similar aconteceu nas ilhas Tenerife, onde foi observado um alto nível de introgressão mitocondrial de raças de abelhas da Europa Oriental, resultado de cruzamentos entre rainhas importadas e zangões nativos, esses cruzamentos aleatórios podem afetar o pool genético das populações nativas e até mesmo causar a extinção de ecótipos bem adaptados (LA RÚA *et al.*, 2002). A introdução de abelhas de outras regiões sem os devidos cuidados pode afetar diretamente os ecótipos já adaptados daquela localidade.

Os ecótipos da Bahia, Minas Gerais, Piauí, Ceará, Alagoas e Paraíba apresentaram o mesmo posicionamento racial, possuindo uma menor distância genética da população africana (*Apis mellifera scutellata*) e respectivamente da alemã (*Apis mellifera mellifera*), italiana (*Apis mellifera linguistica*) e carnica (*Apis mellifera carnica*). O posicionamento racial encontrado no presente trabalho corrobora com o encontrado por Chapman *et al.* (2015) os quais identificaram através de SNP- Polimorfismo de nucleotídeo único que as abelhas africanizadas do Brasil

carregavam alelos africanos em 80,5% dos marcadores em média, sendo 17,8% de alelos da Europa Ocidental e 1,7% da Europa Oriental, seguindo os ramos de Ruttner (1988) as abelhas da Europa Ocidental do ramo C (*Apis mellifera linguistica* e *Apis mellifera carnica*), abelhas da Europa Oriental do Ramo M (*Apis mellifera mellifera*) e a abelha africana o Ramo A (*Apis mellifera scutellata*). Whitfield *et al.* (2006) utilizando SNP- Polimorfismo de nucleotídeo único encontra o mesmo posicionamento racial em abelhas africanizadas, e identifica que apesar de altamente africanizadas, exibiam introgressão com as *Apis mellifera mellifera*. Nossos resultados reafirmam os encontrados por Henriques *et al.* (2020), o qual aponta que morfometria geométrica das asas e SNP- Polimorfismo de nucleotídeo único apresentam resultados similares.

O ecótipo de Sergipe foi o único com um posicionamento racial diferente, apresentando uma menor distância genética da população africana e respectivamente da alemã, carnica e italianas, ainda assim mantendo o posicionamento racial encontrado por Chapman *et al.* (2015) e Whitfield *et al.* (2006). Além de apresentar maior proximidade com as carnicas, o ecótipo de Sergipe demonstrou maior similaridade com as abelhas africanas puras do que com os outros ecótipos. Levando em consideração o fator humano, podemos observar que Sergipe se comparado com os outros locais estudados ainda não possui uma atividade apícola muito desenvolvida, tendo pouca introdução de material genético de fora do estado, sem programas de seleção massal para melhoramento e com poucos apicultores realizando apicultura migratória para outras regiões, esses fatores podem ser os responsáveis pela proximidade do ecótipo de Sergipe com as abelhas africanas puras (SEGURA, 2000; DINIZ – FILHO & MALASPINA, 1995; CORREIA-OLIVEIRA *et al.*, 2010; Vidal, 2022; PAREJO *et al.*, 2017).

Por fim, concluímos com os presentes resultados que as populações de abelhas africanizadas do Semiárido brasileiro apesar de similares possuem diferenças estatísticas (<.0001) formando assim ecótipos localmente adaptados as suas condições ambientais, reafirmando assim a necessidade de preservá-los, sendo os ecótipos mais similares Piauí e Minas Geras e os mais distantes Sergipe e Ceará. Também foi possível identificar diferenças morfológicas nas asas dos diferentes ecótipos, demonstrando assim uma necessidade de estudos futuros.

Com relação ao posicionamento racial, foi possível concluir que os ecótipos da Bahia, Minas Gerais, Piauí, Ceará, Alagoas e Paraíba apresentaram o mesmo posicionamento racial,

possuindo uma menor distancia genética da população africana e respectivamente da alemã, italiana e carnica, ressaltando a proximidade do ecótipo do Rio Grande do Norte com as abelhas italianas (*Apis mellifera linguistica*), possível resultado da introdução das abelhas italianas de Fernando de Noronha no estado do Rio Grande do Norte e em outros lugares. E concluindo com o ecótipo de Sergipe apresentando uma menor distância genética da população africana e respectivamente da alemã, carnicas e italianas, sendo o único com posicionamento racial diferente e possuindo uma maior similaridade com as abelhas africanas puras (*Apis mellifera scutellata*) do que com os ecótipos africanizados.

## 5. Declaração de conflito de interesse

Os autores afirmam que não há conflitos de interesse.

## 6. Referências

- Araújo, S. D. (2011). A região semiárida do nordeste do Brasil: questões ambientais e possibilidades de uso sustentável dos recursos. *Rios Eletrônica-Revista Científica da FASETE*, 5(5), 89-98.
- Bendini, J. N., Souza, D. C., de Barros, R. F. M., Medeiros, S. V., de Abreu, M. C., & Melquíades, C. D. C. V. (2021). Mapping bee flora in honey producing areas of the Alto Médio Canindé microregion in Piauí state, Brazil. *Revista Agro@mbiente On-line*, (15), 1 - 14.
- Calfee, E., Agra, M. N., Palacio, M. A., Ramírez, S. R., & Coop, G. (2020). Selection and hybridization shaped the rapid spread of African honey bee ancestry in the Americas. *PLoS Genetics*, 16(10), e1009038. doi: 10.1371/journal.pgen.1009038
- Chapman, N. C., Harpur, B. A., Lim, J., Rinderer, T. E., Allsopp, M. H., Zayed, A., & Oldroyd, B. P. (2015). A SNP test to identify Africanized honeybees via proportion of ‘African’ ancestry. *Molecular Ecology Resources*, 15(6), 1346-1355. doi: 10.1111/1755-0998.12411
- Charistos, L., Hatjina, F., Bouga, M., Mladenovic, M., & Maistros, A. D. (2014). Morphological discrimination of Greek honey bee populations based on geometric

morphometrics analysis of wing shape. *Journal of Apicultural Science*, 58(1), 75-84. doi: 10.2478/JAS-2014-0007

- Cobey, S.; Schley, P. (2002) Innovations in instrumental insemination. The compact, versatile right and left handed Schley model II instrument. *American Bee Journal*, 142(6), 433-435.
- da Silva, F. T., Alan, D. Â., de Almeida, R. R. P., de Medeiros, A. C., & Maracaja, P. B. (2018). Phytosociological and floristic analysis of caatinga biome in Aparecida, PB, Brazil. *Journal of Agroindustry Systems*, 1(01), 11-23.
- De La Rúa, P., Serrano, J., & Galián, J. (2002). Biodiversity of *Apis mellifera* populations from Tenerife (Canary Islands) and hybridisation with East European races. *Biodiversity & Conservation*, 11, 59-67.
- de Oliveira, E. C., Poderoso, J. C. M., Ferreira, A. F., Ribeiro, G. T., & Araujo, E. D. (2010). Apicultores do Estado de Sergipe, Brasil. *Scientia Plena*, 6(1).
- Diniz-Filho, J.A.F. & Malaspina, O. (1995). Evolution and population structure of Africanized honey bees in Brazil: Evidence from spatial analysis of morphometric data. *Evolution*, 49, 1172-1179. doi: 10.2307/2410442
- Domingos, H. G. T., & Gonçalves, L. S. (2014). Termorregulação de abelhas com ênfase em *Apis mellifera*. *Acta Veterinaria Brasilica*, 8(3), 150-154. doi: 10.21708/avb.2014.8.3.3491
- Domingos, H. G. T., Sombra, D. S., Santos, R. G., Gramacho, K. P., & Gonçalves, L. S. (2018). Surface temperature and heat transfer between body regions of africanized honeybees (*Apis mellifera* L.) in hives under sun and shade conditions in the Northeastern Semi-arid Region of Brazil. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 8(1), 28-35. doi: 10.17265/2161-6256/2018.01.004
- Farshineh Adl, M. B., Gençer, H. V., Firatli, Ç., & Bahreini, R. (2007). Morphometric characterization of Iranian (*Apis mellifera meda*), Central Anatolian (*Apis mellifera anatoliaca*) and Caucasian (*Apis mellifera caucasica*) honey bee populations. *Journal of Apicultural Research*, 46(4), 225-231. doi: 10.1080/00218839.2007.11101399

- Franck, P., Garnery, L., Solignac, M., & Cornuet, J. M. (1998). The origin of west European subspecies of honeybees (*Apis mellifera*): new insights from microsatellite and mitochondrial data. *Evolution*, 52(4), 1119-1134.
- Francoy, T. M., Prado, P. R. R., Gonçalves, L. S., da Fontoura Costa, L., & De Jong, D. (2006). Morphometric differences in a single wing cell can discriminate *Apis mellifera* racial types. *Apidologie*, 37(1), 91-97. doi: 10.1051/apido:2005062
- Francoy, T. M., Wittmann, D., Drauschke, M., Müller, S., Steinhage, V., Bezerra-Laure, M. A., De Jong, D., & Gonçalves, L. S. (2008). Identification of Africanized honey bees through wing morphometrics: two fast and efficient procedures. *Apidologie*, 39(5), 488-494. doi: 10.1051/apido:2008028
- Garcia, R. C., & Couto, R. H. N. (2005). Produção de geléia real por abelhas *Apis mellifera* italianas, africanizadas e descendentes de seus cruzamentos. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 27(1), 17-22.
- Grassi, M. L. **Discriminação morfométrica de 26 subespécies de *Apis mellifera* L. e abelhas africanizadas por técnicas de morfometria tradicional, morfometria geométrica e sistema ABIS de identificação de espécies.** 2009. 121p. Dissertação (Mestrado em Ciência) - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. 2009.
- Guzman Novoa, E., Morfin, N., De la Mora, A., Macías-Macías, J. O., Tapia-González, J. M., Contreras-Escareño, F., Medina-Flores, C. A., Correa-Benítez, A., & Quezada-Euán, J. J. G. (2020). The process and outcome of the africanization of honey bees in Mexico: lessons and future directions. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 404. doi: 10.3389/fevo.2020.608091
- Guzmán-Novoa, E., Benítez, A. C., Montañó, L. G. E., & Novoa, G. G. (2011). Colonización, impacto y control de las abejas melíferas africanizadas en México. *Veterinaria México*, 42(2), 149-178.
- Haig, S. M., Beever, E. A., Chambers, S. M., Draheim, H. M., Dugger, B. D., Dunham, S., & Sheffield, L. M. (2006). Taxonomic considerations in listing subspecies under the US Endangered Species Act. *Conservation Biology*, 20(6), 1584-1594.

