

**Características comportamentais da abelha melífera:
comparação da tolerância térmica entre as subespécies
Apis mellifera iberiensis e *Apis mellifera mellifera***

SAMUEL HENRIQUE PIRES

*Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária de Bragança para
obtenção do Grau de Mestre Agroecologia no âmbito da dupla diplomação
com a Universidade Tecnológica Federal do Paraná*

Orientada por

**Professora Doutora Maria Alice Silva Pinto
Doutora Ana Rita Lopes de Brito
Professora Doutora Michele Potrich**

**Bragança
2025**

A Deus, à minha família e amigos pelo apoio e incentivo.

FINANCIAMENTO DO PROJETO

Este trabalho foi conduzido no âmbito do projeto Better-B, financiado pela União Europeia, pela Secretaria de Estado da Suíça para a Educação, Investigação e Inovação e pela Investigação e Inovação do Reino Unido, sob a garantia de financiamento do programa Horizonte Europa ao governo do Reino Unido (referência 10068544). A Fundação para a Ciência e Tecnologia forneceu apoio financeiro através de fundos nacionais (FCT/MCTES) ao CIMO (PIDDAC): CIMO, UIDB/00690/2020 (DOI: 10.54499/UIDB/00690/2020) e UIDP/00690/2020 (DOI: 10.54499/UIDP/00690 /2020); e SusTEC, LA/P/0007/2020 (DOI: 10.54499/LA/P/0007/2020).

AGRADECIMENTOS

A minha sincera gratidão a minha orientadora do Instituto Politécnico de Bragança (IPB) Maria Alice Pinto pelo apoio e orientação para a realização desta dissertação. A sua experiência, dedicação e incentivo foram fundamentais para a concretização deste trabalho.

À minha coorientadora do IPB Ana Rita Lopes agradeço de forma especial por todo o suporte, paciência e dedicação ao longo deste percurso. Sua orientação generosa, seu cuidado em cada detalhe e sua constante disponibilidade foram fundamentais para que este trabalho se concretizasse. Mesmo diante dos desafios, esteve sempre presente, guiando-me com muita sabedoria. Minha mais sincera admiração e gratidão.

À minha coorientadora da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) pelo apoio e orientação para a realização desta dissertação.

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos/PR e Instituto Politécnico de Bragança expresse minha mais profunda gratidão pela oportunidade de realizar a Dupla-Diplomação. Sou imensamente grato por todo o suporte e pelas experiências proporcionadas, que foram fundamentais para meu crescimento profissional e pessoal.

Ao Centro de Investigação de Montanha (CIMO) por disponibilizar o laboratório e todos equipamentos necessário para a realização do trabalho.

À Deus que em todos os momentos esteve comigo me sustentando, guiando meus passos e me tornando cada vez mais resiliente. Sem ele, nada disso seria possível. Tudo o que conquistei até aqui é fruto da Sua graça e do Seu amor.

Agradeço profundamente à minha família, pelo apoio incondicional ao longo desta caminhada. Em especial a minha mãe Solange e ao meu pai Valdeci, pelo exemplo de superação, força e dedicação; aos meus irmãos, Daniel, Juliana e Bianca por estarem sempre ao meu lado. Esta conquista é de todos.

Agradeço em especial a minha irmã Beatriz, que infelizmente, durante essa etapa importante da minha vida, nos deixou. Bia, obrigado por sempre acreditar em mim. Seu amor e seu apoio foram fundamentais para que eu chegasse até aqui. Mesmo com a dor imensa da sua ausência física, carrego comigo tudo o que você me ensinou: a bondade, a generosidade e o carinho pelas pessoas. Sinto a sua presença em cada passo que dou, e é impossível não dedicar

a você esta vitória. Com eterna saudade e gratidão, esta homenagem é para você, minha irmã querida.

Agradeço com todo o meu amor e carinho, a minha namorada Amanda, por estar sempre ao meu lado nos dias bons e nos dias difíceis. Sua presença foi fundamental em todos os momentos deste percurso. Obrigado por acreditar em mim mesmo quando eu duvidei, por me fortalecer nos dias difíceis e por celebrar cada conquista comigo.

Aos meus colegas que de alguma forma me apoiaram ao longo desta jornada, deixo meu sincero agradecimento. Cada gesto de apoio e palavra de incentivo, contribuiu para que eu conseguisse concluir mais uma etapa importante na minha vida.

“O Senhor é a minha força, e o meu cântico; ele me foi por salvação; este é o meu Deus, portanto lhe farei uma habitação; ele é o Deus de meu pai, por isso o exaltarei.”

(Êxodo 15:2)

RESUMO

Esta dissertação tem como objetivo comparar a tolerância térmica de duas subespécies de abelha melífera, *Apis mellifera iberiensis* (Portugal) e *Apis mellifera mellifera* (Noruega). Foram avaliadas obreiras, forrageiras e zangões, por meio de ensaios laboratoriais que determinaram o tempo até o estupor térmico (HT) e o tempo de recuperação do coma induzido por frio (CCRT). Utilizou-se metodologia experimental com controle de temperatura e análise estatística não paramétrica. Os resultados indicaram maior resistência ao calor nos zangões em comparação com as obreiras, independentemente da subespécie. As forrageiras demonstraram maior resistência ao calor do que as amas, especialmente em temperaturas elevadas. Comparando as subespécies, *A. m. iberiensis* suportou temperaturas mais altas por mais tempo, sugerindo adaptações fisiológicas ao clima mediterrânico. Quanto ao frio, não houve diferenças estatisticamente significativas entre amas e zangões de Portugal embora as amas tenham apresentado menor variabilidade nos tempos de recuperação. Os dados sugerem diferenças morfológicas, comportamentais e fisiológicas entre as amas e forrageiras que influenciam diretamente a tolerância térmica. Este trabalho contribuiu para a compreensão da resiliência térmica em abelhas e destaca a importância da diversidade genética na adaptação a cenários de alterações climáticas, com implicações relevantes para a conservação de polinizadores e o manejo apícola em diferentes regiões.

