



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ARIDO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO  
MESTRADO EM ECOLOGIA

VINÍCIO HEIDY DA SILVA TEIXEIRA DE SOUZA

**Adaptações de abelhas sem ferrão nativas da Caatinga (*Melipona subnitida*) para lidar com as temperaturas elevadas durante o forrageamento**

MOSSORÓ

2017

VINÍCIO HEIDY DA SILVA TEIXEIRA DE SOUZA

**Adaptações de abelhas sem ferrão nativas da Caatinga (*Melipona subnitida*) para lidar com as temperaturas elevadas durante o forrageamento**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural do Semiárido – UFERSA, Campus Mossoró, para a obtenção do título Mestre em Ecologia e Conservação

Orientador: Michael Hrcir

MOSSORÓ – RN

MARÇO

© 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 nº9.610/1998. 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.

S719a Souza, Vinício Heidy da Silva Teixeira  
de.

Adaptações de abelhas sem ferrão nativas da  
Caatinga (*Melipona subnitida*) para lidar com as  
temperaturas elevadas durante o forrageamento /  
Vinício Heidy da Silva Teixeira de Souza. - 2017.  
30 f. : il.

Orientadora: Michael Hrnçir.  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal  
Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em  
Ecologia e Conservação, 2017.

1. Termorregulação. 2. Abelha sem Ferrão.  
3. Floresta Tropical Seca. 4. Forrageamento.  
I. Hrnçir, Michael, orient. II. Título.

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.

VINÍCIO HEIDY DA SILVA TEIXEIRA DE SOUZA


**ADAPTAÇÕES DE ABELHAS SEM FERRÃO NATIVAS DA CAATINGA  
(*Melipona subnitida*) PARA LIDAR COM AS TEMPERATURAS ELEVADAS  
DURANTE O FORRAGEAMENTO**


Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Mestre em Ecologia e Conservação.


Linha de Pesquisa: Ecologia e Conservação de Ecossistemas Terrestres

Defendida em: 29/03/2017.

**BANCA EXAMINADORA**

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Michael Hrcir (UFERSA)  
Presidente

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Daniel Cunha Passos (UFERSA)  
Membro Examinador

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Marco Jacinto Katzenberger Baptista Novo  
Membro Externo

Á pessoa que mais amo na minha vida,  
minha MãE.

DEDICO!

## **AGRADECIMENTOS**

Ao me orientador, Michael Hrcir, por tantos anos de orientação, paciência e confiança.

À Universidade Federal Rural do Semiárido, ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação por ter possibilitado o desenvolvimento da pesquisa.

A CAPES pela concessão da bolsa.

Aos membros da banca pelas contribuições no trabalho.

A minha mãe, Maria das Neves, por todo apoio, paciência e por comprar a minha ideia de estudar mais e mais, mais do que qualquer pessoa de sua família.

Aos meus parceiros de Laboratório e amigos com quem pude dividir os anseios e vitórias ao longo dessa jornada (Paloma, Jaciara, Noeide, Geovan, Amanda, Sara, Gustavo e Kewen).

A Anne, que sempre esteve quando eu precisei, nem que fosse para me distrair nos momentos de nervosismo, me fazendo rir sempre.

As minhas bests que são pessoas maravilhosas e que quero ter próximo para todo o sempre (Elane, Marina, Laiza e Aninha).

## RESUMO

Devido às temperaturas ambientais elevadas em combinação com um alto índice de radiação solar, a Floresta Tropical Sazonalmente Seca brasileira, a Caatinga, é um ambiente termicamente desafiador para abelhas, principalmente durante a coleta de alimento fora do ninho. O objetivo do presente estudo foi investigar as adaptações de abelhas para lidar com as condições térmicas da Caatinga. Como modelo de estudo foi utilizada *Melipona subnitida*, uma espécie de abelha sem ferrão (Apidae, Meliponini) nativa desse bioma. Foi analisado (1) a temperatura crítica máxima ( $CT_{max}$ ) dos indivíduos (operárias jovens e forrageadoras) e o tempo de aclimação adequado para esse tipo de estudo (tempos de aclimação testados: sem aclimação, 30 min, 12 h, 48 h, 72 h); (2) o efeito da temperatura ambiente ao sol ( $T_a$ ) sobre a temperatura torácica ( $T_{tx}$ ) das forrageadoras; (3) a possível transferência de calor do tórax para o abdômen, mensurando a diferença de temperaturas entre estas duas áreas, em função da temperatura ambiente, para abelhas vivas e mortas; e (4) o papel da pelagem torácica na taxa de aquecimento e resfriamento das abelhas. Os resultados dos experimentos mostraram que (1) não houve diferença significativa com respeito ao  $CT_{max}$  entre abelhas jovens e forrageadoras. Após 48 horas de aclimação (tempo de aclimação com maior  $CT_{max}$  e menor variação comparado aos outros tempos de aclimação), a  $CT_{max}$  média das abelhas foi de  $50,2^{\circ}\text{C} \pm 0,7$ . (2) A  $T_{tx}$  das forrageadoras aumentou conforme aumentou a  $T_a$ . Em  $T_a < 40^{\circ}\text{C}$ , a  $T_{tx}$  se manteve acima da  $T_a$ ; já em  $T_a > 41^{\circ}\text{C}$ , a  $T_{tx}$  ficava abaixo da  $T_a$ . (3) Acontece uma possível transferência ativa de calor do tórax ( $T_{tx}$ ) para o abdômen ( $T_{abd}$ ), pois a medida que a  $T_a$  aumentou, a diferença da  $T_{tx}$  e da  $T_{abd}$  em forrageadoras vivas diminuiu. Já em abelhas mortas não foi observada essa relação com a  $T_a$ . A diferença entre  $T_{tx}$  e  $T_{abd}$  foi praticamente constante em todas as  $T_a$  estudadas. (4) A pelagem retarda o aquecimento de *M. subnitida*. Abelhas mortas sem pelagem mostraram uma taxa de aquecimento maior do que as abelhas mortas com a pelagem natural. Porém, não houve diferença entre esses dois grupos experimentais com respeito às taxas de resfriamento. Os resultados desse estudo mostram que *M. subnitida* consegue tolerar temperaturas superiores às encontradas naturalmente no ambiente externo. Adicionalmente, as forrageadoras controlam a temperatura corporal através de mecanismos ativos (transferência de calor para o abdômen) e passivos (pelagem torácica), o que permite que esta espécie consiga forragear em temperaturas elevadas. Resultados como estes dão subsídios para entender melhor as adaptações necessárias para lidar com um aumento da temperatura ambiental, como previsto por cenários de aquecimento global, o que vai ser importante para possíveis ações voltadas para a conservação desta espécie.

**Palavras-chave:** Termorregulação. Abelha sem Ferrão. Floresta Tropical Seca. Forrageamento.

## ABSTRACT

Owing to high environmental temperatures in combination with elevated solar radiation, the Brazilian Seasonally Dry Tropical Forest, the Caatinga, is a thermally challenging environment for bees, particularly during food collection outside of the nest. The aim of the present study was to investigate the adaptations of bees that allow these animals to survive the thermal conditions of this biome. As model species for our study, we used *Melipona subnitida*, a stingless bee species (Apidae, Meliponini), endemic from Caatinga. We analysed the following features: (1) the critical thermal maximum ( $CT_{max}$ ) of the individuals (both young workers and foragers) as well as the best acclimation time for this kind of study (acclimation times tested: without acclimation, 20 min, 12 h, 48 h, 72 h); (2) The influence of ambient temperature in direct sunlight ( $T_a$ ) on the thoracic temperature of foragers ( $T_{tx}$ ); (3) the possible heat transfer from the thorax to the abdomen, assessed through the temperature difference between these two body parts associated with ambient temperature in both alive and dead individuals; and (4) the role of the thoracic hairs in heating and cooling rates of the bees. The results of the experiments demonstrated that (1) there was no significant difference concerning  $CT_{max}$  between young worker bees and foragers. After 48 hours of acclimation (acclimation time showing the highest  $CT_{max}$  and the lowest variation compared to the other acclimation times tested), the bees' average  $CT_{max}$  was  $50.2^{\circ}\text{C} \pm 0.7$ . (2) The foragers'  $T_{tx}$  increased with increasing  $T_a$ . At  $T_a < 40^{\circ}\text{C}$ , the bees'  $T_{tx}$  was higher than  $T_a$ ; however, at  $T_a > 41^{\circ}\text{C}$ , the foragers'  $T_{tx}$  remained below  $T_a$ . (3) There is a possible active heat transfer from the thorax ( $T_{tx}$ ) to the abdomen ( $T_{abd}$ ) given that, as  $T_a$  increased, the difference between  $T_{tx}$  and  $T_{abd}$  decreased in alive foragers. In dead individuals, in contrast, we did not observe this association with  $T_a$ . The difference between  $T_{tx}$  and  $T_{abd}$  was relatively constant over all studied  $T_a$ s. (4) The thoracic hair slow down the heating of *M. subnitida*. Dead bees without thoracic hair had a higher heating rate than dead bees with their natural air cover. However, there was no difference between the two experimental groups concerning the cooling rates. The results of this study demonstrate that *M. subnitida* tolerates ambient temperatures that are higher than those found in their natural outside environment. In addition, foragers control their body temperature through active (heat transfer to the abdomen) and passive (thoracic hair) mechanisms, which enables the bees to forage at high environmental temperatures. Results like these of the present study provide important insights into the adaptations necessary to deal with increasing environmental temperatures, as predicted by global warming scenarios.