- Harpur, B. A., Minaei, S., Kent, C. F., & Zayed, A. (2012). Management increases genetic diversity of honey bees via admixture. *Molecular Ecology*, 21(18), 4414-4421. doi: 10.1111/j.1365-294X.2012.05614.x
- Henriques, D., Chávez-Galarza, J., SG Teixeira, J., Ferreira, H., J. Neves, C., Franco, T. M., & Pinto, M. A. (2020). Wing geometric morphometrics of workers and drones and single nucleotide polymorphisms provide similar genetic structure in the Iberian honey bee (*Apis mellifera iberiensis*). *Insects*, 11(2), 89. doi: 10.3390/insects11020089
- Instituto brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA, 2021.
- Kekecoglu, M., & Soysal, M. I. (2010). Genetic diversity of bee ecotypes in Turkey and evidence for geographical differences. *Romanian Biotechnological Letters*, 15(5), 5646-5653
- Kent, R. B. (1988). The introduction and diffusion of the African honeybee in South America. *Yearbook of the Association of Pacific Coast Geographers*, 50(1), 21-43.
- Klingenberg, C. P. (2016) Tamanho, forma e forma: conceitos de alometria em morfometria geométrica. *Evol.* doi: 10.1007 / s00427-016-0539-2
- Leclercq, G., Francis, F., Gengler, N., & Blacquièrre, T. (2018). Bioassays to quantify hygienic behavior in honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies: a review. *Journal of Apicultural Research*, 57(5), 663-673. doi: 10.1080/00218839.2018.1494916
- Lobo Segura, J. A. (2000). Highly polymorphic DNA markers in an Africanized honey bee population in Costa Rica. *Genetics and Molecular Biology*, 23, 317-322. doi: 10.1590/S1415-47572000000200013
- Montero-Mendieta, S., Tan, K., Christmas, M. J., Olsson, A., Vilà, C., Wallberg, A., & Webster, M. T. (2019). The genomic basis of adaptation to high-altitude habitats in the eastern honey bee (*Apis cerana*). *Molecular Ecology*, 28(4), 746-760. doi: 10.1111/mec.14986
- Moretti, C. J., Costa, C. P., & Franco, T. M. (2018). Wing morphometrics reveals the migration patterns of Africanized honey bees in Northeast Brazil. *Sociobiology*, 65(4), 679-685. doi: 10.13102/sociobiology.v65i4.3403

- Nunes, L. A., Araújo, E. D. D., Marchini, L. C., & Moreti, A. C. (2012). Variation morphogeometrics of Africanized honey bees (*Apis mellifera*) in Brazil. *Iheringia. Série Zoologia*, 102, 321-326.
- Parker, R., Melathopoulos, A. P., White, R., Pernal, S. F., Guarna, M. M., & Foster, L. J. (2010). Ecological adaptation of diverse honey bee (*Apis mellifera*) populations. *PLoS One*, 5(6), e11096. doi: 10.1371/journal.pone.0011096
- Paula neto, F. L.; Almeida Neto, R. M. (2006) Apicultura nordestina: principais mercados, riscos e oportunidades. Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil, 78.
- Porporato, M., Laurino, D., Balzola, L., & Manino, A. (2014). Wing venation teratology in *Apis mellifera* L. *Redia*, 97, 157-163. doi:
- Ruttner, F (1988) Biogeography and Taxonomy of Honeybees. Springer, New York City, New York.
- Ruttner, F., Tassencourt, L., & Louveaux, J. (1978). Biometrical-statistical analysis of the geographic variability of *Apis mellifera* LI Material and methods. *Apidologie*, 9(4), 363-381. doi: 10.1051/apido:19780408
- Santos, F. A., Souza, D. C., Alves, A. A., Campelo, J. E. G., do Nascimento Bendini, J., Nunes, L. A., Verzignassi, J. R., Paludo, F., Fernandes, P. B., Da Silva, J. R. G., & da Silva, J. Q. (2019). Morfometria geométrica das asas permite verificar o posicionamento racial de abelhas africanizadas. *Pubvet*, 13, 150. doi: 10.31533/pubvet.v13n11a453.1-7
- Santos, R. G., da Silva Sombra, D., Domingos, H. G. T., & Gonçalves, L. S. (2016). Acceptance rate of Africanized honey bee larvae in hives maintained in the shade and under full sunlight in Northeast Brazil. *ACTA Apicola Brasilica*, 4(2), 13-16. doi: <http://dx.doi.org/10.18378/aab.v4i2.4648>
- Santos, R. G., Domingos, H. G. T., Gramacho, K. P., & Gonçalves, L. S. (2017). Sombreamento de colmeias de abelhas africanizadas no Semiárido brasileiro. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, 12(5), 828-836. doi: <http://dx.doi.org/10.18378/rvads.v12i5.5407>
- Schneider, S. S., DeGrandi-Hoffman, G., & Smith, D. R. (2004). The African honey bee: factors contributing to a successful biological invasion. *Annual Reviews in Entomology*, 49(1), 351-376. doi: 10.1146/annurev.ento.49.061802.123359

- Stort, A. C. (1974). Genetic study of aggressiveness of two subspecies of *Apis mellifera* in Brazil 1. Some tests to measure aggressiveness. *Journal of Apicultural Research*, 13(1), 33-38. doi: 10.1080/00218839.1974.11099756
- SUDENE. (2017) Superintendência para o Desenvolvimento do Nordeste. Nova delimitação Semiárido. Recife: SUDENE.
- VIDAL, M. D. F. (2020). Evolução da produção de mel na área de atuação do BNB. *Caderno Setorial ETENE*, 5 (112), 1 – 10.
- Vidal, M. D. F. (2022). Mel natural. *Caderno Setorial ETENE*, 7(219), 1 – 14.
- Whitfield, C. W., Behura, S. K., Berlocher, S. H., Clark, A. G., Johnston, J. S., Sheppard, W. S., & Tsutsui, N. D. (2006). Thrice out of Africa: ancient and recent expansions of the honey bee, *Apis mellifera*. *Science*, 314(5799), 642-645. doi: 10.1126/science.1132772.
- Winston, M. L. (1992). The biology and management of Africanized honey bees. *Annual review of entomology*, 37(1), 173-193.

## **CAPÍTULO II – Hygienic behavior and its morphometric divergences**

(Artigo de pesquisa original)

**SUBMETIDO NA JOURNAL OF APICULTURAL RESEARCH**

**QUALIS: A2**

**FATOR DE IMPACTO: 2.407**

## Hygienic behavior and its morphometric divergences

### Comportamento higiênico e suas divergências morfométricas

Edgar Rodrigues de Araujo Neto<sup>1</sup>, Lucas da Silva Morais<sup>1</sup>, Lorena Andrade Nunes<sup>2</sup>, Débora Andréa Evangelista Façanha<sup>4</sup>, Katia Peres Gramacho<sup>1</sup>,

<sup>1</sup>Beekeeping Technological Training Center, Federal Rural University of Semi-Arid – UFERSA, 59625900, Mossoró, Rio Grande do Norte, Brazil.

<sup>2</sup>College of Technology and Sciences – UniFTC, 45204-068, Jéquié, Bahia, Brazil.

<sup>4</sup>University of the International Integration of Afro-Brazilian Lusophony – UNILAB, Rural Development Institute, 62790790, Redenção, Ceará, Brazil

**Resumo:** As abelhas melíferas podem apresentar uma ampla variedade de comportamentos, e a intensidade de expressão destes dependem tanto da composição genética quanto de fatores ambientais. As abelhas africanizadas, por exemplo, possuem características genéticas que proporcionam uma maior capacidade de dispersão e adaptação, além de terem desenvolvido mais intensamente comportamentos sociais que contribuem para a saúde das colônias, como o comportamento higiênico. Nos últimos anos, as análises morfométricas estão sendo incorporadas a estudos de populações como ferramenta de caracterização de materiais genéticos, frequentemente utilizadas em estudos comportamentais de abelhas para avaliar possíveis correlações entre a morfologia do animal e seu comportamento. Essas análises consistem em medir e comparar diferentes características físicas das abelhas, como o tamanho e a forma do corpo, as dimensões das asas, entre outras. Podem ser comparadas entre diferentes indivíduos ou grupos de indivíduos, como abelhas de diferentes idades, castas ou ecótipos. Essa análise pode revelar possíveis relações entre a morfologia das abelhas e seu comportamento, como a preferência por determinadas tarefas dentro da colônia como, por exemplo, a atividade de remoção de células mortas ou danificadas ou ainda infestada com ácaro, conhecido como comportamento higiênico. Diante disso, objetivou-se, com o presente estudo, verificar a existência de variações morfológicas nas asas de abelhas africanizadas de linhagens higiênicas e não higiênicas. Foram utilizadas 33

colônias de abelhas africanizadas oriundas do setor de Apicultura da UFERSA junto ao Núcleo de Capacitação Tecnológica em Apicultura – NCTA, nas quais foram aplicados o teste de comportamento higiênico e a análise morfométrica da asa mesotorácica direita de operárias adultas. As colônias foram divididas em grupos Higiênicos e não Higiênicos. A partir da análise da forma e análises multivariadas, comparadas com o comportamento higiênico e as asas de abelhas originárias, foi possível identificar que existem variações morfológicas entre as abelhas higiênicas e não higiênicas. Além disso, foi observado que colônias 100% higiênicas possuem maior proximidade das abelhas africanas (*Apis mellifera scutellata*) e as menos higiênicas são mais próximas das carnicas (*Apis mellifera carnica*). Pelos resultados aqui expostos, a variação morfométrica das colônias higiênicas está diretamente relacionada com os genes de abelhas africanas e está proximidade genética provavelmente tenha favorecido a maior resistência natural a doenças, o que torna esse ecótipo como grande potencial para o desenvolvimento da apicultura no semiárido.

**Palavras-Chave:** Morfometria Geométrica. Abelhas africanizadas. Semiárido. Comportamento higiênico.

## 1. Introdução

O processo de africanização das abelhas *Apis* nas américas tem início no Brasil em 1956 com a introdução de rainhas africanas *Apis mellifera scutellata*, as quais acidentalmente são liberadas no meio ambiente (COELHO, 2005), iniciando cruzamentos naturais das abelhas africanas com as italianas *Apis mellifera linguistica*, alemãs *Apis mellifera mellifera* e carnicas *Apis mellifera carnica*, subespécies europeias introduzidas no Brasil no século XIX, dando origem a abelha africanizada (DINIZ-FILHO & MALASPINA, 1995).

A africanização das abelhas é considerada uma das invasões biológicas mais bem-sucedidas, sua dispersão chegou a uma taxa estimada de 480 km/ano, indo do Brasil ao estado do Texas no Estados Unidos em menos de 50 anos (TAYLOR, 1985; SCHNEIDER, *et al.* 2004). A eficiência da africanização está ligada a dominância dos caracteres africanos, justificando assim o fitness reduzido dos híbridos; a precocidade de nascimento das rainhas africanas; maior taxa de crescimento e enxameagem apresentadas pelas africanas e dominância de alelos africanos

(SCHNEIDER, *et al.* 2004), afirmando assim que a capacidade de dispersão é herança das abelhas africanas (CALFEE *et al.*, 2020), mas vale lembrar que durante a sua evolução, as abelhas (*Apis mellifera*) aperfeiçoaram-se em mecanismos de imunidade social com base em comportamentos, reduzindo o risco de patologias em suas colônias (LECLERCQ *et al.*, 2017), entre estes aperfeiçoamentos, surge como destaque o comportamento higiênico.