Palavras-chave: *Apis mellifera*, tolerância térmica, estupor térmico, recuperação do coma, subespécies.

ABSTRACT

This dissertation aims to compare the thermal tolerance of two subspecies of honey bees, *Apis mellifera iberiensis* (Portugal) and *Apis mellifera mellifera* (Norway). Workers, foragers and drones were evaluated through laboratory tests that determined the time to thermal stupor (HT) and the recovery time from cold-induced coma (CCRT). An experimental methodology with temperature control and nonparametric statistical analysis was used. The results indicated that drones presented greater resistance to heat compared to workers, regardless of the subspecies. Foragers support greater thermal tolerance than workers, especially at high temperatures. Comparing the subspecies, Portuguese bees withstood higher temperatures for longer, indicating physiological adaptations to the Mediterranean climate. Regarding cold, there were no statistically significant differences between nurses and drones from Portugal, although nurses showed less variability in recovery times. The data suggest that morphological, behavioural and physiological differences between nurses and foragers that directly influence thermal tolerance. This work contributes to the understanding of the mechanisms of thermal resilience in bees and highlights the importance of genetic diversity in adaptation to climate change scenarios, with relevant implications for pollinator conservation and beekeeping management in different regions.

Keywords: *Apis mellifera*, thermal tolerance, thermal stupor, recovery from coma, subspecies.

Sumário

AGRADECIMENTOS	iv
RESUMO	vii
ABSTRACT	viii
LISTA DE FIGURAS	xi
LISTA DE TABELAS	xiii
1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	17
2.1 Objetivo geral	17
2.2 Objetivos específicos.....	17
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
3.1 Subespécies de <i>Apis mellifera</i>	18
3.2 Tolerância térmica.....	20
3.3 Métodos para avaliar a tolerância térmica.....	22
3.4 Termorregulação e adaptações das abelhas a variações climáticas.....	23
3.5 Alterações climáticas.....	24
4 MATERIAL E MÉTODOS	26
4.1 Local da área de estudo e seleção das colmeias	26
4.2 Colheita e armazenamento dos quadros de criação de obreiras recém-emergidas e zangões	27
4.3 Colheita de forrageiras	30
4.4 Preparação do copo de armazenamento e do alimento	30
4.5 Transferência das abelhas da caixa de madeira para o copo de armazenamento	32
4.6 Preparação dos ensaios de calor	34
4.7 Execução dos ensaios	35
4.8 Preparação e execução dos ensaios térmicos do frio.....	36
4.9 Análise dos vídeos da tolerância térmica do frio e calor.....	39
4.11 Análise estatística dos dados	41

5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	43
5.1	Estupor térmico (HT) Comparação entre zangões e obreiras recém-emergidas	43
5.2	Comparação entre obreiras (forrageiras) e obreiras recém-emergidas.....	48
5.3	Tempo de Recuperação do Coma por Frio - Comparação entre zangões e obreiras recém-emergidas	52
5.4	Comparação entre obreiras (forrageiras) e obreiras recém-emergidas.....	56
6	CONCLUSÕES	58
7	REFERÊNCIAS.....	60
8	ANEXOS	69

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: <i>Apis mellifera iberiensis</i>	19
Figura 2: <i>Apis mellifera mellifera</i>	20
Figura 3: Banho-maria.	22
Figura 4: Abelhas aglomeradas fora da colmeia.	24
Figura 5: Abelha forrageira colhendo néctar.	25
Figura 6: Identificação das três colmeias localizadas no apiário da Quinta do Pinheiro Manso usadas nos testes de tolerância térmica ao frio e calor.	27
Figura 7: Formão (esquerda) e saca quadros (direita).	27
Figura 8: Coloração escurecida do alvéolo dos quadros a serem selecionados.	29
Figura 9: Caixa de armazenamento dos quadros.	29
Figura 10: Colheita das abelhas forrageiras na entrada das colmeias.	30
Figura 11: Preparação do copo de armazenamento.	31
Figura 12: Transferência das abelhas para copos de armazenamento.	32
Figura 13: Abelhas identificadas nos copos de armazenamento.	33
Figura 14: Estufas experimento onde os copos eram colocados até as abelhas serem utilizadas nos ensaios térmicos.	33
Figura 15: Smartphone posicionado em gravação.	35
Figura 16: Imersão do suporte.	36
Figura 17: Imersão do suporte no gelo com os tubos.	37
Figura 18: Abelhas recuperando da exposição ao frio após imersão no banho-maria a 25 °C.	38
Figura 19: Estímulo aplicado com uma espátula aos zangões.	39
Figura 20: Análise dos vídeos.	40
Figura 21: Captura de ecrã da folha de cálculo.	40
Figura 22: Exemplo da folha de cálculo com resultados da tolerância ao calor.	41
Figura 23: Comparação entre zangões e obreiras recém-emergidas considerando todas as temperaturas testadas para ambos os grupos (A) e excluindo da análise T = 49 °C (B).	43
Figura 24: Comparação entre zangões e obreiras recém-emergidas de Portugal.	44
Figura 25: Comparação entre zangões e obreiras recém-emergidas da Noruega.	45
Figura 26: Comparação entre países de zangões (esquerdo) e obreiras recém-emergidas (direito).	47