**Keywords:** Thermoregulation, Stingless Bee. Tropical Dry Forest. Foraging.



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Experimento de CTmax. Em cada repetição foram colocadas duas placas de Petri com 4 abelhas cada dentro de incubadoras D.B.O.....	15
<b>Figura 2</b> – Setup utilizado para impedir o superaquecimento da filmadora dentro da estufa. A câmera foi envolta por um isopor com abertura para realizar as filmagens e dentro do isopor foi colocada uma bolsa térmica previamente congelada.....	16
<b>Figura 3</b> – Setup dos experimentos envolvendo o aquecimento de abelhas mortas. Abelhas mortas alfinetadas foram colocadas dentro de um cilindro de cartolina (centro da imagem). As abelhas tinham uma distância de 45 cm de uma fonte luz (lado esquerdo da imagem). Uma termo-câmera (lado direito da imagem) foi programada para tirar fotos a cada 30 segundos.....	18
<b>Figura 4</b> – Pelagem torácica de <i>M. subnitida</i> . A esquerda um indivíduo com sua pelagem natural no escudo, a direita um indivíduo com os pelos do escudo removidos.....	20
<b>Figura 5</b> – Comparação da temperatura crítica máxima (CTmax) com diferentes tempos de aclimação (Kruskal-Wallis One Way ANOVA). Letras iguais indicam que não houve diferença significativa (Dunn's Method: $P > 0,05$ ), enquanto que letras diferentes indicam que existe diferença significativa entre os tratamentos (Dunn's Method): $P < 0,05$ ). No <i>box plot</i> , a caixa indica a distribuição de 50 % dos valores, a linha dentro da caixa indica a mediana, a linha tracejada indica a média aritmética, as hastes delimitam a distribuição de 80 % dos valores e as esferas indicam os valores extremos.....	22
<b>Figura 6</b> – Comparação da temperatura crítica máxima (CTmax) de indivíduos jovens e forrageadoras (Teste-t: $t = 1,9$ ; $df = 14$ ; $P = 0,074$ ). No <i>box plot</i> , a caixa indica a distribuição de 50 % dos valores, a linha dentro da caixa indica a mediana, a linha tracejada indica a média aritmética, as hastes delimitam a distribuição de 80 % dos valores e as esferas indicam os valores extremos.....	22
<b>Figura 7</b> – Relação entre a temperatura ambiental ao sol ( $T_a$ ) e a temperatura torácica ( $T_{tx}$ ) de <i>Melipona subnitida</i> . Foram tiradas 100 foto das abelhas forrageando e delas foram realizadas 555 marcações da temperatura torácicas das abelhas se alimentando. Círculos representam as $T_{tx}$ das forrageadoras de <i>M. subnitida</i> ; a linha tracejada representa a relação perfeita entre a temperatura torácica e a temperatura efetiva ( $T_{tx} = T_a$ ); a linha continua representa a regressão linear: $T_{tx} = 23 + 0,45 * T_a$ ; $R_{adj}^2 = 0,67$ ; $P < 0,0001$ .....	23
<b>Figura 8</b> – Transferência de calor do tórax para o abdômen ( $T_{tx} - T_{abd}$ ) em <i>Melipona subnitida</i> em relação a temperatura ambiente. Círculos (abelhas vivas) e quadrados (abelhas mortas) representam os valores médios da função de transferência de calor ( $T_{tx} - T_{abd}$ ) em cada temperatura amostrada. Para este resultado foram realizadas médias das temperaturas do tórax e abdômen das abelhas para cada temperatura amostrada. Linhas contínuas representam as regressões lineares: abelhas vivas: $R_{adj}^2 = 0,34$ ; $P < 0,001$ ; abelhas mortas: $R_{adj}^2 = 0,03$ ; $P < 0,05$ .....	24
<b>Figura 9</b> – Aquecimento e resfriamento de abelhas mortas. O gráfico mostra a temperatura torácica de média de todas as abelhas durante o aquecimento (círculos pretos) e resfriamento (círculos cinzas). Linhas solidas indicam a regressão entre a temperatura torácica e o tempo. Para o aquecimento uma regressão exponencial de aumento máximo, 3 parâmetros ( $T_{tx} = 26,85 + 20,45*[1-\exp\{-0,3*\text{tempo}\}]$ ), e para o resfriamento uma regressão exponencial de queda, 3 parâmetros ( $T_{tx} = 31,7 + 7613,9*\exp[-0,2*\text{tempo}]$ ). Aquecimento $R_{adj}^2 = 0,9865$ ; $P < 0,0001$ ; Resfriamento $R_{adj}^2 = 0,9845$ ; $P < 0,0001$ . Os traços longos indicam a metade do tempo necessário para estabilizar a temperatura do tórax ( $t_{1/2}$ ), os traços curtos indicam o excesso máximo da temperatura torácica em relação à temperatura ambiente ( $Texc$ ).....	25
<b>Figura 10</b> – Velocidade de aquecimento (A) e resfriamento (B) de indivíduos mortos de <i>Melipona subnitida</i> com e sem pelo natural. Nos <i>box plots</i> , a caixa indica a distribuição de 50 % dos valores, a linha dentro da caixa indica a mediana, as hastes delimitam a distribuição de 80 % dos valores e as esferas indicam os valores extremos. O asterisco indica diferença significativa entres os grupos (Teste-t pareado: $t = -2,592$ ; $P < 0,05$ ).....	26

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	11
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	14
<b>2.1 Período, local do estudo e espécie estudada</b> .....	14
<b>2.2 Temperatura crítica máxima</b> .....	14
<b>2.3 Temperatura corporal durante o forrageamento</b> .....	16
<b>2.4 Transferência de calor</b> .....	17
<b>2.5 O papel da pelagem na regulação da temperatura torácica</b> .....	18
<b>2.6 Análise de dados</b> .....	20
<b>3 RESULTADOS</b> .....	21
<b>3.1 Temperatura crítica máxima</b> .....	21
<b>3.2 Temperatura corporal durante o forrageamento</b> .....	23
<b>3.3 Transferência de calor</b> .....	23
<b>3.4 O papel da pelagem na regulação da temperatura torácica</b> .....	24
<b>REFERENCIAS</b> .....	29

## 1 INTRODUÇÃO

A temperatura corporal influencia a velocidade das reações químicas e metabólicas dos animais e, como consequência, a atividade e o desempenho dos indivíduos (HUEY; KINGSOLVER, 1993). Enquanto os animais endotérmicos regulam sua temperatura corporal para permanecer na faixa ótima, a temperatura ambiente determina a temperatura corporal nos animais ectotérmicos (HILL et al., 2012). Nesses animais, o aumento da temperatura ambiental ocasiona uma melhora em seu desempenho comportamental até que atingem um desempenho comportamental máximo. Porém, quando a temperatura ambiente supera a temperatura ótima dos organismos, seu desempenho diminui devido a problemas motores (HUEY; BERRIGAN, 2001; PÖRTNER, 2001; HUEY et al., 2012) e fisiológicos tais como a desidratação (YODER et al., 2009), falhas no funcionamento dos neurônios (CHOWN; TERBLANCHE, 2007) e a desnaturação das proteínas (CHOWN; NICHOLSON, 2004). Quando expostos a essas temperaturas críticas os organismos podem ainda sobreviver caso consigam, de alguma forma, resistir ou compensar estas contingências térmicas. Entretanto normalmente eles chegam a óbito por causa dos problemas motores causados pelas temperaturas elevadas (COWLES; BOGERT, 1944; RIBEIRO, 2012). Portanto, os animais ectotérmicos que vivem em ambientes onde as temperaturas ambientais podem atingir os valores críticos para a espécie precisam evitar ou resistir a essas temperaturas para garantir sua sobrevivência.

As abelhas são animais ectotérmicos e, conseqüentemente, seu metabolismo e sua atividade são influenciados pela temperatura ambiente (WILLMER; UNWIN, 1981). Elas precisam lidar com temperaturas ambientais elevadas quando desempenham suas atividades externas aos ninhos, principalmente as espécies que ocorrem na região tropical do planeta. O forrageamento em ambientes com altas temperaturas representa um grande desafio fisiológico para as abelhas (HEINRICH, 1993; HEINRICH, 1996). Nesses ambientes as abelhas possuem maiores chances de superaquecer, pois a atividade dos músculos torácicos, que proporciona o movimento das asas, aquece o tórax (HEINRICH, 1980), e esse aquecimento pode causar problemas pois pode elevar a temperatura corporal desses indivíduos mais de 10° acima da temperatura ambiente (HEINRICH, 1993).

Para coletar alimento e sobreviver em temperaturas elevadas sem correr o risco de superaquecimento, as abelhas desenvolveram diversas estratégias para resfriar o corpo durante

a atividade forrageira, entre elas a escolha de locais sombreados para forragear (HEINRICH, 1993; BIESMEIJER et al., 1999) e o resfriamento evaporativo regurgitando líquidos durante o voo (HEINRICH, 1993; HEINRICH, 1996; NICHOLSON, 2009). Outro mecanismo importante é a condução de calor do tórax para o abdômen: com o aumento da temperatura do ambiente, as abelhas aumentam a circulação da hemolinfa dentro do corpo, transferindo assim parte da energia térmica do tórax para o abdômen e, conseqüentemente, amenizando a temperatura do tórax, local de maior produção de calor devido aos músculos de voo (CHAPPELL, 1984; HEINRICH, 1993; HEINRICH, 1996).