O comportamento higiênico é uma característica genética hereditária das operárias (WILSON-RICH *et al.*, 2009), a qual traduz a capacidade das operárias para identificar e remover crias doentes antes da doença alcançar o estágio infeccioso, danificadas, mortas, ou com alguma má-formação, evitando a transmissão de esporos e influenciando diretamente na sanidade da colônia, diretamente na sanidade da colônia (GRAMACHO & GONÇALVES, 1994; GRAMACHO, 2004; GONÇALVES *et al.*, 2008; WILSON-RICH *et al.*, 2009) e também remove ácaros no interior de suas células, interrompendo o ciclo do mesmo (SPIVAK & DANK, 2021).

Tratando do comportamento higiênico em diferenças subespécies de abelhas *Apis mellifera*, foi observado que existem divergências entre os resultados da literatura, alguns apontam que não tem diferença entre o comportamento higiênico das abelhas africanizadas e as abelhas Cárnicas (*Apis mellifera carnica*) (Gramacho & Gonçalves 2009), já Gramacho (1995), demonstra que o comportamento higiênico em abelhas carnicas no Brasil foi bem inferior e as mesmas demoraram muito mais para remover as pupas mortas quando comparadas com as abelhas africanizadas e italianas, outros demonstram uma superioridade da abelha africanizada sob as abelhas Italianas em relação ao comportamento higiênico (GUERRA JR *et al.*, 2020), levando em consideração que as abelhas africanizadas são uma das *Apis mellifera* com maior variabilidade genética (NOVOA, *et al.*, 2020) dentre outras abelhas *Apis*, faz-se necessário o estudo das suas diversas populações, buscando identificar possíveis padrões morfológicos que identifiquem variações genéticas passíveis de seleção em diferentes populações

Tendo em vista a distribuição e a hibridização da abelha africanizada (*Apis mellifera* L.), tornasse-se necessário entender sua dinâmica populacional, podendo adotar possíveis programas de melhoramento genético e conservação em abelhas africanizadas, mantendo ecótipos, linhagens mais resistentes e com as características desejadas, trazendo uma viabilidade comercial para esse tipo de estudo (COBEY & SCHLEY, 2002). Uma das maneiras para realização de estudos de

populações é a utilização das técnicas genômicas, a qual tem como função sequenciar os nucleotídeos, mapear e analisar os genomas das espécies (CHAMPMAN, *et al.*, 2015; LECLERCQ *et al.*, 2018; BOARDMAN, *et al.*, 2019).

A genômica se destaca nos estudos populacionais, mas não é a única capaz de fornecer bons resultados, além de ser técnicas bem caras. A morfometria geométrica de asas surge como uma alternativa simples, rápida e de baixo custo, com resultados chegando a taxas de 99,5% de acerto na identificação de ecótipos africanizados (FRANCOY, 2008) e podemos reafirmar a eficiência da mesma em Henriques *et al* (2020) o qual realizou o estudo populacional das *Apis mellifera iberiensis* utilizando SNPs e morfometria geométrica de asa, obtendo como resultado a capacidade da morfometria geométrica das asas capturar padrões genéticos complexos, oferecendo uma alternativa confiável e de baixo custo para estimativa preliminar da estrutura populacional e deformações morfológicas que possam explicar certos comportamentos (MORETTI, *et al.*, 2018).

Neste trabalho, buscou-se identificar padrões morfológicos nas asas de abelhas africanizadas que estariam ligados ao seu comportamento higiênico. Além disso, investigou-se também a influência da origem racial destas abelhas no seu comportamento higiênico. A morfometria geométrica de asas foi usada pois oferece eficiência nos resultados e baixo custo. Com essa metodologia, procurou-se detectar deformações morfológicas individuais que poderiam ser selecionadas em estudos posteriores.

## **2. Materiais e Métodos**

### **Amostragem**

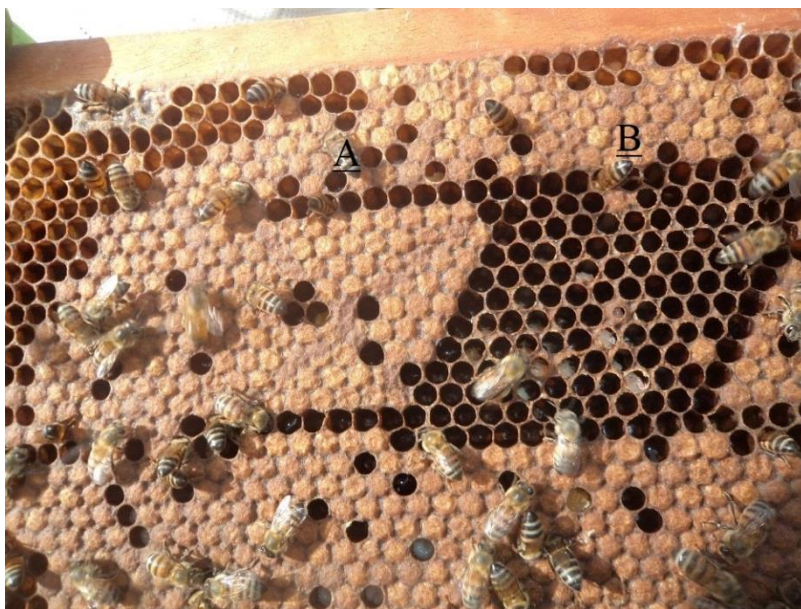
As amostras do presente estudo foram coletadas no período de junho a agosto de 2022, no município de Mossoró - Rio Grande do Norte, região de clima semiárido situada no Nordeste brasileiro. Foram utilizadas 37 colônias de abelhas africanizadas alocadas nos apiários experimentais da Fazenda Experimental da Universidade Federal Rural do Semi-Arido (-5.061975908576271, -37.401546345902474). Em cada colônia foram coletadas 10 abelhas operárias adultas, totalizando 370 indivíduos analisados. Todos os indivíduos coletados foram

armazenados em álcool etílico para preservação das amostras e todas as colônias passaram pelo teste do comportamento higiênico.

Para análise morfométricas das subespécies puras, foram utilizados os padrões de venação das asas anteriores das subespécies *Apis mellifera ligustica*, *Apis mellifera carnica*, *Apis mellifera mellifera* e *Apis mellifera scutellata* que foram obtidas a partir de imagens digitais cedidas do banco de dados do Dr. Tiago Maurício Franco.

### **Avaliação do comportamento higiênico**

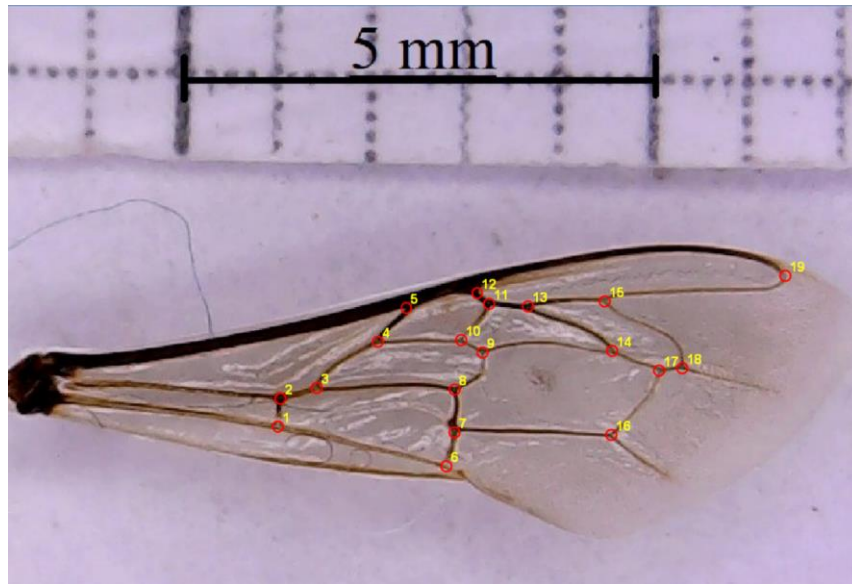
Quanto ao comportamento higiênico (CH), as colônias foram fenotipadas de acordo com o método de perfuração de crias de Newton e Ostasiewski (1986) modificado por Gramacho e Gonçalves (2009). Foi escolhido um quadro com cria operculada (quadro este) com idade entre 10 a 14 dias de idades. Neste quadro foi delimitada uma área na forma de paralelograma contendo duas áreas, cada uma contendo 100 células (10 x 10 células), uma área destinada para o método de perfuração de crias e a outra área destinada ao controle (sem perfurar as crias), 100 crias operculadas de operárias foram mortas com a perfuração com alfinete entomológico (nº1) e após 24 horas foi contabilizado o número de crias mortas removidas pelas abelhas operárias. As colônias que removeram 80% ou mais das crias mortas foram consideradas como higiênicas (Figura 1).



**Figura 1.** Quadro teste de uma colônia de abelhas africanizadas que foi submetido ao teste do comportamento higiênico pelo método de perfuração de crias. Área (A) representa o controle e (B) o tratamento pós 24 horas.

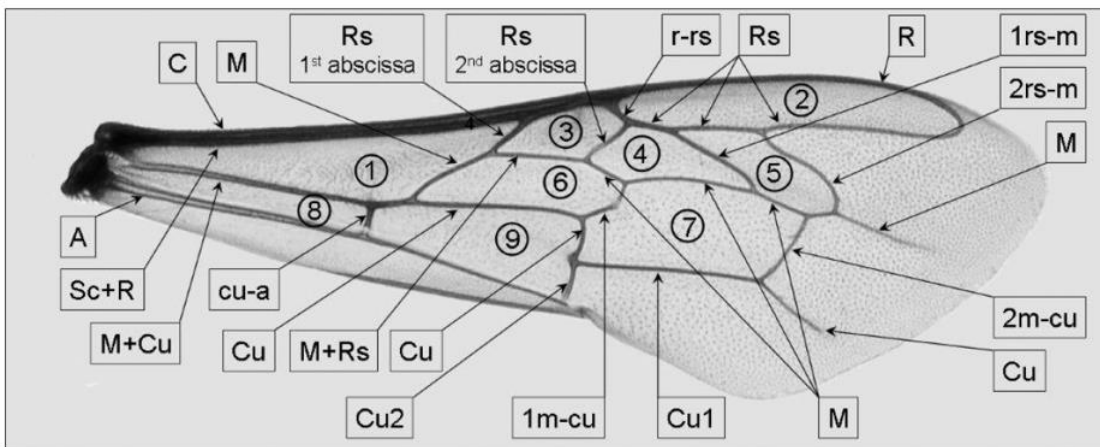
### **Análises morfométricas**

As asas anteriores diretas de 370 operárias, foram removidas de cada uma com a ajuda de uma pinça, fixadas com esmalte incolor a uma lâmina de microscópio previamente montada em uma escala de 5 mm e fotografadas com uma lupa portátil acoplada a um notebook. Dezenove marcos anatômicos foram plotados nas interseções das nervuras das asas (Figura 2) usando o programa tpsDig2 versão 2.64 de acordo com Franco *et al.* (2008), as imagens foram alinhadas pelo quadrado de Procrustes e o tamanho do centróide obtidos com o auxílio do software MorphoJ (KLINGENBERG, 2011).



**Figura 2.** Asa com os 19 marcos anatômicos plotados nas intersecções das asas da abelha africanizada *Apis mellifera* L.