Figura 27: Comparação entre forrageiras e obreiras recém-emergidas considerando todas as temperaturas testadas para ambos os grupos.....	49
Figura 28: Comparação entre zangões e obreiras recém-emergidas relativamente à recuperação da paralisia por frio	52
Figura 29: Comparação entre países da recuperação da paralisia por frio das obreiras recém-emergidas.	54
Figura 30: Comparação entre países da recuperação da paralisia por frio dos zangões.	55
Figura 31: Comparação entre castas da recuperação da paralisia por frio das forrageiras e obreiras recém-emergidas.	56

LISTA DE TABELAS

Tabela A1: Resultados das comparações múltiplas entre grupos de Portugal.	69
Tabela A2: Resultados das comparações múltiplas entre grupos da Noruega.	70
Tabela A3: Resultados das comparações múltiplas entre obreiras (forrageiras) e obreiras (interna).	71

1 INTRODUÇÃO

A abelha melífera pertence ao Reino Animalia, Filo Arthropoda, Classe Insecta, Ordem Hymenoptera, Família Apidae, Género *Apis* e espécie *Apis mellifera*. As abelhas melíferas são insetos sociais que apresentam três castas distintas: rainha, zangões e obreiras. Essas castas possuem uma organização complexa e se diferenciam umas das outras através de funções específicas, bem como por características morfológicas e fisiológicas (Ramos & Carvalho, 2007). As obreiras são fêmeas não reprodutivas, representando a maioria dentro da colónia. Ao longo da sua vida, as abelhas desempenham diversas atividades dentro da colmeia, mudando de função conforme envelhecem, em um processo conhecido como polietismo etário. Esse mecanismo é uma das formas de divisão do trabalho características dos insetos sociais (Guimarães, 2010). As tarefas realizadas durante a sua vida incluem: reparação e limpeza dos alvéolos, alimentação das larvas, rainhas e zangões, produção de cera e construção do favo, defesa e manutenção do equilíbrio térmico da colónia. Quando mais velhas, realizam tarefas fora da colmeia, como colheita de pólen, néctar, própolis e água (Wiese & Salomé, 2020).

A rainha é a única fêmea reprodutiva da colónia sendo facilmente diferenciada fenotipicamente das obreiras. Distingue-se das obreiras pelo maior tamanho e por possuir um abdómen mais alongado e pontiagudo. Além disso, seus movimentos são mais lentos em comparação com os das outras castas, devido a sua função central na manutenção do equilíbrio da colónia, através da produção de feromonas. Sua principal função é a postura de ovos, enquanto as obreiras são responsáveis por alimentar e cuidar das larvas em desenvolvimento (De Souza et al., 2018; Owen, 2020). O desenvolvimento da rainha ocorre a partir de um ovo fertilizado em um alvéolo chamado realeira, destacando-se das demais pelo seu formato e tamanho. Durante a fase larval, a futura rainha é alimentada com maiores quantidades de geleia real, sendo um alimento essencial para o crescimento do sistema reprodutivo (Freitas, 1999).

Os machos da colónia, designados por zangões, destacam-se por apresentarem um corpo maior e mais robusto em comparação com as outras castas. Contrariamente às obreiras, os zangões não possuem ferrão ou mecanismo de defesa. Uma de suas funções é ventilar a colmeia e fecundar a rainha, processo que resulta na morte do zangão, já que o seu órgão reprodutivo se rompe e permanece no abdómen da rainha (Owen, 2020). No entanto, alguns zangões podem

morrer antes de acasalar, seja devido a idade ou por serem expulsos do ninho pelas obreiras em períodos de escassez de recursos (Moreira & Farinha, 2011). Os zangões são encontrados na colmeia durante a primavera e o verão, quando as condições climáticas são favoráveis à reprodução.

Nos últimos anos, o aumento da temperatura média global tem se tornado uma grande preocupação à escala mundial. Por serem poiquilotérmicos, os insetos são altamente sensíveis às alterações de temperatura e umidade (Costa et al., 2017). Perante um cenário de alterações climáticas, governos e organizações nacionais têm financiado investigação científica destinada à conservação dos insetos, com destaque para os polinizadores. Por exemplo, a Bélgica adota estratégias específicas para a proteção da abelha melífera, enquanto a França dá mais relevo à preservação de todos os polinizadores (Vasiliev & Greenwood, 2020).

Num contexto de alterações climáticas, os estudos sobre tolerância térmica em abelhas *A. mellifera* tem ganho destaque, uma vez que as mudanças de temperatura e humidade podem comprometer a sobrevivência dos polinizadores (de Farias-Silva & Freitas, 2021). É crucial entender como diferentes castas e subespécies de *A. mellifera* respondem a condições térmicas extremas, sendo esse conhecimento essencial para a formulação de estratégias de conservação e manejo. Compreender a tolerância térmica permite identificar linhagens mais adaptadas, proteger as mais vulneráveis e orientar estratégias de conservação e manejo apícola mais eficazes, o que é fundamental para garantir a sobrevivência das abelhas num cenário de alterações climáticas.