As características morfológicas são muito importantes para entender a vulnerabilidade das abelhas a temperaturas elevadas, principalmente o tamanho e a coloração do corpo. Abelhas de tamanho pequeno, por exemplo, aquecem e resfriam mais rapidamente do que abelhas de tamanho grande (WILLMER; UWIN, 1981; STONE; WILLMER, 1989; PEREBOOM; BIESMEIJER, 2003; WILLMER; STONE, 2004). Para ectotérmicos em geral, resfriar rápido pode ser muito importante para voltar à temperatura corporal ideal após o forrageamento em ambientes quentes. Por outro lado, aquecer lentamente permite que as abelhas grandes possam voar por mais tempo em ambientes quentes. A cor do corpo e a conseqüente absorção de energia térmica é outra característica importante (WILLMER; UWIN, 1981; PEREBOOM; BIESMEIJER, 2003). Aqui, abelhas de coloração clara refletem a radiação em maior quantidade (WILLMER; UNWIN, 1981) e, com isso, podem forragear por mais tempo em condições de elevada radiação solar. Em contrapartida, esses organismos de coloração clara não conseguem aquecer de forma rápida como os de coloração escura, fazendo com que demorem para aumentar a temperatura corporal nos horários mais frios do dia.

O grupo das abelhas sem ferrão (Apidae, Meliponini) inclui mais de 500 espécies distribuídas nas zonas tropical e subtropical do planeta (MICHENER, 2013). Em decorrência desse grande número de espécies, os meliponíneos são muito diversificados quanto as suas características comportamentais e morfológicas. A concentração da sua distribuição geográfica nos trópicos ocorre, provavelmente, devido à baixa capacidade dessas espécies de regular a temperatura do ninho (MICHENER, 1974). Apesar do fato de que a vida nesses ambientes mais quentes proporciona um ambiente climático favorável para a cria, que precisa de uma temperatura entre 28 a 36°C para seu desenvolvimento bem-sucedido (JONES; OLDROYD, 2007), as abelhas forrageiras ocasionalmente enfrentam temperaturas ambientais perto do valor crítico durante a coleta de alimento, principalmente nos horários com elevada

radiação solar (WILLMER, 1983). Um ambiente termicamente desafiador para abelhas é a Floresta Tropical Sazonalmente Seca Brasileira, a Caatinga. Este bioma possui uma baixa riqueza de espécies de abelhas comparado aos biomas adjacentes (ZANELLA, 2000; ZANELLA; MARTINS, 2003), fato que pode estar associado à elevada temperatura do ambiente durante todo o ano (PRADO, 2003). A temperatura ambiental deste bioma pode chegar a valores máximos mensais acima de 39 °C (MAIA-SILVA et al., 2015) e em área de forrageamento, onde tem uma maior exposição à radiação solar direta, pode chegar a 50 °C no período mais quente do dia (TEIXEIRA-SOUZA, 2015).

O presente estudo teve como objetivo investigar as adaptações de *Melipona subnitida*, uma espécie de abelha sem ferrão nativa da Caatinga, para lidar com as condições térmicas durante o forrageamento. *Melipona subnitida* tem um tamanho intermediário em relação a outras espécies do mesmo grupo (distância intertegular: 2,79 mm), possui uma coloração escura da cabeça ao abdômen e uma pelagem dourada em seu tórax. Tentamos responder as seguintes perguntas: (1) Qual a temperatura crítica máxima dos indivíduos? (2) A temperatura corporal das forrageadoras se aproxima às temperaturas críticas durante a coleta de alimento em áreas ensolaradas? E (3) qual o papel da pelagem no aquecimento das forrageadoras?

Visto que a Caatinga é caracterizada por temperaturas elevadas durante todo o ano (MAIA-SILVA et al., 2015) e uma elevada radiação solar global (SOUZA et al., 2015) e como *M. subnitida* é nativa da Caatinga, esperamos que essa espécie de abelha sem ferrão possua adaptações morfológicas e fisiológicas que permitem sua sobrevivência nesse ambiente. (1) Esperamos que os indivíduos tolerem temperaturas elevadas para suportar as temperaturas a que estão expostas durante o forrageamento; (2) esperamos que as forrageadoras amenizem o excesso da temperatura torácica em temperaturas ambientais elevadas transferindo calor para o abdômen e, assim, diminuindo as chances de superaquecimento. (3) Uma das características morfológicas importantes, possivelmente, são os pelos presentes no tórax das abelhas. Esperamos que este seja uma adaptação importante que, por ter uma coloração clara, ajude a diminuir a taxa de aquecimento corporal auxiliando, assim, na manutenção da temperatura corporal.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Período, local do estudo e espécie estudada

O estudo foi realizado entre abril de 2015 a setembro de 2016, no campus central da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA: 5°11'S, 37°20'O) em Mossoró, Rio Grande do Norte, Brasil. Para os experimentos, utilizamos indivíduos de *M. subnitida* provenientes de 4 colônias mantidas no meliponário do Laboratório de Ecologia Comportamental no campus central da UFERSA - RN.

### 2.2 Temperatura crítica máxima

Para avaliar as temperaturas críticas de *M. subnitida* utilizamos o método de temperatura crítica máxima (*CTmax*) proposto por Hutchison (1961). A *CTmax* é comumente usada para testar o efeito das temperaturas críticas sobre os requisitos térmicos dos organismos (LUTTERSCHMIDT; HUTCHISON, 1997). Esse método é bastante influenciado pelo contexto metodológico (TERBLANCHE et al., 2007). Parâmetros como a velocidade de aquecimento (CHOWN 2009; RIBEIRO et al., 2012) e a temperatura da aclimação e duração da aclimação (DUNLAP, 1969) podem influenciar a *CTmax* dos organismos (TERBLANCHE et al., 2007). Aqui testamos o tempo de aclimação adequado para *M. subnitida* e sua *CTmax*. Para isso, abelhas jovens foram capturadas na área de cria no interior das colônias. As abelhas jovens são reconhecidas pela sua coloração mais clara em relação as operárias mais velhas e não realizam atividades externas a colônia. Assim, elas não estão sujeitas a grandes variações da temperatura do ambiente (FERREIRA et al., 2017). Após a captura, as abelhas foram colocadas em placas de Petri (4 indivíduos por placa) e levadas a incubadoras D.B.O. (NT 703, Novatecnica, Brasil) a uma temperatura inicial de 28°C. Foram feitos experimentos para testar a *CTmax* com diferentes tempos de aclimação: (i) sem aclimação; (ii) aclimação de 30 minutos; (iii) aclimação de 24 horas; (iv) aclimação de 48 horas; e (v) aclimação de 72 horas. Nos experimentos com aclimação  $\geq 30$  min., as abelhas foram supridas com alimento (xarope de água:mel = 1:1 vol/vol) durante o tempo da aclimação. Para cada tempo de aclimação foram feitas três repetições com 8 indivíduos (4 em cada placa de Petri; Figura 1), somando 24 indivíduos por tempo de aclimação.



**Figura 1** - Experimento de  $CT_{max}$ . Em cada repetição foram colocadas duas placas de Petri com 4 abelhas cada dentro de incubadoras D.B.O.

Após a aclimação determinamos a  $CT_{max}$  anotando a temperatura em que a atividade motora controlada dos indivíduos parou e as abelhas tombaram ("queda mortal": Kovac et al., 2014). Para determinar a temperatura onde ocorreu a queda mortal sem abrir a estufa (e assim influenciando a temperatura interna), as abelhas foram filmadas a partir do fim do tempo de aclimação (Filmadora digital: SONY, DCR-SR68; dentro de uma caixa de isopor com uma bolsa térmica congelada como proteção contra superaquecimento do equipamento; Figura 2). A temperatura dentro da estufa foi aumentada a uma taxa de  $0,25^{\circ}\text{C}/\text{min}$  (taxa comumente utilizada para analisar a  $CT_{max}$  de insetos; TERBLANCHE et al., 2005; TERBLANCHE et al., 2006; KOVAC et al., 2014) até atingir  $54^{\circ}\text{C}$ . Durante todo o experimento foi registrada a temperatura interna da estufa utilizando um sensor de temperatura (T1MC50) conectado a um *datalogger* (Hobo U12-008 StowAway; Onset Computer Corporation; um registro a cada 10 segundos). Após atingir  $54^{\circ}\text{C}$ , as abelhas e a filmadora foram retiradas da incubadora. As filmagens foram analisadas com respeito ao horário exato em que ocorreu a queda mortal das abelhas. Comparando esse horário com as gravações de temperatura foi possível determinar a  $CT_{max}$ .

Para analisar se existe uma diferença com respeito à  $CT_{max}$  entre operárias jovens e operárias forrageadoras, indivíduos jovens e forrageadoras foram submetidos simultaneamente a uma aclimação de dois dias (tempo definido pelo resultado do

experimento sobre o tempo de aclimação) em uma temperatura de 28 °C. Seguindo a metodologia descrita acima, foram realizadas três repetições com 4 indivíduos jovens e 4 forrageadoras cada (total de 12 indivíduos para cada grupo).



**Figura 2** – Setup utilizado para impedir o superaquecimento da filmadora dentro da estufa. A câmera foi envolta por um isopor com abertura para realizar as filmagens e dentro do isopor foi colocada uma bolsa térmica previamente congelada.