Para identificação de nervuras e de cada célula da asa, foi utilizado o modelo de Porporato *et al.* (2014) (Figura 3), facilitando a identificação das deformações apontadas com a morfometria geométrica.



**Figura 3.** Asa mesotorácica direita de *Apis mellifera* mostrando uma nervura regular com células definidas por veias longitudinais e transversais, as últimas são indicadas por duas letras indicando quais veias longitudinais elas conectam (veia anterior primeiro, depois posterior) e abreviadas por

letras minúsculas. 1: célula radial; 2: célula marginal; 3: 1ª célula submarginal; 4: 2ª célula submarginal; 5: 3ª célula submarginal; 6: 1ª célula medial; 7: 2ª célula medial; 8: 1ª célula cubital; 9: 2ª célula cubital. A: veia anal; C: veia costal; Cu: veia cubital; M: veia medial (basal); D: veia radial; Rs: setor radial; Sc: veia subcostal. A célula costal entre as veias C e Sc+M é tão reduzida que parece praticamente ausente. Imagem retirada de Porporato *et al.* (2014).

Utilizando os softwares MORPHOJ e PAST, foi realizada análise de Variáveis Canônicas (AVC), maximizando a variação entre os grupos estudados explicada por cada variável canônica, testando se as médias destes grupos eram significativamente diferentes e também, possibilitando identificar similaridades entre eles. Para facilitar a interpretação geométrica, os dados foram apresentados em gráficos de dispersão bidimensionais, tendo cada um dos seus eixos representando uma variável canônica.

Para obter o dendrograma utilizamos método da ligação média entre grupos não ponderado, mais conhecido como UPGMA (Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic Averages), utilizando a distância Mahalanobis  $D^2$ , onde a distância intergrupos foi obtida pela média das distâncias pareadas dos integrantes dos grupos estudados.

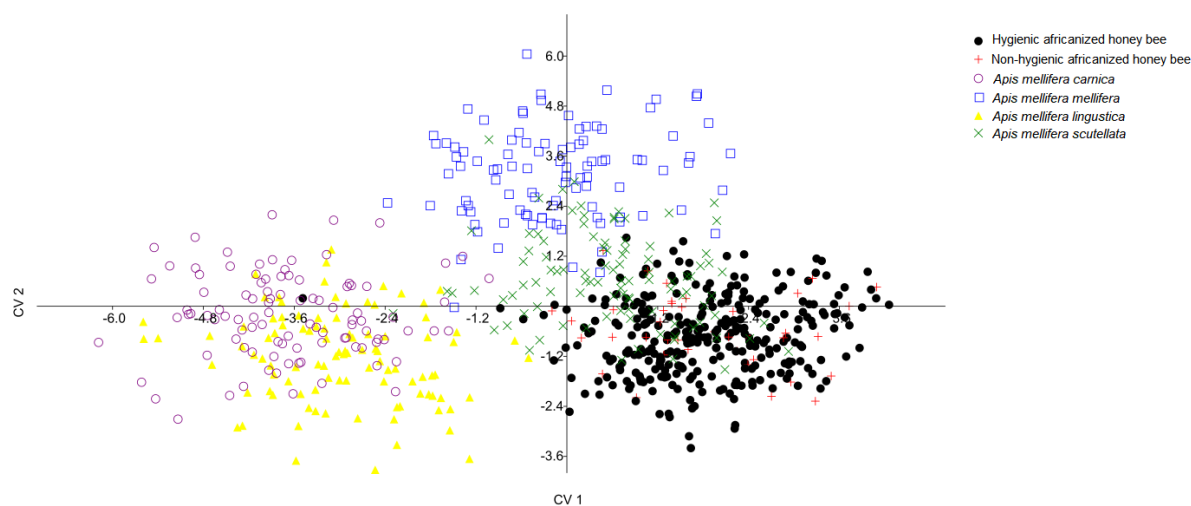
Para medir a confiabilidade dos resultados, quantificamos o erro de medição, analisando cada asa três vezes em dias separados e aplicando em seguida uma análise de variância univariada (ANOVA) para testar o desvio de erros de medição aleatórios entre as repetições. Além de quantificar o erro de medição, foi realizado o teste de Validação Cruzada (Cross-Validation), o qual analisa os percentuais de alocação correta dos indivíduos em seus respectivos grupos. O teste de Validação Cruzada foi realizado com o programa PAST.

### **3. Resultados**

3.1. Origem racial: Sua influência no comportamento higiênico em abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.) do semiárido brasileiro.

Com os resultados do teste de comportamento higiênico, selecionamos 23 colônias, das quais 19 colônias obtiveram resultados acima de 80%, sendo classificadas como higiênicas e 4 colônias com não higiênicas, atingindo porcentagem menor que 80%. Os resultados possibilitaram a formação dos grupos higiênicos e não higiênicos. A seleção de 23 entre as 37 colônias foi realizada buscando homogeneizar os dados.

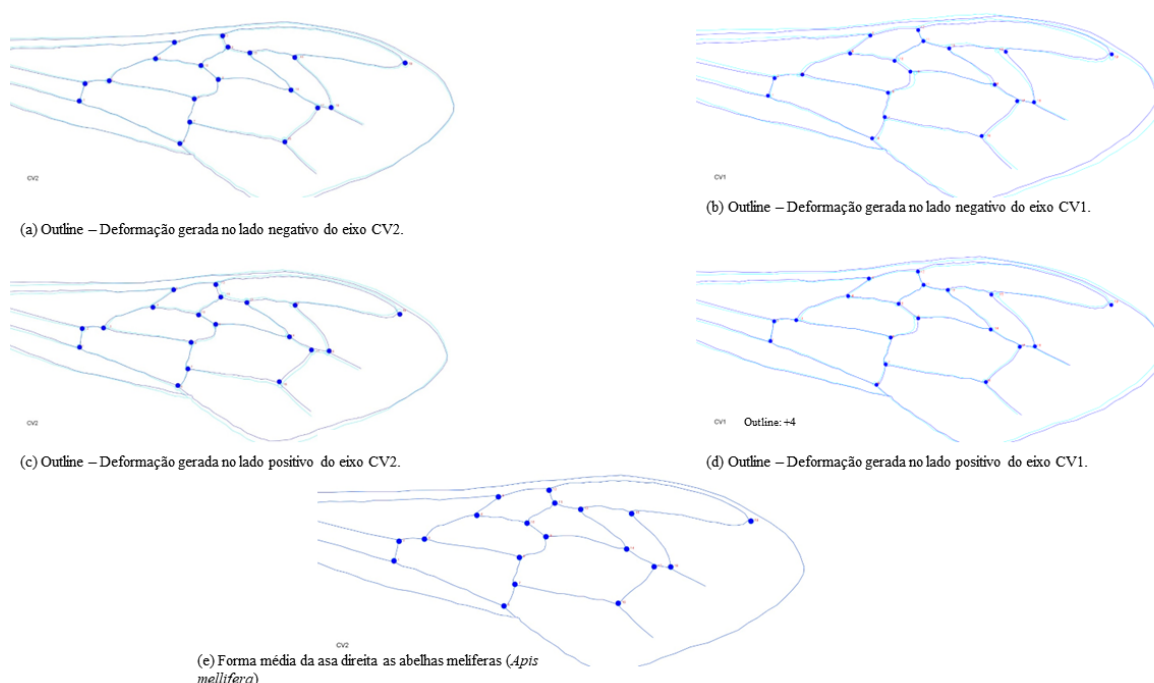
Utilizando as variáveis canônicas (CV) para associar colônias higiênicas (H) e não higiênicas (N.H) com a sua origem racial, 5 variáveis foram suficientes para determinar 100% da variação total, sendo 83,56% identificadas já nas duas primeiras variáveis. Na variável canônica 1 - CV1 (56,94%) foi possível diferenciar as abelhas italianas (*Apis mellifera linguistica*) e carnica (*Apis mellifera carnica*) localizadas no eixo negativo, das abelhas africanizadas higiênicas e não higiênicas, no eixo positivo. Na variável canônica 2 - CV 2 (82,17%) foi identificado que as abelhas alemãs (*Apis mellifera mellifera*) no eixo positivo, diferenciam das abelhas italianas (*Apis mellifera linguistica*), no eixo negativo (Figura 4).



**Figura 4.** Gráfico de dispersão de colônias higiênicas e não higiênicas de abelhas africanizadas *Apis mellifera* L. e subespécies, carnica *Apis mellifera carnica*, italiana *Apis mellifera linguistica*, alemã *Apis mellifera mellifera* e a africana *Apis mellifera scutellata*, em relação aos eixos cartesianos estabelecidos pelas variáveis canônicas 1 e 2 obtidos a partir da morfometria das asas.

Em seguida, foi gerado as grades de deformação da forma média (Figura 5) possibilitando assim a identificação das áreas que sofrem mais deformações. Tendo a forma média (Figura 5- e), quando observado a grade de deformação do lado negativo do eixo CV1 (Figura 5- b), onde encontram-se as abelhas italianas (*Apis mellifera linguistica*) e carnicas (*Apis mellifera carnica*), foi encontrado uma expansão da região da primeira célula medial, situada entre os pontos 8, 9 e 10. Já nas regiões da célula marginal e terceira submarginal, pontos 13 e 15, identificamos que área se comprime. O oposto ocorre no lado positivo do eixo CV1 (Figura 5- d), a região da primeira célula medial se comprime e as regiões da célula marginal e terceira submarginal se expandem.

Com os resultados do eixo positivo da CV 2 (Figura 2- c), identificamos que as maiores variações no formato das asas foram nas abelhas alemãs (*Apis mellifera mellifera*) ocorrem com a expansão da célula marginal, situada entre os pontos 12 e 13 e uma compressão da área da segunda e da terceira célula submarginal, pontos 10 e 14. Ao lado negativo do eixo CV 2 (Figura 2- a), as abelhas italianas (*Apis mellifera linguistica*) como o esperado, apresentaram o resultado oposto, comprimindo célula marginal e expandindo a área da segunda e da terceira célula submarginal.



**Figura 5.** Variação média da forma das asas de abelhas *Apis mellifera* de diferentes subespécies e africanizadas de linhagens higiênicas e não higiênicas. O contorno em azul claro significa a forma

média da asa anterior direita, a forma padrão, e o contorno azul escuro refere-se a forma de asa anterior direita da abelha no respectivo a deformação referente a sua variável canônica, tanto no eixo positivo como no negativo.

Na validação cruzada foram identificadas que as abelhas carnicas são as que mais diferem do grupo higiênico e não higiênico, seguido das abelhas italianas, que também apresentou resultado de 100% ( $p < .0001$ ) quando comparados com o grupo não higiênico. Os grupos que apresentaram maior similaridade foram o higiênico e não higiênico ( $p < 0.0080$ ). Mesmo com a similaridade, o grupo higiênico e não higiênico foram estatisticamente diferentes entre si e entre as subespécies analisadas no presente estudo (Tabela 1).