Existem diversos métodos para avaliar a tolerância térmica em animais, sendo os dois mais utilizados o método dinâmico e o método estático. No método dinâmico, o animal é submetido a variações graduais de temperatura, seja por aumento ou diminuição, ao longo do tempo. O objetivo é observar o momento em que o animal atinge um ponto final pré-determinado, como coma, perda de função motora ou morte. Esse ponto final define-se como temperatura máxima ou mínima crítica (CT max ou CT min) (Jørgensen et al., 2019).

O método estático envolve a exposição do animal a uma temperatura constante e stressante, registando-se o tempo necessário para atingir um estado final pré-definido. Esta abordagem também inclui a medição da mortalidade após um período fixo sob a temperatura estática (Bak Winther et al., 2020). Tanto o método dinâmico como o estático oferecem

resultados importantes sobre a tolerância térmica das abelhas, contribuindo para um melhor entendimento dos limites fisiológicos das subespécies de *A. mellifera*, fornecendo dados relevantes para iniciativas de conservação em cenários de alterações climáticas.

Neste contexto, o presente trabalho tem como objetivo comparar a tolerância térmica de duas subespécies de abelhas melíferas, *Apis mellifera iberiensis* e *Apis mellifera mellifera*, quando expostas a condições extremas de calor e frio.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Comparar a tolerância térmica (temperaturas extremas de calor e frio) entre abelhas de Portugal (*A. m. iberiensis*) e Noruega (*A. m. mellifera*).

2.2 Objetivos específicos

Determinar os limites térmicos para as abelhas de Portugal (*A. m. iberiensis*)

- Comparar os limites térmicos entre zangões e obreiras de *A. m. iberiensis*
- Comparar os limites térmicos entre obreiras recém-emergidas e obreiras de tarefas externas (forrageiras) de *A. m. iberiensis*

Determinar os limites térmicos para as abelhas da Noruega (*A. m. mellifera*)

- Comparar os limites térmicos entre zangões e obreiras de *A. m. mellifera*

Comparar os limites térmicos dos indivíduos da mesma casta/tarefa entre Portugal e Noruega.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Subespécies de *Apis mellifera*

A abelha melífera (*Apis mellifera* L.) é uma das espécies de abelhas mais amplamente distribuída no mundo, sendo nativa da Europa, África, Médio Oriente e parte da Ásia Ocidental (Ruttner, 1988). Nessa diversidade de ambientes estão descritas até ao momento 31 subespécies (Chen et al., 2016; Engel, 1999; Hepburn & Radloff, 1998; Meixner et al., 2011, 2013; Ruttner, 1988; Sheppard & Meixner, 2003) que se agrupam em quatro linhagens evolutivas principais: A (África), C (Europa Oriental), M (Europa Ocidental) e O (Oriente Médio). Dentre as subespécies de *Apis mellifera*, destacam-se a *Apis mellifera iberiensis* e a *Apis mellifera mellifera*, ambas pertencentes à linhagem evolutiva M, característica da Europa Ocidental (Ruttner, 1988).

A. m. iberiensis (Figura 1), também conhecida como abelha ibérica, é uma subespécie nativa da Península Ibérica. A proximidade geográfica da Península Ibérica com o continente africano favoreceu trocas genéticas ao longo do tempo entre organismos de ambos os continentes, contribuindo para a grande diversidade genética observada em muitos organismos ibéricos, incluindo a abelha melífera (Gómez & Lunt, 2007). Estudos baseados no ADN mitocondrial da abelha ibérica indicam a coexistência de duas linhagens evolutivas na Península Ibérica: a africana (linhagem A) e a linhagem M. Ou seja, a *A. m. iberiensis* partilha ancestrais comuns com as abelhas africanas e com a *A. m. mellifera* (Chávez-Galarza et al., 2015; Chávez-Galarza et al., 2017; Pinto et al., 2012).

Conforme descrito por Ruttner (1988), ao longo da sua história evolutiva, a *A. m. iberiensis* passou por diversas modificações fisiológicas, comportamentais, e morfológicas em relação a outras subespécies, refletindo a sua adaptação ao ambiente da Península Ibérica. Quanto à morfologia, o autor caracteriza esta subespécie como sendo de cor escura, com poucas bandas amareladas no abdómen, possuindo asas anteriores mais estreitas e abdómen mais comprido em relação à subespécie norte-africana *A. m. intermissa*. Além disso, observa-se uma redução no índice cubital (CI) da asa anterior, embora o comprimento dos pelos não se distinga das congêneres africanas. Em termos comportamentais, a *A. m. iberiensis* é caracterizada como sendo mais defensiva, maior tendência de enxameação e grande utilização de própolis, em comparação com outras subespécies europeias.

Em comparação com *A. m. iberiensis*, a sua subespécie irmã *A. m. mellifera* (Figura 2), vulgarmente conhecida como abelha europeia negra, possui uma área de distribuição nativa muito extensa, que vai desde o sul de França ao sul da Suécia, e a leste até os Montes Urais (Meixner et al., 2007).

De acordo com Ruttner (1988), a *A. m. mellifera* exibe características morfológicas marcantes, como pelos abdominais longos, especialmente nas regiões mais frias da sua área de distribuição nativa, corpo robusto com abdômen comprido e uma coloração preta com aspeto aveludado. Os zangões são totalmente pretos e estão entre os maiores de todas as subespécies de *A. mellifera*, apresentando asas anterior com de 12,24 mm de comprimento e patas posteriores de 10,10 mm. Além disso, o índice cubital (CI) é notavelmente baixo, muitas vezes inferior a 1,0 em algumas populações, refletindo uma forte adaptação às condições ambientais locais.