### 2.3 Temperatura corporal durante o forrageamento

Para avaliar o efeito da temperatura ambiental ao sol em uma fonte de alimento sobre a temperatura corporal das forrageadoras de *M. subnitida*, operarias foram treinadas a coletar uma solução de água e mel (água:mel = 1:1 vol/vol) em um alimentador artificial. No treinamento as abelhas foram estimuladas a reconhecer o alimento em um tripé. Esse estímulo se deu através do suprimento de xarope as abelhas na entrada do ninho. Uma vez reconhecendo o alimento, as abelhas aprendem a encontrar o alimentador e com isso conseguimos afastar o tripé até uma distância de 10 metros da entrada das colônias. Após o treinamento, foram tiradas fotos térmicas das abelhas (câmera termográfica; FLIR SC620, Flir-Systems, Suécia) coletando o alimento oferecido. Os registros ocorreram em dois dias em



maio de 2016 e foram realizados entre 07:00 e 16:00 horas. Como radiador de referência foi acoplado ao alimentador um tubo de cobre (dimensões: 20 cm de comprimento; 3 cm de diâmetro), com o interior pintado de preto fosco (HARTFELDER et al., 2013), representando a temperatura ambiental ao sol ( $T_a$ ) no momento das fotos. No total, foram feitas 100 fotografias térmicas. Indivíduos certamente foram fotografados mais de uma vez, pois o número de abelhas forrageando era pequeno (o número de abelhas forrageando variou de 1 a 15) mas não foi possível excluir as abelhas que já tinham sido fotografadas, pois qualquer marcação no corpo dos indivíduos iria influenciar sua temperatura corpórea. As fotos foram calibradas utilizando a emissividade cuticular de *Apis mellifera* de 0,95 (STABENTHEINER; SCHMARANZER, 1987). Em cada imagem foram medidas as temperaturas do tórax ( $T_{tx}$ ) e do abdômen ( $T_{abd}$ ) de todas as abelhas no alimentador e a  $T_a$  (tubo) através do *software* ThermaCAM Researcher Pro 2.10 (Flir Systems, Suécia).

## 2.4 Transferência de calor

Para analisar se as forrageadoras de *M. subnitida* transferem o calor do tórax para o abdômen para resfriar o corpo durante a coleta de alimento em temperaturas elevadas, utilizamos os dados obtidos nas imagens termográficas do experimento anterior e analisamos a diferença entre as temperaturas do tórax e do abdômen ( $T_{tx} - T_{abd}$ ) em função da  $T_a$  (temperatura ambiental ao sol). Adicionalmente, investigamos se a possível transferência de calor ocorre por condução passiva ou de maneira ativa através do bombeamento de hemolinfa (HEINRICH, 1993). Para isso, abelhas foram capturadas no interior dos ninhos e mortas por congelamento (6 indivíduos). Depois foram montadas em alfinetes, e colocados por 25 minutos a uma temperatura de 25 °C em uma estufa D.B.O. (NT 703, Novatecnica, Brasil) para garantir que as repetições (6 repetições com um indivíduo cada) começassem com características térmicas parecidas. Após retiradas da estufa, as abelhas alfinetadas foram alocadas a 45 cm de distância de uma lâmpada de 500 W (previamente ligada a 25 minutos), envoltos por um tubo para excluir os efeitos convectivos sobre as abelhas (Figura 3). Durante 30 minutos com a lâmpada ligada foram tiradas fotos térmicas (FLIR SC620, Flir-Systems, Suécia) a cada 30 segundos. Como radiador de referência foi utilizado um tubo de cobre com interior pintado de preto fosco (veja acima) perto das abelhas, representando a temperatura ambiente ( $T_a$ ) no momento da foto. As fotos térmicas foram analisadas no *software* ThermaCAM Researcher Pro 2.10 (Flir Systems, Suécia). Foi considerada uma transferência

de calor ativa, se a diferença entre a temperatura do tórax e abdômen diminuísse com o aumento da temperatura efetiva nas forrageadoras vivas, mas não nas abelhas mortas (HEINRICH, 1976; HEINRICH; BUCHMANN, 1986).



**Figura 3** – Setup dos experimentos envolvendo o aquecimento de abelhas mortas. Abelhas mortas alfinetadas foram colocadas dentro de um cilindro de cartolina (centro da imagem). As abelhas tinham uma distância de 45 cm de uma fonte luz (lado esquerdo da imagem). Uma termo-câmera (lado direito da imagem) foi programada para tirar fotos a cada 30 segundos.

## 2.5 O papel da pelagem na regulação da temperatura torácica

Para investigar o papel da pelagem do tórax das abelhas sobre a regulação da temperatura corporal, analisamos a taxa de aquecimento e resfriamento de operárias de *M. subnitida* com e sem a pelagem natural do tórax. A nossa hipótese foi de que o pelo refletisse mais radiação e, conseqüentemente, retardasse o aquecimento do tórax das abelhas. Para o esse experimento utilizamos um método parecido com o descrito acima. Abelhas foram capturadas no interior dos ninhos e mortas por congelamento (11 indivíduos). Depois foram divididas em dois grupos, com pelagem e sem a pelagem (Figura 4). Nos indivíduos do grupo "sem pelagem", a pelagem da região superior do tórax foi removida com o auxílio de bisturis.

Após a preparação, as abelhas montadas em alfinetes e colocadas por 25 minutos a uma temperatura de 25 °C em uma estufa D.B.O. (NT 703, Novatecnica, Brasil) para garantir que o experimento começasse com características térmicas parecidas. Posteriormente, os indivíduos foram alocados a 45 cm de distância de uma lâmpada de 500 W (previamente ligada a 25 minutos) envoltos por um tubo de papelão (Figura 3) para excluir os efeitos convectivos sobre as abelhas para que aquecessem. Os experimentos duraram 60 minutos: 30 minutos com a lâmpada ligada (aquecimento) e 30 minutos com a lâmpada desligada (resfriamento). Durante todo experimento foram tiradas fotos térmicas (FLIR SC620, Flir-Systems, Suécia) a cada 30 segundos. Para os experimentos de aquecimento foram realizadas 11 repetições. Para o experimento de resfriamento foram realizadas 10 repetições (uma repetição a menos que no experimento de aquecimento devido a um problema técnico). Os experimentos dos indivíduos com e sem pelagem ocorreram simultaneamente, sendo em cada repetição um indivíduo com pelo e um sem pelo. Como radiador de referência colocamos um tubo de cobre com interior pintado de preto fosco perto das abelhas (veja acima), representando a temperatura ambiente ( $T_a$ ) no momento das fotos. As fotos térmicas foram analisadas com auxílio do software ThermaCAM Researcher Pro 2.10 (Flir Systems, Suécia). Nas fotos medimos a temperatura torácica das abelhas (com e sem pelagem) e a temperatura do tubo ( $T_a$ ). Com esses dados calculamos a constante  $K$  de aquecimento e resfriamento através da fórmula:

$$K = 0.5 \frac{T_{exc}}{t_{1/2}} \quad [1]$$

onde  $K$  é a constante de aquecimento/resfriamento,  $T_{exc}$  é o excesso máximo de temperatura ( $T_{tx} - T_a$ ), e  $t_{1/2}$  é a metade do tempo até  $T_{tx}$  atinge o equilíbrio com a  $T_a$  (WILLMER; UNWIN, 1981; PEREBOOM; BIESMEIJER, 2003). Esse tempo foi aferido através de regressões de decaimento exponencial (para o resfriamento) e de aumento exponencial (para o aquecimento) (*software*: SigmaPlot 12.0, Systat Softwares Inc., EUA) associando a temperatura torácica das abelhas medidas na imagem (variável dependente) à temperatura ambiente (temperatura do tubo medido na imagem; variável independente).



**Figura 4** – Pelagem torácica de *M. subnitida*. A esquerda um indivíduo com sua pelagem natural no escuto, a direita um indivíduo com os pelos do escuto removidos.

## 2.6 Análise de dados

Testamos se o tempo de aclimação influenciou a  $CT_{max}$  das abelhas jovens utilizando o teste de análise de Kruskal–Wallis (*test by ranks*; teste pós-hoc de Dunn para comparação entre pares), determinando se houve ou não diferença significativa entre as  $CT_{max}$  obtidas em cada grupo experimental (sem aclimação, 30 minutos, 24 horas, 48 horas e 72 horas de aclimação). A possível diferença entre a  $CT_{max}$  de operárias jovens e operárias forrageadoras foi verificado com um Teste-*t* de *Student*. O efeito da temperatura ambiental ao sol sobre a temperatura corporal das abelhas foi investigado através de uma regressão linear simples que indicou o quanto a temperatura corporal depende da temperatura ambiental. Para determinar se há uma transferência ativa de calor entre tórax e abdômen, calculamos o excesso de temperatura torácica em relação a temperatura do abdômen ( $T_{tx} - T_{abd}$ ) em forrageadoras vivas e abelhas mortas. O excesso médio foi relacionado à temperatura ambiental ( $T_a$ ) ao sol (abelhas vivas) ou à temperatura ambiental dentro do tubo de papelão (abelhas mortas) através de uma regressão linear simples. Uma diminuição da diferença entre a temperatura do tórax e do abdômen com o aumento da  $T_a$  apenas nas abelhas vivas e não nas mortas sugere uma transferência ativa de calor (HEINRICH, 1976; HEINRICH; BUCHMANN, 1986). Para o papel da pelagem sobre o aquecimento e

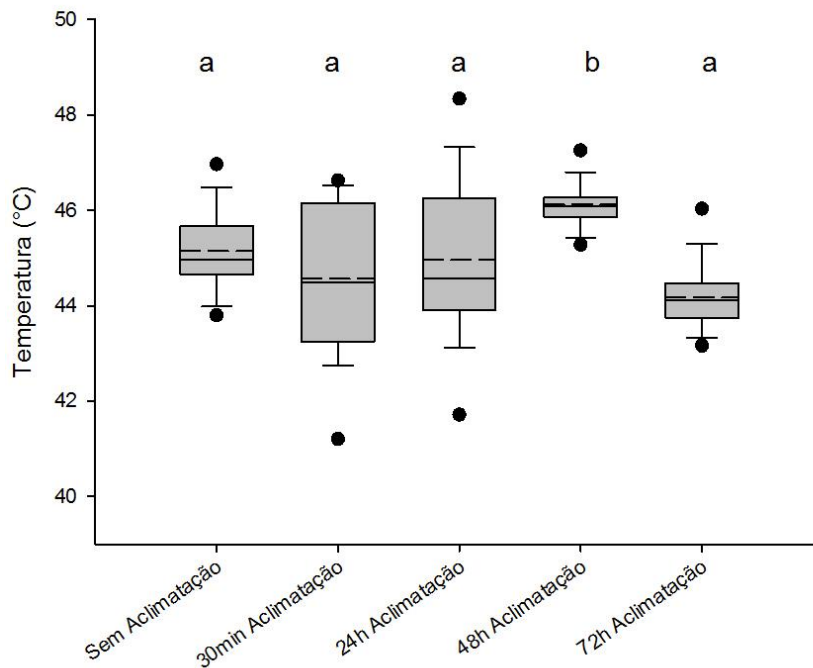
resfriamento das abelhas foi calculado a constante  $K$  (veja função [1]). Quanto maior  $K$ , mais rápido ocorre o resfriamento/aquecimento. Analisamos se existe diferença da presença ou ausência de pelo no aquecimento e resfriamento utilizando um Teste- $t$  pareado, comparando as abelhas com e sem a pelagem natural fotografadas simultaneamente.