**Tabela 1.** Classificação das amostras em porcentagem dentro de suas respectivas subespécies e linhagens gerada a partir da análise de validação cruzada entre abelhas carnicas (*Apis mellifera carnica*) - CA, italianas (*Apis mellifera lingustica*) - LI, alemãs (*Apis mellifera mellifera*) - ME, africanas (*Apis mellifera scutellata*) e africanizadas (*Apis mellifera* L.) higiênicas - H e não higiênicas - N.H.

| Grupos   | Validação cruzada (%) | P-Valeu                            |
|----------|-----------------------|------------------------------------|
|          |                       | Procrustes distância( $p < 0.01$ ) |
| CA x H   | 100                   | <.0001                             |
| CA x N.H | 100                   | <.0001                             |
| H x LI   | 99                    | <.0001                             |
| H x ME   | 97                    | <.0001                             |
| H x N.H  | 69                    | 0.0080                             |
| H x SC   | 96                    | <.0001                             |
| LI x N.H | 100                   | <.0001                             |
| ME x N.H | 96                    | <.0001                             |
| N.H x SC | 90                    | <.0001                             |

Os resultados da Distância de Mahalanobis e Procrustes mostraram que houve diferenças estatísticas ( $p < 0.01$ ) entre os grupos higiênico e não higiênico e as subespécies avaliadas (Tabela 2). A ancestralidade dos grupos higiênico e não higiênico foi avaliada (Tabela 3) e ambos mostraram maior proximidade com as abelhas africanas (*Apis mellifera scutellata*). O grupo não higiênico foi aquele que apresentou a maior proximidade ( $p < 0.0001$ ). Em relação as abelhas alemãs (*Apis mellifera mellifera*), foi a segunda raça mais próxima dos grupos higiênicos e não higiênicos, tendo maior proximidade com o grupo higiênico. As abelhas italianas (*Apis mellifera linguistica*) foram a terceira raça na proximidade, e como as alemãs, também foram mais próximas do grupo higiênico. Por fim, as carnicas (*Apis mellifera carnica*) estiveram mais distantes dos grupos observados, tendo, mesmo assim, uma maior proximidade com as abelhas higiênicas. As abelhas africanizadas higiênicas e não higiênicas do presente estudo, quando comparadas apresentam ancestralidade similar, onde ambos os grupos possuem maior proximidade com as africanas, seguida pelas alemãs, italianas e carnicas. Observar-se-á que, embora semelhantes, o grupo de abelhas de higiene teve, de modo geral, uma maior similaridade com as abelhas europeias (Tabela 3).

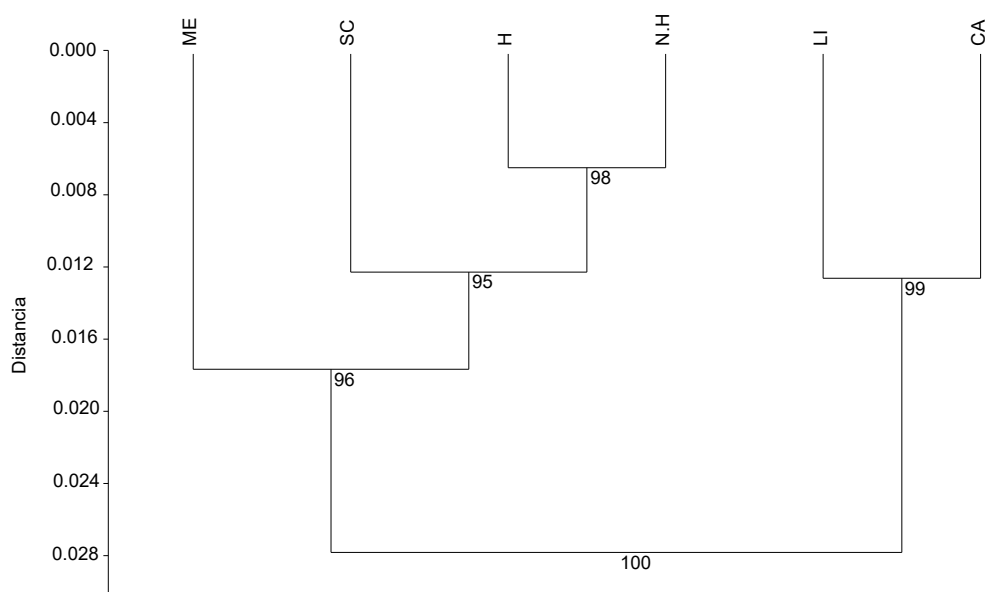
**Tabela 2.** Diferenças estatísticas das distâncias quadradas de Mahalanobis (diagonal inferior) e distância de Procrustes. (diagonal superior) entre abelhas carnicas (*Apis mellifera carnica*) - CA, italianas (*Apis mellifera linguistica*) - LI, alemãs (*Apis mellifera mellifera*) - ME, africanas (*Apis mellifera scutellata*) e africanizadas (*Apis mellifera* L.) higiênicas - H e não higiênicas - N.H, obtidas a partir da análise das variáveis canônicas.

|     | CA     | H      | LI     | ME     | N.H    | SC     |
|-----|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| CA  | 0      | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 |
| H   | <.0001 | 0      | <.0001 | <.0001 | 0,0090 | <.0001 |
| LI  | <.0001 | <.0001 | 0      | <.0001 | <.0001 | <.0001 |
| ME  | <.0001 | <.0001 | <.0001 | 0      | <.0001 | <.0001 |
| N.H | <.0001 | 0,0044 | <.0001 | <.0001 | 0      | <.0001 |
| SC  | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | 0      |

**Tabela 3.** Distâncias quadradas de Mahalanobis (diagonal inferior) e Distância de Procrustes. (diagonal superior) entre abelhas carnicas (*Apis mellifera carnica*) - CA, italianas (*Apis mellifera linguistica*) - LI, alemãs (*Apis mellifera mellifera*) - ME, africanas (*Apis mellifera scutellata*) - SC e abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.) higiênicas - H e Não Higienicas - N.H, obtidas a partir da análise das variáveis canônicas.

|     | CA           | H             | LI     | ME     | N.H           | SC     |
|-----|--------------|---------------|--------|--------|---------------|--------|
| CA  | 0            | 0.0277        | 0.0124 | 0.0274 | <b>0.0283</b> | 0.0274 |
| H   | 5.6238       | 0             | 0.0264 | 0.0175 | <b>0.0062</b> | 0.0123 |
| LI  | 2.82         | 4.9489        | 0      | 0.0273 | 0.0281        | 0.0287 |
| ME  | 5.2344       | 4.4148        | 5.2864 | 0      | 0.0179        | 0.0166 |
| N.H | <b>5.721</b> | <b>1.2096</b> | 5.1309 | 4.4583 | 0             | 0.012  |
| SC  | 4.7548       | 3.0321        | 5.0147 | 3.9786 | 2.9584        | 0      |

Por fim verificamos a formação de grupos distintos por subespécie e linhagens na análise de agrupamento UPGMA (Figura 3) com base na AVC, tendo alcançado uma correlação cofenética de 99%, demonstrando que apesar de próximos, todos os grupos estudados são diferentes.



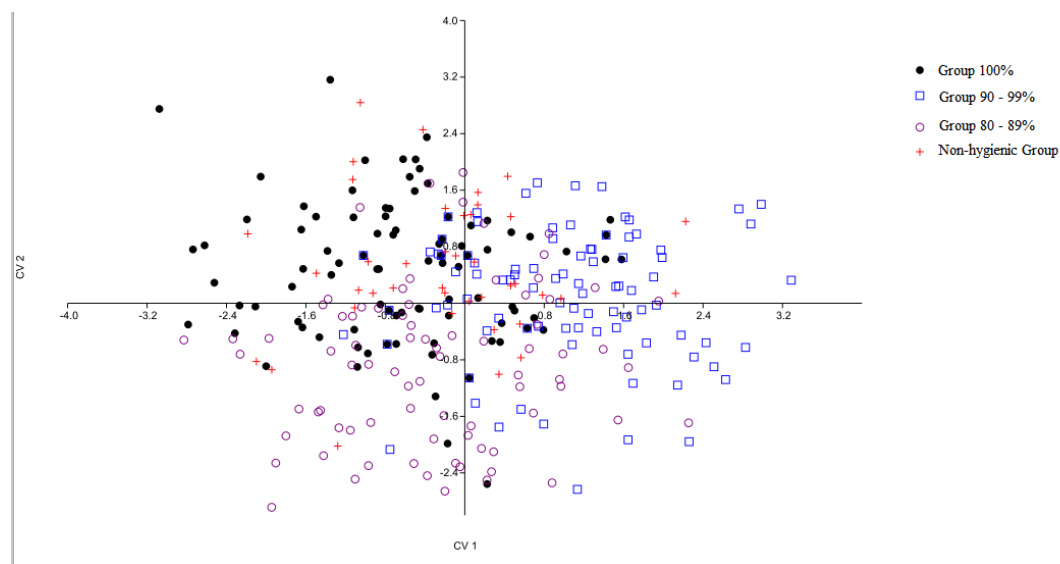
**Figura 6.** Dendrograma gerado pelo UPGMA ilustrando as médias de distâncias morfométricas entre as diferentes subespécies de abelhas melíferas (*Apis mellifera*) e linhagens higiênicas e não higiênicas de abelhas africanizadas do semiárido brasileiro.

3.2. Diferentes taxas do comportamento higiênico e suas influências nas variações morfológicas nas asas de abelhas africanizadas.

Por meio do teste de comportamento higiênico, foram selecionadas 31 colônias, as quais foram divididas em 4 grupos de acordo com sua taxa de comportamento higiênico. O primeiro grupo contou com 10 colônias com 100% de comportamento higiênico; o segundo, 9 colônias com taxa entre 90 e 99%; o terceiro, 8 colônias entre 80 e 89%; e o quarto, 4 colônias com taxa de comportamento abaixo de 80%, sendo consideradas não higiênicas.