Em termos comportamentais, a *A. m. mellifera* e a *A. m. iberiensis* partilham os mesmos traços distintivos das outras subespécies Europeias, como o comportamento defensivo e tendência para propolizar (Ruttner, 1988). Embora pertencentes à mesma linhagem evolutiva (M), as duas subespécies estiveram expostas a ambientes distintos ao longo da sua história, com *A. m. iberiensis* adaptada ao clima mais quente e seco da Península Ibérica, enquanto a *A. m. mellifera* se adaptou a regiões mais frias e húmidas do norte da Europa.



Figura 1: *Apis mellifera iberiensis*.

Fonte: Blogspot, 2016.



Figura 2: *Apis mellifera mellifera*.

Fonte: Viva FCT, 2020.

3.2 Tolerância térmica

O declínio da biodiversidade de artrópodes terrestres, incluindo as abelhas polinizadoras, tem gerado preocupação, especialmente quando esse declínio está associado às alterações climáticas (Kazenel et al., 2024). Estudos prévios comparando a tolerância térmica ao calor de diferentes organismos ectotérmicos, ou seja, organismos cuja a temperatura corporal depende diretamente das condições ambientais e que não produzem calor suficientemente para manter uma temperatura constante indicam que diversas espécies já podem estar vivendo próximas dos seus limites fisiológicos superiores, apesar de algumas espécies apresentarem capacidade de adaptação rápida frente às alterações climáticas (van Heerwaarden et al., 2024).

A tolerância fisiológica é fundamental para prever como as espécies responderão às alterações climáticas, uma vez que esta define os limites das condições necessárias para a sua sobrevivência. Embora muitos estudos sobre tolerância fisiológica se tenham focado na tolerância térmica, a capacidade de suportar a dessecação, isto é, a perda excessiva de água corporal em ambientes quentes e secos, também pode ser um fator determinante para a sobrevivência de insetos, como as abelhas (Burdine & McCluney, 2019).

A plasticidade fenotípica permite aos organismos modificar as suas características físicas, fisiológicas ou comportamentais em resposta a mudanças no ambiente, sendo um dos principais mecanismos que facilitam respostas rápidas às alterações climáticas (West-Eberhard, 2003). Segundo Pigliucci et al. (2006), nem toda a forma de plasticidade traz vantagens

adaptativas, já que algumas variações decorrem de limitações inerentes à bioquímica, fisiologia ou desenvolvimento do organismo. Quando aplicada à tolerância térmica, essa plasticidade aumenta a capacidade de um organismo suportar temperaturas extremas, ampliando o seu limite térmico máximo (CT_{Max}), ou seja, a temperatura máxima que o organismo consegue tolerar ou da qual se recuperar (Lutterschmidt & Hutchison, 1997).

Neste contexto, a tolerância térmica é uma ferramenta importante para analisar como as espécies respondem a variações de temperatura. Um fenômeno associado a essa resposta é o estupor térmico (*Heat Stupor* - HT), também conhecido como atordoamento por calor. Esse estado ocorre quando o inseto perde a capacidade de se movimentar, caindo de costas ou deslizando lentamente até ficar completamente imobilizado. Nessa condição, o inseto perde os reflexos normais e os seus membros podem apresentar espasmos musculares, um sinal que geralmente antecede a morte (Martinet et al., 2015).

Um estudo recente conduzido por Martinet et al. (2021) investigou a tolerância térmica de diferentes espécies de abelhões (*Bombus* spp.) na Europa e América do Norte, revelando diferenças significativas relacionadas com suas distribuições geográficas. Nesse estudo, constatou-se que as espécies de regiões árticas e boreais apresentam menor resistência ao calor em comparação as espécies de áreas temperadas e mediterrâneas. A espécie *Bombus terrestris* demonstrou alta tolerância ao calor, característica que contribui para sua expansão nas áreas mediterrâneas.

Em contrapartida, o Mínimo Térmico Crítico (CT_{Min}) representa o inverso do CT_{Max} , sendo definido como a temperatura abaixo da qual as abelhas perdem a capacidade motora e entram em estado de coma induzido pelo frio (Gonzalez et al., 2022). O tempo necessário para que o organismo retorne à atividade normal após a exposição a temperaturas baixas é conhecido como o Tempo de Recuperação do Coma por Frio (CCRT) (Sánchez-Echeverría et al., 2019). Embora o processo de recuperação do coma induzido pelo frio seja em muitos casos reversível, a sua eficácia está relacionada com a duração e intensidade da exposição às baixas temperaturas. Exposições prolongadas podem resultar em danos fisiológicos irreversíveis, afetando o desempenho e em casos extremos levando à morte (Findsen et al., 2014).

3.3 Métodos para avaliar a tolerância térmica

Existem diversos métodos para avaliar a tolerância térmica em animais, sendo os mais comuns o método dinâmico e o método estático. No método dinâmico, o animal é exposto a variações graduais de temperatura, seja um aumento ou uma diminuição ao longo do tempo. O objetivo é identificar o momento em que o organismo atinge um ponto final pré-determinado, como a perda de função motora, coma ou morte. Esse ponto final define-se como a temperatura crítica máxima (CTMax) ou mínima (CTMin), representando os limites térmicos superiores e inferiores da espécie (Jørgensen et al., 2019).