Para todos os testes foi considerado o nível de significância de 5 % ( $P \leq 0,05$ ). As análises estatísticas e os gráficos foram feitos no programa estatístico SigmaPlot 12.0 (Systat Softwares Inc., EUA).

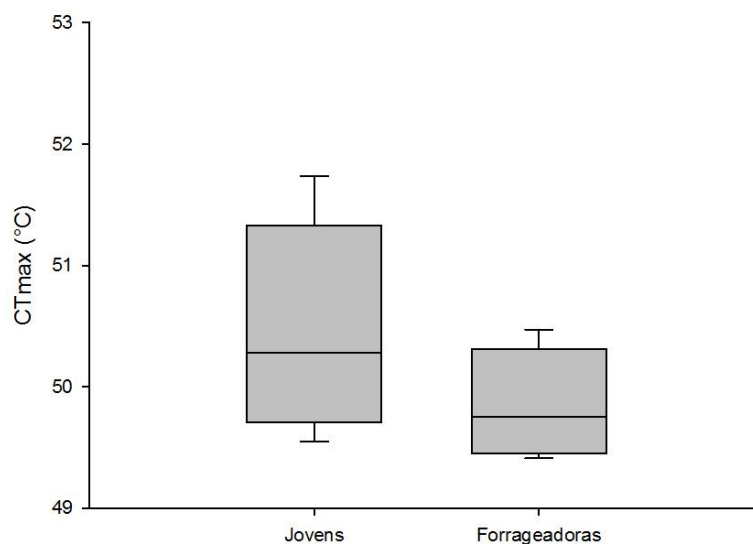
### 3 RESULTADOS

#### 3.1 Temperatura crítica máxima

Buscamos identificar o melhor tempo de aclimação para usar nas investigações (definir a partir de quando a medição da temperatura crítica máxima deixa de variar) sobre a temperatura crítica máxima ( $CT_{max}$ ) em *M. subnitida*. Os resultados do experimento indicaram uma diferença significativa com respeito à  $CT_{max}$  entre as abelhas aclimatadas a 28°C por 48 horas e os demais tratamentos (sem aclimação, 30 min., 24 h. e 72 h) (Kruskal Wallis one way ANOVA:  $P < 0,001$ ; teste de Dunn:  $P \leq 0,05$ ). A média da  $CT_{max}$  das abelhas submetidas a 48 horas de aclimação foi significativamente maior do que a das abelhas com tempos de aclimação inferiores e de 72 horas (sem aclimação:  $CT_{max} = 44,7^{\circ}\text{C} \pm 0,6$ ; 30 minutos:  $CT_{max} = 44,23^{\circ}\text{C} \pm 1,74$ ; 24 horas:  $CT_{max} = 44,29^{\circ}\text{C} \pm 1,45$ ; 48 horas:  $CT_{max} = 46^{\circ}\text{C} \pm 0,4$ ; 72 horas:  $CT_{max} = 44,18^{\circ}\text{C} \pm 0,68$ ; Figura 5). Na comparação da  $CT_{max}$  entre operárias jovens e forrageadoras não houve diferença significativa entre os dois grupos (Teste- $t$ :  $t = 1,9$ ;  $Df = 14$ ;  $P = 0,074$ ; Figura 6). Como o resultado dos dois grupos (jovens e forrageadoras) não mostrou diferença juntamos os dados dos dois grupos para definir a  $CT_{max}$  média para a *M. subnitida*, com isso sua  $CT_{max}$  foi de  $50,2^{\circ}\text{C} (\pm 0,7)$ .



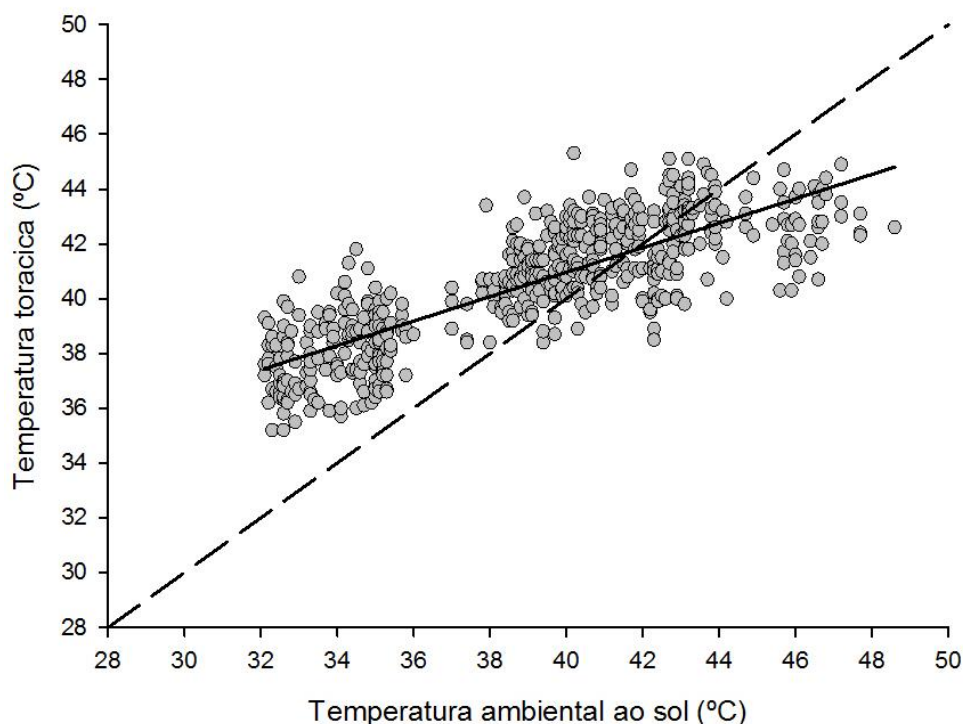
**Figura 5** – Comparação da temperatura crítica máxima ( $CT_{max}$ ) com diferentes tempos de aclimação (Kruskal-Wallis One Way ANOVA). Letras iguais indicam que não houve diferença significativa (Dunn's Method:  $P > 0,05$ ), enquanto que letras diferentes indicam que existe diferença significativa entre os tratamentos (Dunn's Method):  $P < 0,05$ . No *box plot*, a caixa indica a distribuição de 50 % dos valores, a linha dentro da caixa indica a mediana, a linha tracejada indica a média aritmética, as hastes delimitam a distribuição de 80 % dos valores e as esferas indicam os valores extremos.



**Figura 6** – Comparação da temperatura crítica máxima ( $CT_{max}$ ) de indivíduos jovens e forrageadoras (Teste-t:  $t = 1,9$ ;  $df = 14$ ;  $P = 0,074$ ). No *box plot*, a caixa indica a distribuição de 50 % dos valores, a linha dentro da caixa indica a mediana, a linha tracejada indica a média aritmética, as hastes delimitam a distribuição de 80 % dos valores e as esferas indicam os valores extremos.

### 3.2 Temperatura corporal durante o forrageamento

Os resultados do experimento para analisar o efeito da temperatura ambiental ao sol ( $T_a$ ) sobre a temperatura torácica das forrageadoras ( $T_{tx}$ ) indicaram uma forte relação entre os dois fatores. A  $T_{tx}$  de *M. subnitida* apresentou uma relação positiva a medida que a  $T_a$  aumentou (Regressão Linear:  $R^2_{adj} = 0,67$ ;  $P < 0,0001$ ; Figura 7). Porém, em temperaturas ambientais  $< 41,6$  °C, a  $T_{tx}$  das forrageadoras foi superior à temperatura ambiental, enquanto que em temperaturas ambientais  $> 41,6$  °C, a  $T_{tx}$  foi inferior à  $T_a$  (Figura 7).