Ao classificar os grupos 100%, 90 - 99% e 80 a 89% como higiênicos e não higiênicos de acordo com suas taxas de comportamento higiênico, foi possível usar variáveis canônicas (CV) para identificar a proximidade e semelhança entre eles. 3 variáveis foram necessárias para determinar 100% da variação total, sendo que 84,68% da identificação foi alcançada com as 2 primeiras variáveis. Com a variável canônica 1 - CV1 (51,57%) conseguimos diferenciar o grupo

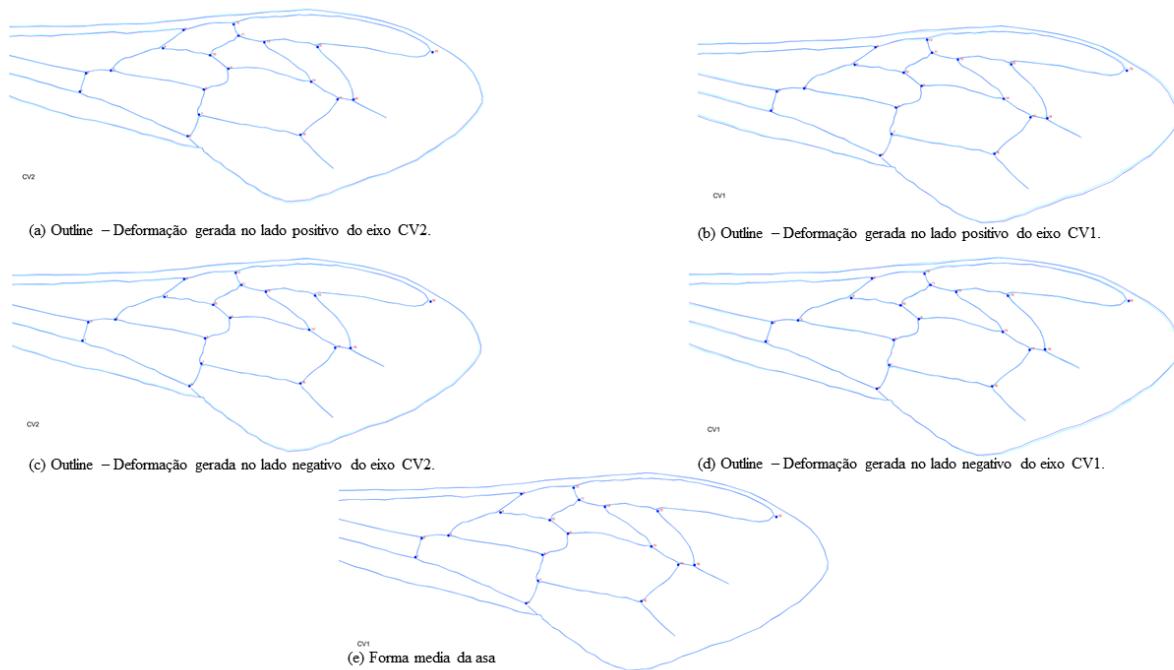
100% e o grupo 80 - 89%, localizados no eixo negativo, do grupo 90 - 99%, localizado no eixo positivo. Já com a variável canônica 2 - CV2 (84,68%) foi possível identificar que o Grupo 100% no eixo positivo é diferente do Grupo 80 a 89%, localizado no eixo negativo (Figura 7).



**Figura 7.** Gráfico de dispersão dos grupos de colônias de abelhas africanizadas com diferentes taxas de comportamento higiênico em relação aos eixos cartesianos estabelecidos pelas variáveis canônicas 1 e 2 obtidos a partir da morfometria das asas.

Gerando as grades de deformação da forma média (Figura 8) identificamos as áreas que sofrem mais deformações. Ao lado negativo do eixo CV1 (Figura 8 – d), onde está grande parte do grupo 100% e grupo 80 - 89%, foi encontrada uma contração no ponto 12, o qual é a nervura que se localiza na parte superior da asa entre a célula submarginal 1 e a célula marginal. No lado positivo do eixo CV1 (Figura 8 – b), grupo 90 – 99%, como esperado, a deformação ocorre de forma oposta, gerando uma expansão no ponto 12, identificando assim uma diferenciação na célula submarginal 1 e a célula marginal quando comparadas entre os grupos. Na CV2 foi possível identificar deformação na célula submarginal nos pontos 10, 11 e 12, apresentando uma expansão dos pontos no lado negativo do eixo CV2 (Figura 8 – c) referente ao grupo 80 - 89% e contração dos pontos 10, 11 e 12 no lado positivo do eixo CV2 (Figura 8 – a), onde se encontra o grupo

100%. Os resultados apontam as deformações da célula submarginal 1 e a célula marginal com as principais diferenças morfométricas entre os grupos.



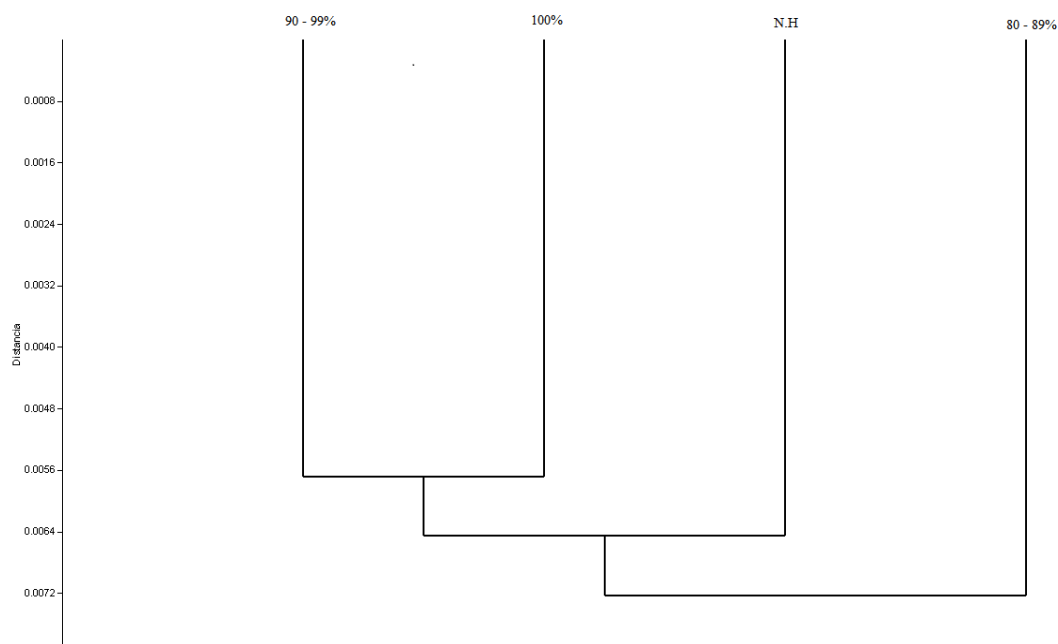
**Figura 8.** Variação média da forma das asas dos grupos de abelhas africanizadas do semiárido brasileiro (*Apis mellifera*) com diferentes taxas de comportamento higiênico. O contorno em azul claro significa a forma média da asa anterior direita, a forma padrão, e o contorno azul escuro refere-se a forma de asa anterior direita da abelha no respectivo a deformação referente a sua variável canônica, tanto no eixo positivo como no negativo.

Na validação cruzada identificamos que apesar da similaridade, todos os grupos apresentaram diferença estatística. Os grupos que mais diferem são 100% x 80 - 89% e 80 - 89% x 90 - 99% ( $p < .0001$ ). Já o que possui maior similaridade é o 80 - 89% x N.H (0,0084), apesar de todos os grupos possuírem uma certa similaridade, conseguimos atingir em média 62% de certeza de identificação com a validação cruzada.

**Tabela 4.** Classificação das amostras em porcentagem dentro dos seus respectivos grupos gerada a partir da análise de validação cruzada.

| <b>Grupos</b>              | <b>Validação cruzada (%)</b> | <b>P-Valeu</b>                         |
|----------------------------|------------------------------|----------------------------------------|
|                            |                              | <b>Procrustes distance (p&lt;0.01)</b> |
| <b>100% x 80 - 89%</b>     | 62                           | <.0001                                 |
| <b>100% x 90 - 99%</b>     | 68                           | 0,0056                                 |
| <b>100% x N.H</b>          | 55                           | 0,0060                                 |
| <b>80 - 89% x 90 - 99%</b> | 63                           | <.0001                                 |
| <b>80 - 89% x N.H</b>      | 62                           | 0,0084                                 |
| <b>90 - 99% x N.H</b>      | 67                           | 0,0040                                 |

Na análise de agrupamento UPGMA (Figura 9) com base na AVC, confirmamos que apesar de próximos, os grupos do presente estudo são diferentes, obtendo uma correlação cofenética de 64%. Sendo mais similares os grupos 100% e 90 – 99% e mais distante o grupo 80 – 89%.



**Figura 9:** Dendrograma gerado pelo UPGMA ilustrando as médias de distâncias morfométricas entre os grupos de abelhas africanizadas do semiárido brasileiro (*Apis mellifera*) com diferentes taxas de comportamento higiênico.

Tratando as colônias de forma individual, observando a taxa de comportamento higiênico de cada uma e utilizando as Distância de Procrustes, como nos resultados da origem racial, obtivemos o mesmo padrão de proximidade encontrado anteriormente, todos os grupos apresentaram maior proximidade com as africanas, seguida das alemãs, italianas e carnicas, porém, podemos destacar que as colônias com taxa de 100% de comportamento higiênico são as que possuem respectivamente maior proximidade com as abelhas africanas(0,0116), alemãs (0,0172) e italianas (0,0266), diferente das colônias com taxa de comportamento higiênico em 54%, que apresentaram maior distância tanto das africanas como das europeias

#### 4. Discussão

Os dados aqui apresentados mostram claramente, que as abelhas africanizadas tanto de linhagens higiênicas, como de linhagens não higiênicas possuem maior similaridade com a subespécie africana (*Apis mellifera scutellata*) e uma menor similaridade com a subespécie italiana (*Apis mellifera lingustica*) e carnica (*Apis mellifera carnica*). Esse padrão de similaridade encontrado no presente estudo corrobora com o resultado encontrado por Santos e Silva *et al.* (2019) estudando posicionamento racial de abelhas africanizadas em três municípios do Piauí, os quais apresentaram o mesmo padrão de similaridade com as subespécies puras. A grande similaridade encontrada entre as linhagens das abelhas africanizadas está relacionada a dois fatores, o primeiro é que são indivíduos da mesma subespécie ou do mesmo poli híbrido, segundo Novoa *et al.* (2020) as colônias de abelhas africanizadas estão entre as *Apis mellifera* com maior diversidade genética registrada, já o segundo fator está associado ao distanciamento geográfico, trabalhos com Ken Tal *et al.* (2005), Kekecoglu & Soysal (2010), Parker *et al.* (2010) e Nunes *et al.* (2012) demonstram que a distribuição geográfica das populações de abelhas ao longo de regiões ecologicamente diferentes influencia na similaridade entre grupos. Os dois fatores apresentados justificam a similaridade entre as duas linhagens de abelhas africanizadas do presente estudo, onde todas as colônias estavam alocadas no município de Mossoró - Rio Grande do Norte.

Com as grades de deformação foi possível identificar que as asas das abelhas africanizadas de ambas as linhagens sofrem uma compressão na primeira célula medial e uma expansão da célula marginal e terceira submarginal. Corroborando com os dados encontrados por Franco *et al.* (2006), os quais identificaram que apenas com cinco marcos anatômicos na célula marginal é possível discriminar tipos raciais de *Apis mellifera*, conseguindo com eficiência separar o polihíbrido africanizado das demais subespécies puras.

A eficiência da identificação dos grupos pode ser confirmada com a validação cruzada, a qual teve uma média de acerto de 95%, resultado próximo ao encontrado por Franco *et al.* (2008) os quais obtiveram uma taxa de acerto de 99,2%. A diferença de 4,2% entre o presente trabalho e o realizado por Franco *et al.* (2008) está relacionado ao fracionamento do grupo de abelhas africanizadas em duas linhagens, as quais mesmo apresentando diferença estatística entre as

linhagens apresentaram um erro de identificação de 31%. Vale ressaltar que apesar da taxa de erro da validação cruzada entre as linhagens higiênicas e não higiênicas, os resultados apresentaram diferença estatística entre as linhagens, estes resultados são importantes para realização de trabalhos de seleção e melhoramento genético.