Já no método estático, o animal é exposto a uma temperatura constante e previamente definida, geralmente considerada estressante durante um período fixo. Após essa exposição, são avaliadas respostas comportamentais, fisiológicas ou a sobrevivência do organismo, permitindo identificar níveis de tolerância ou danos causados pelo estresse térmico (Martins et al., 2023).

Os estudos de tolerância térmica podem ser conduzidos com o auxílio de diversos equipamentos, como incubadoras, blocos de alumínio com sistema de aquecimento, banho-maria (Figura 3) e respirômetros, que são instrumentos utilizados para medir a taxa de respiração dos organismos. Por meio dessas medições, é possível avaliar o metabolismo e a resposta fisiológica dos organismos ao estresse térmico (Ribeiro, 2013).



Figura 3: Banho-maria.

3.4 Termorregulação e adaptações das abelhas a variações climáticas

A termorregulação pode ser entendida como o controlo da temperatura, seja em ambiente físico ou num organismo vivo. Uma colónia de abelhas pode conter milhares de indivíduos, variando entre 15.000 a 60.000, conforme a estação do ano. A temperatura no interior da colónia tem que ser mantida entre 33°C a 36°C para garantir o desenvolvimento adequado e a manutenção da produtividade da colónia, pois a criação é sensível às mudanças de temperaturas. Caso não seja mantido este intervalo de temperatura, a saúde da colónia é comprometida (Domingos & Gonçalves, 2014)

Durante períodos de frio, as abelhas adotam estratégias para preservar o calor, como o agrupamento em cachos, onde as obreiras se aglomeram e geram calor metabólico por meio de movimentos rápidos dos músculos torácicos para conservar o calor (Mota et al., 2023). Em contrapartida, quando a temperatura está alta, uma das formas de evitar os danos causados pelo calor é movimentar as asas para dissipar o calor, ou arrefecimento evaporativo, ou seja, as obreiras colhem água e espalham-na sobre as superfícies internas da colónia, onde a evaporação proporciona um efeito refrescante (Jhawar et al., 2023). Quando a temperatura atinge níveis extremos, parte das abelhas saem da colmeia (Figura 4) e aglomeram-se na sua parte exterior, enquanto as obreiras no interior continuam as tarefas de ventilação (Abou-Shaara et al., 2017).

Devido às variações extremas de temperatura, umidade e dos níveis de CO₂, as alterações climáticas tem impactos diretos e indiretos sobre a vida dos organismos. Esses impactos podem comprometer desde os ciclos reprodutivos das plantas até a redução da saúde e eficiência dos polinizadores que desempenham um papel essencial no equilíbrio do ecossistema (Hristov et al., 2020; Martén-Rodríguez et al., 2025). Estudos recentes indicam uma forte relação entre as alterações climáticas e a taxa de mortalidade de colónias de abelhas (Santos et al., 2022). Segundo Le Conte & Navajas (2008), desde 1995 tem-se registrado uma elevada taxa de mortalidade em *A. mellifera* em diversas regiões do mundo. Entre os vários fatores bióticos e abióticos que podem causar a morte das colónias, destacam-se as alterações climáticas afetam diretamente o ambiente em que as abelhas vivem, intensificando o seu stress e favorecendo a interação negativa com outros fatores, como doenças e pesticidas. As altas temperaturas durante o verão podem comprometer a sobrevivência no inverno, enquanto a exposição das abelhas a condições climáticas extremas pode resultar em perdas significativas.

Por outro lado, os invernos mais quentes e secos, têm sido associados a um aumento das taxas de mortalidade durante esse período (Rajagopalan et al., 2024).



Figura 4: Abelhas aglomeradas fora da colmeia.

Fonte: Revista Jardim, 2023.

3.5 Alterações climáticas

Atualmente, o aquecimento global tem recebido grande atenção devido às suas consequências negativas, que afetam a biodiversidade, os ecossistemas terrestres e aquáticos (de água doce e marinhos), e as populações em escala global (Malhi et al., 2020). O aumento das temperaturas, assim como a maior frequência e intensidade de fenômenos extremos, como secas, inundações e ondas de calor, tem contribuído para desequilíbrios ecológicos significativos. Além disso, as práticas agrícolas intensivas contribuem de forma expressiva para o desmatamento, a degradação ambiental, a pressão sobre os recursos hídricos e da exploração intensiva de organismos marinhos (Arneth et al., 2020).

Os organismos ectotérmicos (ou poiquilotérmicos) são particularmente suscetíveis às variações térmicas causadas pelas alterações climáticas, devido à sua capacidade limitada de regular a temperatura corporal, à baixa acumulação de reservas energéticas e à alta taxa

metabólica. Esses fatores em conjunto, tornam os organismos particularmente vulneráveis a variações extremas de temperatura, tanto de calor como de frio (Gonzalez et al., 2024).

As duas últimas décadas testemunharam elevadas taxas de mortalidade das colônias de abelha melífera devido a diversos fatores associados à ação humana, entre os quais as alterações climáticas. Estudos internacionais conduzidos nas últimas duas décadas monitorizaram a extensão dessas perdas em diferentes regiões, incluindo América do Norte, Europa, Ásia, Médio Oriente, África do Sul e América Latina, revelando que os apicultores têm estado a perder entre 25% a 50% das suas colônias anualmente. No entanto, apesar dos inúmeros estudos sobre esta problemática (muitas vezes associada à síndrome do colapso das colônias), ainda a influencia das alterações climáticas na mortalidade das colônias continua mal compreendida (Zapata-Hernández et al., 2024).