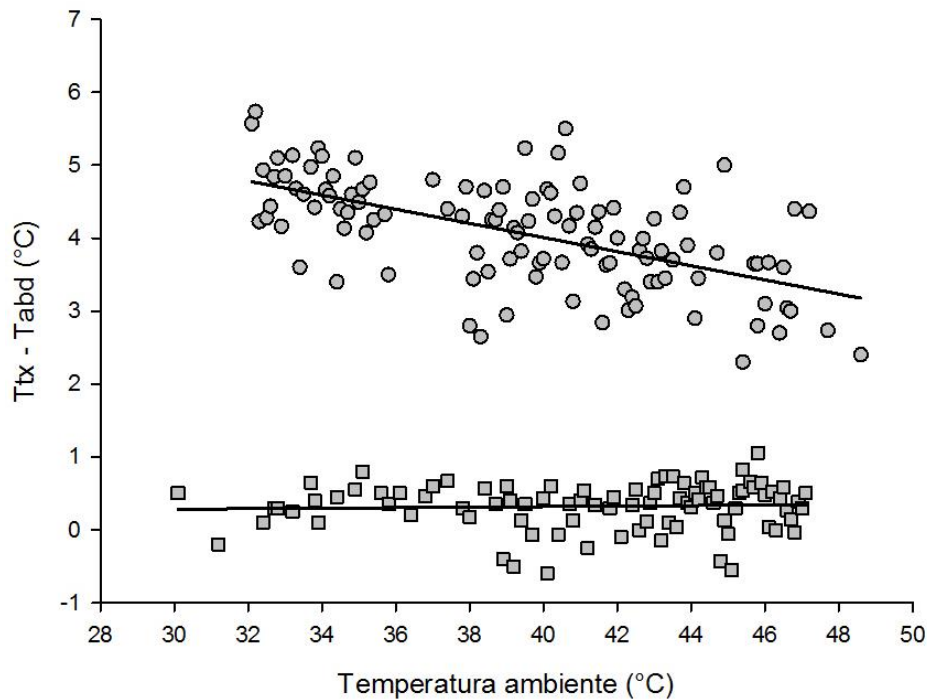


**Figura 7** – Relação entre a temperatura ambiental ao sol ( $T_a$ ) e a temperatura torácica ( $T_{tx}$ ) de *Melipona subnitida*. Foram tiradas 100 foto das abelhas forrageando e delas foram realizadas 555 marcações da temperatura torácicas das abelhas se alimentando. Círculos representam as  $T_{tx}$  das forrageadoras de *M. subnitida*; a linha tracejada representa a relação perfeita entre a temperatura torácica e a temperatura efetiva ( $T_{tx} = T_a$ ); a linha contínua representa a regressão linear:  $T_{tx} = 23 + 0,45 * T_a$ ;  $R^2_{adj} = 0,67$ ;  $P < 0,0001$ .

### 3.3 Transferência de calor

Analisamos se existe uma transferência ativa de calor entre o tórax e o abdômen em *M. subnitida*. Em forrageadoras vivas, a diferença entre temperatura torácica ( $T_{tx}$ ) e temperatura do abdômen ( $Tabd$ ) diminuiu de maneira significativa conforme aumentou a temperatura do ambiente ao sol ( $T_a$ ) (Regressão Linear:  $T_{tx} - Tabd = 8 - 0,1 * T_a$ ;  $R^2_{adj} = 0,34$ ;  $P < 0,0001$ ; Figura 8). Para as forrageadoras mortas, a  $T_{tx}$  e a  $Tabd$  foram muito parecidas em todas as

temperaturas testadas ( $T_{tx} - T_{abd} = 0,32^{\circ}\text{C} \pm 0,32$ ) e não ocorreu uma redução da diferença entre  $T_{tx}$  e  $T_{abd}$  com o aumento da  $T_a$  (Regressão Linear:  $T_{tx} - T_{abd} = 0,2 + 0,004 * T_a$ ;  $R^2_{adj} = 0,003$ ;  $P > 0,5$ ; Figura 8).



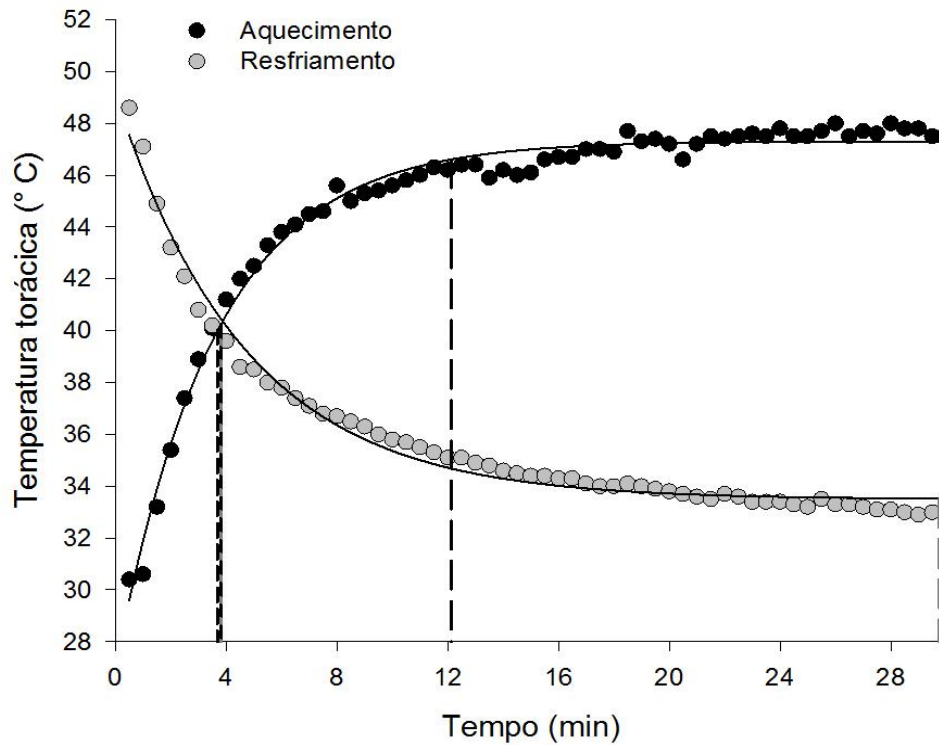
**Figura 8** – Transferência de calor do tórax para o abdômen ( $T_{tx} - T_{abd}$ ) em *Melipona subnitida* em relação a temperatura ambiente. Círculos (abelhas vivas) e quadrados (abelhas mortas) representam os valores médios da função de transferência de calor ( $T_{tx} - T_{abd}$ ) em cada temperatura amostrada. Para este resultado foram realizadas médias das temperaturas do tórax e abdômen das abelhas para cada temperatura amostrada. Linhas contínuas representam as regressões lineares: abelhas vivas:  $R^2_{adj} = 0,34$ ;  $P < 0,001$ ; abelhas mortas:  $R^2_{adj} = 0,03$ ;  $P < 0,05$ .

### 3.4 O papel da pelagem na regulação da temperatura torácica

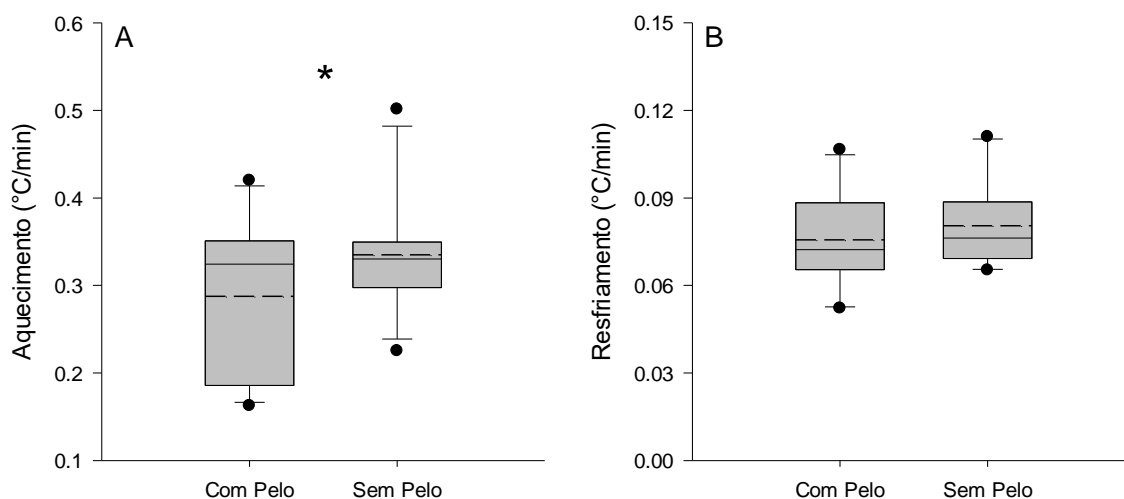
Para entender, se a pelagem tem uma influência sobre a temperatura corporal das abelhas, testamos a velocidade de aquecimento de indivíduos mortos de *M. subnitida* com e sem pelos na parte superior do tórax. As curvas de aquecimento e resfriamento corporal em ambos os experimentos mostraram um padrão semelhante, com um aquecimento inicial rápido, seguida por uma diminuição da velocidade até o estabelecimento da temperatura corporal (Figura 9). Quando a fonte de calor foi desligada, as abelhas resfriaram rapidamente até que sua temperatura corporal foi estabilizada (Figura 9). Encontramos uma diferença significativa com respeito às taxas de aquecimento (valor  $K$ ) entre as abelhas com e sem pelagem (Teste- $t$  pareado:  $t = -2,59$ ;  $P = 0,027$ ;  $df = 10$ ). As abelhas sem pelos (SP) aqueceram mais rapidamente do que as abelhas com a pelagem natural (CP) (SP:  $K =$



0,34°C/min  $\pm$  0,07; CP: K = 0,29°C/min  $\pm$  0,09; Figura 10A). Porém, não houve diferença significativa entre os tratamentos com e sem pelos com respeito à taxa de resfriamento (Teste-*t* pareado: *t* = 1,89; *P* = 0,091; *df* = 9). A média da velocidade de resfriamento nas abelhas com pelo foi de K = 0,076°C/min  $\pm$  0,016 e sem pelos de K = 0,080°C/min  $\pm$  0,015 (Figura 10B).