Quando observamos os resultados da validação cruzada realizado por Nunes *et al.* (2012) o qual foi aplicado o teste em apenas abelhas africanizadas de diferentes regiões do Brasil, encontramos resultados muito similares ao encontrado na validação cruzada entre as linhagens higiênica e não higiênica, onde foi achado 69% de acerto e 62% no trabalho dos autores citados. A similaridade entre os grupos de abelhas africanizadas, de linhagens diferentes ou não, já foi apontada em 1995 como resultado da apicultura migratória, a qual não só é responsável pela deriva genética das populações como pela introdução de novas subespécies (DINIZ – FILHO & MALASPINA, 1995). Nos dias atuais é de conhecimento geral o comercio de rainhas no Brasil, muitas vezes sendo obtidas dos mesmos fornecedores e sem os devidos cuidados, afetando assim a similaridade em diversos pontos do país.

A proximidade encontrada entre as abelhas africanizadas de linhagens higiênicas e não higiênicas com as abelhas africanas (*Apis mellifera scutellata*), já era esperada, pois muitos são os fatores que justificam a dominância dos caracteres africanos, os principais são: o fitness reduzido dos híbridos; a maior produção de zangões africanos; a precocidade de nascimento das rainhas africanas; maior taxa de crescimento e enxameagem apresentadas pelas africanas e dominância de alelos africanos (SCHNEIDER, *et al.*, 2004). A capacidade adaptativa da abelha africanizada, resultado da predominância africana, permite que as colônias de abelhas africanizadas estabeleçam suas populações nos mais diferentes climas (Freitas *et al.*, 2007). Calfee *et al.* (2020) aponta a capacidade de dispersão como herança das abelhas africanas, utilizando o mapeamento genético de populações situadas na Califórnia e Buenos Aires foi demonstrado a prevalência de genes africanos em ambas as populações situadas em regiões opostas do continente, corroborando assim com a predominância africana das amostras utilizadas no presente estudo.

Quando analisadas as linhagens higiênicas e não higiênicas individualmente, foi observado que ambas se diferenciavam e que a linhagem não higiênica foi o mais próximo do grupo das abelhas africanas (*Apis mellifera scutellata*), essa proximidade pode estar ligada ao nível de

seleção que ocorreu para genes derivados de africanos e europeus em diferentes regiões (Novoa *et al.*, 2020), criando um pool de genes na colônia usando as frequências alélicas para observar a expressão final do fenótipo na colônia como um todo (Harpur *et al.*, 2020). Vale ressaltar que apesar do comportamento higiênico ser apontado como o principal mecanismo de resistência e muitas vezes ser associado a herança africana, Nganso *et al.* (2016) encontram resultados que o comportamento higiênico não tem diferença estatística entre as subespécies de *Apis mellifera*, porém, o comportamento de grooming foi mais bem expresso em *Apis mellifera scutellata* do que em híbridos de *Apis mellifera* de origem europeia. Os dados do presente estudo sugerem que a eficiência do comportamento higiênico não está apenas ligada a predominância africana e sim a um conjunto de fatores, como é o caso da defensividade, o qual não é um comportamento oriundo de apenas um alelo e sim das frequências de alelos específicos dentro das colônias (Avalos *et al.*, 2020).

As distancias das linhagens de abelhas africanizadas em relação as subespécies puras se apresentaram de forma igual, como citados anteriormente, pelo fato de todas as amostras serem oriundas da mesma localidade, evitando assim a criação de ecótipos localmente adaptados, como ocorre nos resultados de Nunes *et al.* (2012), os quais possuem amostras de cinco regiões diferente do Brasil, ou até mesmo diferenças morfológicas como as encontradas em *Apis cerana* por Montero-Mendieta *et al.* (2018) em altitudes diferentes, gerando modificações no tamanho e na cor dos indivíduos. O presente trabalho foi realizado com colônias situadas na mesma localidade visando anular a variação ambiental e garantir somente o a variação dos cruzamentos naturais entre as populações locais, com isso foi possível agrupar as amostras com o UPGMA, não só a proximidade entre as linhagens estudadas e as subespécies puras, como demonstrar a formação de grupos estatisticamente diferentes.

Sendo o Comportamento higiênico uma característica genética hereditária das operárias (WILSON-RICH *et al.*, 2009) e existir uma forte correlação entre o genótipo mitocondrial e a morfologia das abelhas (Neilsen *et al.*, 1999). Buscamos diferenças morfológicas que possam facilitar a seleção artificial para desenvolver linhagens com maiores taxas de comportamento higiênico, assim como Franco *et al.* (2018) facilitaram a identificação de linhagens com baixa tendência a enxamear identificando diferenças morfológicas encontradas entre as abelhas que resistiram à seca e não enxamearam e as abelhas que migraram. Identificamos as principais

diferenças morfológicas entre os grupos com diferentes taxas de comportamento higiênico estão na célula submarginal 1 e a célula marginal, apresentando um padrão diferente se comparados com o identificado por Francoy *et al.* (2006) para discriminação racial de *Apis mellifera*. De fato, mais estudos são necessários antes dessa etapa de seleção, mas esses resultados trazem uma necessidade para trabalhos futuros.

Com a validação cruzada dos grupos, foi possível identificar um acerto médio de 62%, resultado muito similar aos de Nunes *et al.* (2012), devido ao fato de ambos os trabalhos terem usado apenas colônias de abelhas africanizadas. Embora similares todos os grupos apresentaram diferença significativa. Essa diferença deve estar associada ao mix de genes de cada grupo (Harpur *et al.*, 2020), essa variação genética se deu não só devido aos cruzamentos naturais entre as abelhas africanas e europeias, como também ao manejo ano após ano selecionando as abelhas mellifera com foco apenas em produção (Harpur *et al.* 2012), muitas vezes deixando de lado fatores como a resistência a patologias e capacidade de adaptação, criando variações teoricamente boas de produção, mas que em campo não se desenvolve. Essa falta de cuidado gera a necessidade de criação de programas e estudos voltados para a conservação do ecótipos localmente adaptados, como é o caso do estudo realizado por La Rua *et al.* (2009), os quais buscaram conhecer a biodiversidade, identificar as principais ameaças e assim dar início a possíveis programas de conservação das abelhas europeias. O presente trabalho busca contribuir para a identificação de diferenças morfológicas entre as linhagens higiênicas e não higiênicas, possibilitando assim no futuro conservar as linhagens mais bem adaptadas as suas localidades.

A associação realizada entre as colônias com diferentes taxas, demonstraram que as colônias com comportamento higiênico 100% foram as que possuíram maior proximidade com as abelhas africanas, alemães e italianas, diferente das colônias com taxa de comportamento higiênico em 54%, que apresentaram maior distância tanto das africanas como das europeias. Estas diferenças entre os indivíduos higiênicos (100%) e não higiênicos (54%) está associada à sua origem racial, onde não só parte da origem importa, mas sim o conjunto de diferentes características herdadas (Uzunov *et al.* 2014). É possível observar essas variações em trabalhos como Aumeier *et al.* (2000), no qual foi identificado que quando comparadas com as abelhas Cárnicas, as abelhas africanizadas apresentam uma variação maior à cria infestada pelo acaro Varroa, em Gramacho & Gonçalves (2009) as abelhas Cárnicas também foram mais higiênicas

que as africanizadas, mas a diferença não foi significativa. Porém, em Guerra Jr *et al.* (2020) foi observado que a cada 10 crias infestadas pelo acaro varroa, em média 6,5 eram removidas pelas africanizadas e nas italianas em média 3,5 das crias infectadas eram removidas. Com os resultados encontrados no presente trabalho foi identificado que colônias mais africanas são mais higiênicas, porém se faz necessário a realização de novos estudos para identificar quais níveis de ancestralidade são necessários para refletir cada tipo de comportamento.

As abelhas africanizadas apresentam muito menos problemas com sanidade apícola se comparadas com outras subespécies de origem europeia, podemos observar de forma clara essa resistência com o acaro *Varroa destructor*, onde em 43 anos no Brasil as abelhas africanizadas mantiveram uma taxa média de infestação em 4%, não tendo relatos de impacto negativo nas colônias (CASTILHOS, *et al.* 2023), diferente do que acontece com as abelhas europeias, as quais ainda possuem poucas linhagens resistentes ao acaro *Varroa destructor*, ocasionando perdas de colônias (LE CONTE, *et al.*, 2020). Corroborando com os resultados encontrados no presente trabalho, os quais colônias com 100% comportamento higiênico são mais africanizadas. A literatura aponta que além do comportamento higiênico, as abelhas africanizadas também apresentam uma grande eficiência no comportamento de grooming se comparados as europeias (INVERNIZZI *et al.*, 2016), os dados encontrados mostram que a africanização no Brasil foi vantajosa para o controle de patologias apícolas.

Em conclusão, utilizando a morfometria geométrica de asas, foi possível identificar as abelhas africanizadas tanto de linhagens higiênicas, como de linhagens não higiênicas possuem maior similaridade com a subespécie africana (*Apis mellifera scutellata*) e uma menor similaridade com a subespécie italiana (*Apis mellifera lingustica*) e carnica (*Apis mellifera carnica*) e que mesmo apresentando maior similaridade, as linhagens higiênicas e não higiênicas possuem diferença estatística significativa. E identificar que as asas das abelhas africanizadas de ambas as linhagens sofrem uma compressão na primeira célula medial e uma expansão da célula marginal e terceira submarginal. Com relação a origem racial, foi encontrado que as distancias das linhagens de abelhas africanizadas em relação as subespécies puras se apresentaram de forma igual e a linhagem não higiênica foi o mais próximo do grupo das abelhas africanas (*Apis mellifera scutellata*).

Com as análises em grupos com diferentes taxas de comportamento higiênicos, foi possível concluir que as principais diferenças morfológicas entre os grupos com diferentes taxas de comportamento higiênico estão na célula submarginal 1 e a célula marginal e comprovar com a validação cruzada a diferença entre os grupos estudados. E por fim, concluímos que colônias com taxa de comportamento higiênico de 100% foram as que possuíram maior proximidade com as abelhas africanas, alemães e italianas, diferente das colônias com taxa de comportamento higiênico em 54%, que apresentaram maior distância tanto das africanas como das europeias.