Um outro estudo realizado no Reino Unido, em que foram analisadas quatro espécies de *Bombus* preservadas em museus desde o início do século XX, revelou indícios de stress associados às variações climáticas. Especificamente foram observadas assimetrias nas asas, indicando stress durante o desenvolvimento. Esse stress aumentou ao longo do século XX, especialmente após 1925 e foi mais intenso em anos quentes e húmidos (Arce et al., 2023). A figura 5 ilustra uma abelha forrageira colhendo néctar, comportamento essencial para a manutenção da colónia e particularmente sensível a condições ambientais adversas.



Figura 5: Abelha forrageira colhendo néctar.

Fonte: Portal do Agronegócio, 2021.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Local da área de estudo e seleção das colmeias

Foram selecionadas três colmeias da subespécie *Apis mellifera iberiensis*, não relacionadas que mostrassem bom desenvolvimento de criação de fêmeas e machos (Figura 6) no apiário do Instituto Politécnico de Bragança. O apiário está localizado na cidade de Bragança, na Quinta do Pinheiro Manso com coordenadas geográficas de latitude 41°48'27,2916" N e longitude - 6°43'53,7564". Segundo a classificação climática de Köppen, o local é categorizado como Csb, caracterizado como um clima temperado com verão seco e suave. Esse tipo de clima é típico de regiões sob influência mediterrânea (Normais Climatológicas, n.d.).

Devido a constrangimentos relacionados com a organização do estudo ao nível do consórcio, só foi possível começar as experiências no início de junho de 2024, período caracterizado por uma redução significativa na criação de zangões. Assim, só foi possível incluir uma colónia no estudo para avaliação desta casta.

Para cada uma das colónias selecionadas procedeu-se à colheita de criação operculada de obreiras recém-emergidas e zangões prestes a emergir uma vez por semana para a realização dos testes de tolerância térmica ao frio e calor em condições laboratoriais. Foram também realizadas a colheita de forrageiras, isto é, obreiras que chegavam à entrada da colmeia com pólen nas pernas traseiras, para a realização dos mesmos testes.

A colheita dos quadros de criação dos zangões iniciou-se no dia 06/06/2024. A colheita das obreiras recém-emergidas ocorreu entre o dia 03/06/2024 a 12/06/2024. Já a colheita das obreiras (forrageiras) teve início no dia 19/06/2024 e terminou em 27/04/2024. É importante destacar que não foram realizados testes específicos para verificar a presença de possíveis doenças nas abelhas utilizadas nos ensaios experimentais.



Figura 6: Identificação das três colmeias localizadas no apiário da Quinta do Pinheiro Manso usadas nos testes de tolerância térmica ao frio e calor.

4.2 Colheita e armazenamento dos quadros de criação de obreiras recém-emergidas e zangões

Para ter acesso aos quadros, as colmeias eram cuidadosamente abertas com o auxílio de um formão, ferramenta apropriada para remover as tampas superiores das caixas e desprender os quadros fixados com própolis (Figura 7). Além disso, utilizou-se um saca-quadro para facilitar a retirada e separação dos mesmos (Figura 7). Os quadros de criação foram manuseados individualmente, sendo selecionados apenas aqueles que apresentavam pupas em estágio final de desenvolvimento prestes à emergência do adulto.



Figura 7: Formão (esquerda) e saca quadros (direita).

Fonte: Mercado Livre, (2022); Agrobitten (2025).

Para verificar as condições dos quadros de criação com obreiras recém-emergidas/zangões que estavam prestes a emergir, os quadros foram posicionados sob a luz natural, permitindo uma observação detalhada dos sinais característicos de fim de ciclo de desenvolvimento das pupas. Observou-se o escurecimento do alvéolo (Figura 8), indicando que as pupas estavam próximas de eclodir. Em certos momentos, alguns alvéolos foram cuidadosamente abertos para ver o estágio de desenvolvimento em que se encontravam e assim definir se era um quadro a selecionar ou não.

É importante referir que os indivíduos coletados diretamente dos quadros correspondiam exclusivamente a zangões e a obreiras recém-emergidas, as quais por serem ainda jovens e desempenhar funções internamente da colmeia foram denominadas como obreiras recém-emergidas. Essa distinção é essencial, uma vez que os ensaios experimentais foram realizados comparando obreiras de interior (recém-emergidas), obreiras de exterior (forrageiras) e zangões.



Figura 8: Coloração escurecida do alvéolo dos quadros a serem selecionados.

Após a seleção, os quadros dos zangões e obreiras recém-emergidas foram retirados da colmeia e transportados em caixas de armazenamento (Figura 9) construídas em madeira e projetadas com as dimensões exatas para acomodar os quadros. Os quadros foram mantidos na caixa, dentro de uma incubadora a 34,5°C em condições de escuridão e humidade, utilizando um recipiente com água desmineralizada no fundo da incubadora. Estas caixas continham pequenas perfurações de ventilação para evitar a proliferação de fungos. Estes quadros ficaram até o dia seguinte após a colheita (pelo menos 12h) a esta temperatura para permitir a aclimatização dos indivíduos nascidos de modo evitar que diferenças nos resultados das experiências fossem causadas por condições climáticas e de transporte distintas, ao invés de fatores genéticos.