**Figura 9** – Aquecimento e resfriamento de abelhas mortas. O gráfico mostra a temperatura torácica de média de todas as abelhas durante o aquecimento (círculos pretos) e resfriamento (círculos cinzas). Linhas solidas indicam a regressão entre a temperatura torácica e o tempo. Para o aquecimento uma regressão exponencial de aumento máximo, 3 parâmetros ( $T_{tx} = 26,85 + 20,45 \cdot [1 - \exp\{-0,3 \cdot \text{tempo}\}]$ ), e para o resfriamento uma regressão exponencial de queda, 3 parâmetros ( $T_{tx} = 31,7 + 7613,9 \cdot \exp[-0,2 \cdot \text{tempo}]$ ). Aquecimento  $R^2_{\text{adj}} = 0,9865$ ;  $P < 0,0001$ ; Resfriamento  $R^2_{\text{adj}} = 0,9845$ ;  $P < 0,0001$ . Os traços longos indicam a metade do tempo necessário para estabilizar a temperatura do tórax ( $t_{1/2}$ ), os traços curtos indicam o excesso máximo da temperatura torácica em relação à temperatura ambiente (T<sub>exc</sub>).



**Figura 10** – Velocidade de aquecimento (A) e resfriamento (B) de indivíduos mortos de *Melipona subnitida* com e sem pelo natural. Nos *box plots*, a caixa indica a distribuição de 50 % dos valores, a linha dentro da caixa indica a mediana, as hastes delimitam a distribuição de 80 % dos valores e as esferas indicam os valores extremos. O asterisco indica diferença significativa entres os grupos (Teste-*t* pareado:  $t = -2,592$ ;  $P < 0,05$ ).

#### 4 DISCUSSÃO

Os resultados dos experimentos sobre a temperatura crítica máxima mostraram que a aclimação de 48 horas foi a mais adequada para investigar a  $CT_{max}$  de *M. subnitida*. Um tempo de aclimação menor (sem aclimação, 30 minutos e 24 horas) ou maior (72 horas) que 48 horas resultaram em uma  $CT_{max}$  menor (Figura 5). Além disso, o resultado das 48 horas de aclimação mostrou uma menor variação da  $CT_{max}$  das abelhas, indicando uma maior homogeneização dos indivíduos (menor variação na  $CT_{max}$  dos indivíduos) provavelmente por eliminar a história térmica dos mesmos. Diversos fatores podem afetar a resposta dos indivíduos às temperaturas elevadas, por exemplo, as condições em que o animal estava submetido antes da exposição as elevadas temperaturas. As abelhas expostas a 72 horas de aclimação estavam visualmente debilitadas (cambaleantes) o que possivelmente afetou a sua temperatura crítica máxima. Passar três dias dentro de uma estufa pode ser considerado um estresse para esses organismos. Esses estressores podem afetar a longevidade e a saúde dos animais (PADEMINI, 2010) e conseqüentemente podem afetar a ativação das proteínas de choque térmico que são responsáveis por uma maior resistência a temperaturas elevadas. Essas proteínas são responsáveis pela a síntese de novas proteínas que substituirão aquelas afetadas (BUKAU; HORWICH, 1998), e com isso auxiliam na tolerância a temperaturas elevadas. A  $CT_{max}$  de *M. subnitida* foi de 50,2°C, isto sugere que esta espécie consegue

suportar a temperatura ambiental máxima encontrada na Caatinga (máxima mensal, 39,2°C; MAIA-SILVA, 2013), bem como a temperatura em áreas de forrageamento desta espécie, que pode chegar a 50°C nos horários mais quentes do dia (TEIXEIRA-SOUZA, 2015). Normalmente, esta abelha interrompe sua atividade forrageira durante o período mais quente do dia (MAIA-SILVA, 2013; SILVA, 2015; LIMÃO, 2015). Entretanto, nos experimentos onde os indivíduos de *M. subnitida* foram treinadas a coletar xarope em uma fonte artificial ofertado das 7h às 16h, as abelhas não pararam o forrageamento e encontramos abelhas forrageando em temperaturas superiores a 48 °C. Isso indica provavelmente que quando existe a presença de alimento rentável elas tendem a não interromper o forrageio.

Ao analisar se a *M. subnitida* controla a temperatura corporal durante o forrageamento observamos que a temperatura torácica das forrageadoras foi mais alta que a temperatura do ambiente em temperaturas ambientais abaixo de 41,6 °C (Figura 7). Isto indica que essa abelha aquece ativamente o corpo nos horários mais frios do dia para atingir a temperatura torácica necessária para o voo. Esse aumento ativo da temperatura corporal é conhecido em diversas espécies de abelhas como, por exemplo, *Bombus* sp. que vibra os músculos torácicos para elevar a temperatura corporal a 30°C para alçar voo em temperaturas ambientais perto de 0°C (KROGH; ZEUTHEN, 1941). Em temperaturas ambientais próximas a 20°C, *Xylocopa varipuncta* aquece o corpo acima de 30 °C para poder voar (HEINRICH, 1993). Quando a temperatura ambiental foi acima de 41°C, a temperatura corporal ficou abaixo da temperatura ambiente. A temperatura corporal máxima registrada neste estudo (45,3°C) foi inferior a  $CT_{max}$  encontrada (50,2°C), indicando que *M. subnitida* consegue resfriar o corpo para se manter em conformidade com suas necessidades térmicas e continuar desempenhando suas atividades fugindo de temperaturas próximas a temperatura crítica. Esse controle da temperatura corporal é importante para fugir do superaquecimento. Seja para aquecer quando está frio ou resfriar quando está quente, o controle da temperatura do corpo é um aspecto muito importante para o forrageamento, pois com esse controle a atividade externa vai ser mais independente da temperatura ambiental, fazendo com consigam explorar melhor os recursos, pois conseguirão forragear dentro de uma vasta gama de temperaturas encontradas no ambiente.

A manutenção de temperaturas torácicas abaixo das temperaturas ambientais em *M. subnitida* pode ocorrer pela transferência de calor do tórax para o abdômen. Nossos resultados sugerem uma transferência ativa de energia térmica do tórax para o abdômen, pois à medida que a temperatura ambiental aumentou a diferença entre a  $T_{tx}$  e a  $T_{abd}$  diminuiu (Figura 8).

Podemos sugerir com o resultado que existe uma compensação da temperatura do tórax em relação a temperatura do abdômen e que essa compensação ocorre através de mecanismos fisiológicos, pois no experimento com operárias mortas não houve relação nenhuma (Figura 8). Para abelhas sem ferrão esse mecanismo de resfriamento pelo balanço da temperatura do tórax com a temperatura abdômen ainda não tinha sido averiguado, sendo bem descrito principalmente para *Bombus* que no trabalho do Heinrich (1980) descreveu o processo de transferência de calor do tórax para o abdômen. Essa transferência ocorre quando a temperatura do ambiente está elevada e o fluxo da hemolinfa é acelerado, esse aumento da velocidade do fluxo da hemolinfa transfere o excesso de temperatura do tórax (local de maior produção de calor através dos músculos torácicos) para o abdômen, impedindo que o tórax superaqueça (HEINRICH, 1980).

Ao analisar a influência da pelagem sobre a velocidade de aquecimento e resfriamento de *M. subnitida* pudemos confirmar que a pelagem retarda o aquecimento corporal dos indivíduos (Figura 10). O pelo funciona, provavelmente, como uma cobertura de proteção que aumenta a refletância da radiação (SHI, et al., 2015) fazendo com que o aquecimento do tórax seja mais lento, ou seja, que demore mais tempo para o tórax aquecer. Com a cobertura de pelos, os indivíduos poderão forragear em temperaturas mais elevadas (SHI, et al., 2015) ou por um maior período de tempo, e com isso poderão explorar melhor os recursos sem sofrer tanto com o superaquecimento e os problemas oriundos deste aquecimento excessivo. Para o resfriamento não houve diferença entre os experimentos com e sem pelagem. Isto indica que a pelagem pode ser uma importante característica para as abelhas que vivem em ambientes com temperaturas elevadas, pois auxilia no retardo do aquecimento e não é prejudicial ao resfriamento.

O presente estudo mostra adaptações importantes de *M. subnitida* para o forrageamento nas elevadas temperaturas encontradas na Caatinga. As abelhas toleram temperaturas superiores às encontradas no ambiente e, adicionalmente, conseguem controlar a temperatura corporal através de mecanismos ativos (transferência de calor do tórax ao abdômen) e passivos (pelagem). Com o aumento da temperatura prevista para a Caatinga (MARENGO, 2007) esta espécie vivera ainda mais próxima ao seu limite térmico ou nos extremos de suas curvas de performance, ou até superando-os. Com isso seus processos seriam prejudicados e sua permanência neste ambiente seria dificultada podendo limitar sua ocorrência a locais que consigam tolerar. Resultados como estes dão subsídios para entender como as abelhas lidarão com o aumento da temperatura o que vai ser importante para possíveis ações voltadas para a

conservação desta espécie como, por exemplo, a manutenção da vegetação nativa que conservaria o microclima local fazendo com que as abelhas possuam locais com temperatura mais amena para forragear.

## REFERENCIAS

BIESMEIJER, J. C.; SMEETS, M. J. A. P.; RICHTER, J. A. P.; SOMMEIJER, M. J. Niche differentiation in nectar-collecting stingless bees: the influence of morphology, floral choice and interference competition. **Ecological Entomology**, v. 24, p. 380-388, 1999.

BUKAU, B.; HORWICH, A. L. The Hsp70 and Hsp60. **Cell**, v. 92, p. 351-366, 1998.

CHAPPEL, M. A. Temperature regulation and energetics of the solitary bee *Centris pallida* during foraging and intermale mate competition. **Physiological Zoology**, v. 57, p. 215–225, 1984.