## 5. Referências

- Aumeier, P., Rosenkranz, P., & Gonçalves, L. S. (2000). A comparison of the hygienic response of Africanized and European (*Apis mellifera carnica*) honey bees to Varroa-infested brood in tropical Brazil. *Genetics and Molecular Biology*, 23, 787-791. doi: 10.1590/S1415-47572000000400013
- Avalos, A., Fang, M., Pan, H., Ramirez Lluch, A., Lipka, A. E., Zhao, S. D., Giray, T., Robinson, G. E., Guojie Zhang, G., & Hudson, M. E. (2020). Genomic regions influencing aggressive behavior in honey bees are defined by colony allele frequencies. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(29), 17135-17141. doi: 10.1073/pnas.1922927117
- Boardman, L., Eimanifar, A., Kimball, R. T., Braun, E. L., Fuchs, S., Grünewald, B., & Ellis, J. D. (2019). The complete mitochondrial genome of *Apis mellifera unicolor* (Insecta: Hymenoptera: Apidae), the Malagasy honey bee. *Mitochondrial DNA Part B*, 4(2), 3286-3287. doi: 10.1080/23802359.2019.1671247
- Calfee, E., Agra, M. N., Palacio, M. A., Ramírez, S. R., & Coop, G. (2020). Selection and hybridization shaped the rapid spread of African honey bee ancestry in the Americas. *PLoS Genetics*, 16(10), e1009038. doi: 10.1371/journal.pgen.1009038
- Chapman, N. C., Harpur, B. A., Lim, J., Rinderer, T. E., Allsopp, M. H., Zayed, A., & Oldroyd, B. P. (2015). A SNP test to identify Africanized honeybees via proportion of ‘African’ ancestry. *Molecular Ecology Resources*, 15(6), 1346-1355. doi: 10.1111/1755-0998.12411

- Cobey, S.; Schley, P. Innovations in instrumental insemination. The compact, versatile right and left handed Schley model II instrument. *American Bee Journal*, v.142, n.6, p.433-435, 2002.
- Costa-Maia, F. M., Toledo, V. D. A. A. D., Martins, E. N., Lino-Lourenço, D. A., Sereia, M. J., Oliveira, C. A. L. D., Faquinello, P., & Halak, A. L. (2011). Estimates of covariance components for hygienic behavior in Africanized honeybees (*Apis mellifera*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, 40, 1909-1916. doi: 10.1590/S1516-35982011000900010
- De la Rúa, P., Jaffé, R., Dall'Olio, R., Muñoz, I., & Serrano, J. (2009). Biodiversity, conservation and current threats to European honeybees. *Apidologie*, 40(3), 263-284. doi: 10.1051/apido/2009027
- Diniz-Filho, J.A.F. & Malaspina, O. (1995). Evolution and population structure of Africanized honey bees in Brazil: Evidence from spatial analysis of morphometric data. *Evolution*, 49: 1172-1179. doi: 10.2307/2410442
- Francoy, T. M., Prado, P. R. R., Gonçalves, L. S., da Fontoura Costa, L., & De Jong, D. (2006). Morphometric differences in a single wing cell can discriminate *Apis mellifera* racial types. *Apidologie*, 37(1), 91-97. doi: 10.1051/apido:2005062
- Francoy, T. M., Wittmann, D., Drauschke, M., Müller, S., Steinhage, V., Bezerra-Laure, M. A., De Jong, D., & Gonçalves, L. S. (2008). Identification of Africanized honey bees through wing morphometrics: two fast and efficient procedures. *Apidologie*, 39(5), 488-494. doi: 10.1051/apido:2008028
- Freitas, B. M., Sousa, R. M., & Bomfim, I. G. A. (2007). Absconding and migratory behaviors of feral Africanized honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies in NE Brazil. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 29(4), 381-385. doi: 10.4025/actascibiolsci.v29i4.882
- Gramacho, K. P., & Gonçalves, L. S. (2009). Comparative study of the hygienic behavior of Carniolan and Africanized honey bees directed towards grouped versus isolated dead brood cells. *Genetics and Molecular Research*, 8(2), 744-750. doi: 10.4238/vol8-2kerr041
- Guerra Jr, J. C. V., Gonçalves, L. S., & Jong, D. D. (2000). Africanized honey bees (*Apis mellifera* L.) are more efficient at removing worker brood artificially infested with the parasitic mite *Varroa jacobsoni* Oudemans than are Italian bees or Italian/Africanized

hybrids. *Genetics and Molecular Biology*, 23, 89-92. doi: 10.1590/S1415-47572000000100016

- Guzman-Novoa, E., Morfin, N., De la Mora, A., Macías-Macías, J. O., Tapia-González, J. M., Contreras-Escareño, F., Medina-Flores, C. A., Correa-Benítez, A., & Quezada-Euán, J. J. G. (2020). The process and outcome of the africanization of honey bees in Mexico: lessons and future directions. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 404. doi: 10.3389/fevo.2020.608091
- Harpur, B. A., Kadri, S. M., Orsi, R. O., Whitfield, C. W., & Zayed, A. (2020). Defense response in Brazilian honey bees (*Apis mellifera scutellata* × spp.) is underpinned by complex patterns of admixture. *Genome Biology and Evolution*, 12(8), 1367-1377. doi: 10.1093/gbe/evaa128
- Harpur, B. A., Minaei, S., Kent, C. F., & Zayed, A. (2012). Management increases genetic diversity of honey bees via admixture. *Molecular Ecology*, 21(18), 4414-4421. doi: 10.1111/j.1365-294X.2012.05614.x
- Henriques, D., Chávez-Galarza, J., SG Teixeira, J., Ferreira, H., J. Neves, C., Franco, T. M., & Pinto, M. A. (2020). Wing geometric morphometrics of workers and drones and single nucleotide polymorphisms provide similar genetic structure in the Iberian honey bee (*Apis mellifera iberiensis*). *Insects*, 11(2), 89. doi: 10.3390/insects11020089
- Kekecoglu, M., & Soysal, M. I. (2010). Genetic diversity of bee ecotypes in Turkey and evidence for geographical differences. *Romanian Biotechnological Letters*, 15(5), 5646-5653. doi:
- Leclercq, G., Francis, F., Gengler, N., & Blacqui re, T. (2018). Bioassays to quantify hygienic behavior in honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies: a review. *Journal of Apicultural Research*, 57(5), 663-673. doi: 10.1080/00218839.2018.1494916
- Leclercq, G., Pannebakker, B., Gengler, N., Nguyen, B. K., & Francis, F. (2017). Drawbacks and benefits of hygienic behavior in honey bees (*Apis mellifera* L.): a review. *Journal of Apicultural Research*, 56(4), 366-375. doi: 10.1080/00218839.2017.1327938
- Montero-Mendieta, S., Tan, K., Christmas, M. J., Olsson, A., Vil , C., Wallberg, A., & Webster, M. T. (2019). The genomic basis of adaptation to high-altitude habitats in the

eastern honey bee (*Apis cerana*). *Molecular Ecology*, 28(4), 746-760. doi: 10.1111/mec.14986

- Moretti, C. J., Costa, C. P., & Franco, T. M. (2018). Wing morphometrics reveals the migration patterns of Africanized honey bees in Northeast Brazil. *Sociobiology*, 65(4), 679-685. doi: 10.13102/sociobiology.v65i4.3403
- Nganso, B. T., Fombong, A. T., Yusuf, A. A., Pirk, C. W., Stuhl, C., & Torto, B. (2017). Hygienic and grooming behaviors in African and European honeybees—New damage categories in *Varroa destructor*. *PLoS One*, 12(6), e0179329. doi: 10.1371/journal.pone.0179329
- Nielsen, D. I., Ebert, P. R., Hunt, G. J., Guzmán-Novoa, E., Kinnee, S. A., & Page Jr, R. E. (1999). Identification of Africanized honey bees (Hymenoptera: Apidae) incorporating morphometrics and an improved polymerase chain reaction mitotyping procedure. *Annals of the Entomological Society of America*, 92(2), 167-174. doi: 10.1093/aesa/92.2.167
- Nunes, L. A., Araújo, E. D. D., Marchini, L. C., & Moreti, A. C. (2012). Variation morphogeometrics of Africanized honey bees (*Apis mellifera*) in Brazil. *Iheringia. Série Zoologia*, 102, 321-326. doi: 10.1590/S0073-47212012005000002
- Parker, R., Melathopoulos, A. P., White, R., Pernal, S. F., Guarna, M. M., & Foster, L. J. (2010). Ecological adaptation of diverse honey bee (*Apis mellifera*) populations. *PLoS One*, 5(6), e11096. doi: 10.1371/journal.pone.0011096
- Santos e Silvia, F. A., Souza, D. C., Alves, A. A., Campelo, J. E. G., do Nascimento Bendini, J., Nunes, L. A., Verzignassi, J. R., Paludo, F., Fernandes, P. B., Da Silva, J. R. G., & da Silva, J. Q. (2019). Morfometria geométrica das asas permite verificar o posicionamento racial de abelhas africanizadas. *Pubvet*, 13, 150. doi: 10.31533/pubvet.v13n11a453.1-7
- Schneider, S. S., DeGrandi-Hoffman, G., & Smith, D. R. (2004). The African honey bee: factors contributing to a successful biological invasion. *Annual Reviews in Entomology*, 49(1), 351-376. doi: 10.1146/annurev.ento.49.061802.123359
- Spivak, M., & Danka, R. G. (2021). Perspectives on hygienic behavior in *Apis mellifera* and other social insects. *Apidologie*, 52, 1-16.

- Tan, K., Meixner, M. D., Fuchs, S., Zhang, X., He, S., Kandemir, I., Sheppard, W. S., & Koeniger, N. (2006). Geographic distribution of the eastern honeybee, *Apis cerana* (Hymenoptera: Apidae), across ecological zones in China: morphological and molecular analyses. *Systematics and Biodiversity*, 4(4), 473-482. doi:10.1017/S1477200006002015
- Taylor, O. R. (1985). African bees: potential impact in the United States. *Bulletin of the ESA*, 31(4), 15-24. doi: 10.1093/besa/31.4.15
- Uzunov, A., Costa, C., Panasiuk, B., Meixner, M., Kryger, P., Hatjina, F., Bouga, M., Andonov, S., Bienkowska, M., Le Conte, Y., Wilde, J., Gerula, D., Kiprijanovska, H., Filipi, J., Petrov, P., Routtinen, L., Pechhacker, H., Berg, S., Dyrba, W., Ivanova, E., & Büchler, R. (2014). Swarming, defensive and hygienic behaviour in honey bee colonies of different genetic origin in a pan-European experiment. *Journal of Apicultural Research*, 53(2), 248-260. doi: 10.3896/IBRA.1.53.2.06
- Wilson-Rich, N., Spivak, M., Fefferman, N. H., & Starks, P. T. (2009). Genetic, individual, and group facilitation of disease resistance in insect societies. *Annual review of entomology*, 54, 405-423. doi: 10.1146/annurev.ento.53.103106.093301

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados encontrados na tese foram de suma importância para o entendimento das populações de abelhas africanizadas do Semiárido Brasileiro, chamando assim a atenção para a conversação, cuidados e seleção dos ecótipos presentes em cada local da região. Nossos resultados afirmam que apesar de serem colônias de abelhas africanizadas situadas no Semiárido, cada população possui suas particularidades e necessitam proteção.

Os ecótipos encontrados demonstram a influência da ação humana no material genético disponível na natureza, reafirmamos a importância da conservação dos ecótipos para evitar problemas futuros, os quais já ocorrem em outros países. Novamente chamamos atenção para a comparação entre as populações do Rio Grande do Norte e Sergipe, estados com níveis de profissionalização diferentes na apicultura e que nossos dados apontam como fator determinante para o posicionamento racial destas populações, reafirmando a influência antrópica.

Por fim, deixamos registrado as diferenças morfométricas entre linhagens higiênicas e não higiênicas, tornando futuramente um possível padrão de seleção das mesmas e deixando claro que a introdução da abelha africana (*Apis mellifera scutellata*) trouxam benefícios para a apicultura brasileira, onde foi encontrado que colônias mais próximas das africanas possuem comportamento higiênico mais elevado.