CHOWN, S. L.; JUMBAM, K. J.; SØRENSEN, J. G.; TERBLANCHE, J. S. Phenotypic variance, plasticity and heritability estimates of critical thermal limits depend on methodological context. **Functional Ecology**, v. 23, p. 133-140, 2009.

CHOWN, S. L.; NICOLSON, S. W. **Insect Physiological Ecology**. Mechanisms and Patterns. Oxford: Oxford University Press, 2004. 254p.

CHOWN, S. L.; TERBLANCHE, J. S. Physiological diversity in insects: ecological and evolutionary contexts. **Advances in Insect Physiology**, v. 33, p. 50-152, 2007.

COWLES, R. B.; BOGERT, C. M. 1944. A preliminary study of the thermal requirements of desert reptiles. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, v. 83, p. 261-296, 1944.

DUNLAP, D. L. 1969. Influence of temperature and duration of acclimation, time of day, sex and body weight on metabolic rates in the hyloid frog, *Acris crepitans*. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 31, p. 555-570, 1969.

FERREIRA, N. S.; TEIXEIRA-SOUZA, V. H. S.; SÁ-FILHO, G. F.; MAIA-SILVA, C.; HRNCIR, M. Como a abelha jandaíra consegue sobreviver no calor da Caatinga? In: IMPERATRIZ-FONSECA V.L., KOEDAM D., HRNCIR, M. (Ed.) **A abelha jandaíra no passado, presente e futuro**. Mossoró: EdUFERSA, 2017. pp 217-225. (no prelo).

HARTFELDER, K.; BITONDI, M. M. G.; BRENT, C. S.; GUIDUGLI-LAZZARINI, K. R.; SIMÕES, Z. L. P.; STABENTHEINER, A.; TANAKA, E. D.; YING WANG, Y. Standard methods for physiology and biochemistry research in *Apis mellifera*. **Journal of Apicultural Research**, v. 51, p. 1-48, 2013.

HEINRICH, B. Heat exchange in relation to blood flow between thorax and abdomen in bumblebees. **Journal of Experimental Biology**, v. 64, p. 561-585, 1976.

HEIRINCH, B. Mechanisms of body-temperature regulation in honeybees, *Apis mellifera*. **Journal of Experimental Biology**, v. 85, p. 73-87, 1980.

HEIRINCH, B. **The hot-blooded insects: strategies and mechanisms of thermoregulation**. Harvard University Press, USA. 1993. 601p.

HEINRICH B. **The thermal warriors: strategies of insect survival**. Harvard University Press, USA. 1996. 221p.

HEINRICH, B.; BUCHMANN, S. L. Thermoregulatory physiology of the carpenterbee, *Xylocopa varipuncta*. **Journal of Comparative Physiology B**, v. 156, p. 557-562, 1986.

HILL, R. W.; WYSE, G. A.; ANDERSON, M. **Fisiologia Animal**, 2. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2012. 894p.

HUEY, R. B.; KINGSOLVER, J. G. Evolution of resistance to high temperature in ectotherms. **The american naturalist**, v. 142, p. 21-46, 1993.

HUEY, R. B.; BERRIGAN, D. Temperature, demography, and ectotherm fitness. **The American Naturalist**, v. 158, p. 204-210, 2001.

HUEY, R. B. et al. Predicting organismal vulnerability to climate warming: roles of behaviour, physiology and adaptation. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 367, p. 1665-1679, 2012.

HUTCHSON, V. H. Critical thermal maxima in salamanders. **Physiological Zoology**, v. 34, p. 92-125, 1961.

KOVAC, H.; KÄFER, H.; STABENTHEINER, A.; COSTA, C. Metabolism and upper thermal limits of *Apis mellifera carnica* and *A. m. ligustica*. **Apidologie**, v. 45, p. 664-677, 2014.

KROGH, A.; ZEUTHEN, E. The mechanism of flight preparation in some insects. **Journal of Experimental Biology**, v. 18, p.1-10, 1941.

LUTTERSCHMIDT, W. I.; HUTCHSON, V. H. The critical thermal maximum: history and critique. **Canadian Journal of Zoology**, v. 75, p. 1561-1574, 1997.

MAIA-SILVA, C. **Adaptações comportamentais de *Melipona subnitida* (Apidae, Meliponini) às condições ambientais do semiárido brasileiro**. 2013, 132 p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, 2013.

MAIA-SILVA, C.; HRNCIR, M; SILVA, C.I.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. Survival strategies of stingless bees (*Melipona subnitida*) in an unpredictable environment, the Brazilian tropical dry forest. **Apidologie**, v. 46, p. 631-643, 2015

MARENGO, J. A. **Mudanças climáticas globais e seus efeitos sobre a biodiversidade: caracterização do clima atual e definição das alterações climáticas para o território brasileiro ao longo do século XXI**. Brasília: MMA. 212p. (Série Biodiversidade, 26). 2007.

MICHENER, C.D. **The social behavior of the bees: a comparative study**. Cambridge: The Belknap Press of Harvard University Press, 1974. 418p.

MICHENER, C. D. The Meliponini. In: Vit, P., Pedro, S. R. M., Roubik, D. (Ed.) **Pot-honey: a legacy of stingless bees**. New York: Springer, 2013. 654p.

NICHOLSON, S. W. Water homeostasis in bees, with the emphasis on sociality. **Journal of Experimental Biology**, v. 212, p. 429-434, 2009.

PADEMINI, E. Physiological adaptations of stressed fish to polluted environments: role of heat shock proteins. In: WHITACRE, D. M. (Ed.) **Reviews of environmental contamination and toxicology**. Volume 206. New York: Springer. 2010. p.1-27.

PEREBOOM, J. J. M.; BIESMEIJER, J. C. Thermal constraints for stingless bee foragers: the importance of body size and coloration. **Oecologia**, v. 137, p. 42-50, 2003.

PÖRTNER, H. O. Climate change and temperature-dependent biogeography: oxygen limitation of thermal tolerance in animals. **Naturwissenschaften**, v. 88, p. 137-146, 2001.

PRADO, D. As Caatingas da América do Sul. In: LEAL, I. R.; TABARELLI, M.; SILVA, J. M. C. (Ed.) **Ecologia e conservação da Caatinga**. 1. ed. Recife: Ed. Universitária da UFPE, 2003. p.75-134.

RIBEIRO, P. L.; CAMACHO, A.; NAVAS, C. A. Considerations for assessing maximum critical temperatures in small ectothermic animals: insights from leaf-cutting ants. **Public Library of Science ONE**, v. 7, e32083, 2012.

SHI, N. N, TSAI, C. C.; CAMINO, F.; BERNARD, G. D.; YU, N.; WEHNER, R. Keeping cool: enhanced optical reflection and heat dissipation in silver ants. **Science**, v. 349, p. 298-301, 2015.

SILVA, A. G. M. **FORAGEAMENTO DE ABELHAS SEM FERRÃO *Melipona subnitida* (Apidae, Meliponini) em área urbana no semiárido do nordeste brasileiro**. 2015, 27 p. Monografia (Graduação em Ecologia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido, 2015.

SOUZA, L. S. B.; MOURA, M. S. B.; SEDIYAMA, G. C.; SILVA, T. G. F. Balanço de radiação em ecossistema de Caatinga preservada durante um ano de seca no semiárido Pernambucano. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 8, p. 41-55, 2015.

STABENTHEINER A.; SCHMARANZER S. Thermographic determination of body temperatures in honey bees and hornets: calibration and applications. **Thermology**, v. 2, p. 563-572, 1987.

STONE, G. N.; WILLMER, P. G. Warm-up rates and body temperatures in bees: the importance of body size, thermal regime and phylogeny. **Journal of Experimental Biology**, v. 147, p. 303-328, 1989.

TEIXEIRA-SOUZA, V. H. S. **Aspectos da temperatura corporal de *Melipona subnitida* (Apidae, Meliponini)**. 2015. 27 p. Monografia (Graduação em Ecologia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2015.

TERBLANCHE, J. S.; DEERE, J. A.; CLUSELLA-TRULLAS, S. Critical thermal limits depend on methodological context. **Proceedings of the Royal Society of London B**, v. 274, p. 2935-2942, 2007.

TERBLANCHE, J. S.; KLOK, C. J.; ELLIOT S. KRAFSUR, E. S.; STEVEN L. CHOWN, S. L. Phenotypic plasticity and geographic variation in thermal tolerance and water loss of the tsetse *Glossina pallidipes* (Diptera: Glossinidae): implications for distribution modelling. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 74, p. 786-794, 2006.

TERBLANCHE, J. S.; SINCLAIRA, B. J.; KLOK, C. J.; MCFARLANEB, M. L.; CHOWN, S. L. The effects of acclimation on thermal tolerance, desiccation resistance and metabolic rate in *Chirodica chalconota* (Coleoptera: Chrysomelidae). **Journal of Insect Physiology**, v. 51, p. 1013-1023, 2005.

WILLMER, P. G.; UNWIN, D. M. Field analyses of insect heat budgets: reflectance, size and heating rates. **Oecologia**, v. 50, p. 250-255, 1981.

WILLMER, P. Thermal constraints on activity patterns in nectar-feeding insects. **Ecological Entomology**, v. 8, p. 455-469, 1983.

ZANELLA, F. C. V. The bees of the Caatinga (Hymenoptera, Apoidea, Apiformes): a species list and comparative notes regarding their distribution. **Apidologie**, v. 31, p. 579-592, 2000.

ZANELLA, F. C. V.; MARTINS, C. F. Abelhas da Caatinga: biogeografia, ecologia e conservação. In: LEAL, I. R., TABARELLI, M., SILVA, J. M. C. (Ed.). **Ecologia e conservação da Caatinga**. Recife: Editora Universitária da UFPE, 2003. p.75-134.