Figura 9: Caixa de armazenamento dos quadros.

4.3 Colheita de forrageiras

As coletas das forrageiras foram realizadas diretamente na entrada da colmeia (Figura 10), no momento em que pousavam na rampa de acesso ao ninho, após retornarem da colheita de pólen. As abelhas foram capturadas manualmente utilizando uma pinça entomológica e, em seguida, transferidas para frascos de plástico de 15 mL. Posteriormente, foram transportadas para a incubadora e realocadas em copo de armazenamento sendo mantidas a 34,5 °C em condições adequadas de escuridão e humidade. Para manter a humidade, foi utilizado um recipiente com água desmineralizada no fundo da incubadora. Esse procedimento permitiu que as forrageiras se mantivessem em boas condições antes da realização das experiências de avaliação da tolerância térmica.

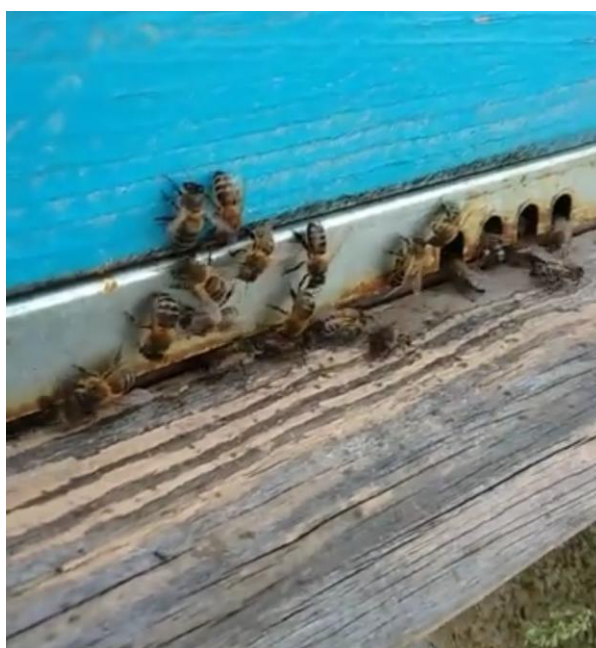


Figura 10: Colheita das abelhas forrageiras na entrada das colmeias.

4.4 Preparação do copo de armazenamento e do alimento

Para preparar o copo de armazenamento (Figura 11), foram utilizados copos de plásticos de 500 mL, caixas de petri, cera de abelha, papel absorvente, duas seringas e bico de bunsen para derreter e fixar a cera no interior do copo. No copo, foram realizadas pequenas perfurações para

permitir a ventilação e respiração das abelhas, além de duas aberturas maiores para inserir a seringa que dispensava o alimento. Após a perfuração dos copos, a cera que foi derretida e fixada no interior do copo para acomodar as abelhas. O papel absorvente foi colocado na parte inferior do copo para absorver qualquer vazamento líquido.

O alimento consistia numa solução de sacarose a 50%, dispensada no interior do copo através de duas seringas de 5 mL, posicionadas em lados opostos do copo por forma a garantir o fornecimento contínuo de alimento. Para a preparação da solução de sacarose a 50%, dissolveu-se 50 g de açúcar refinado em 100 mL de água da torneira. Para garantir uma solução homogênea, a água foi pré-aquecida para facilitar a dissolução. Após a preparação, a solução açucarada foi armazenada no frigorífico para conservação.

As obreiras recém-emergidas, obreiras (forrageiras) e zangões foram mantidas separadamente em copos de armazenamento individuais previamente preparadas. Os copos foram padronizados quanto as condições de confinamento e alimentação, garantindo uniformidade no tratamento experimental.



Figura 11: Preparação do copo de armazenamento.

4.5 Transferência das abelhas da caixa de madeira para o copo de armazenamento

Para a execução da experiência, os zangões e as obreiras recém-emergidas na incubadora eram retiradas diariamente das caixas de madeira e transferidas para os copos de armazenamento (figura 12). Esses copos foram identificados de acordo com o ID da colônia e a data de colheita (Figura 13). Em seguida, foram colocados na estufa (Figura 14) com temperatura a 34,5°C em ambiente escuro, até realização dos ensaios térmico. As abelhas eram testadas diariamente nos ensaios de tolerância térmica. É importante referir, que os testes realizados não incluíram misturas de castas, foram sempre realizados exclusivamente com obreiras recém-emergidas, obreiras (forrageiras) ou zangões de forma separada.



Figura 12: Transferência das abelhas para copos de armazenamento.



Figura 13: Abelhas identificadas nos copos de armazenamento.



Figura 14: Estufas experimento onde os copos eram colocados até as abelhas serem utilizadas nos ensaios térmicos.

4.6 Preparação dos ensaios de calor

Antes de cada ensaio, os indivíduos eram transferidos dos copos de armazenamento para tubos de ensaio de 15 mL através da captura cuidadosa dos mesmos para evitar stress e danos físicos, utilizando uma pinça de captura de insetos.

Durante a preparação, colocaram-se bolas algodão humedecidas com 0,2 mL de água destilada até à linha de marcação de 12 mL dos tubos. Estas permitiam a troca gasosa e contribuíam para a manutenção da humidade relativa no interior dos tubos, reduzindo a desidratação das abelhas durante o ensaio.

Para os ensaios de tolerância ao calor, foi necessário manter a temperatura do banho-maria uniforme. Para tal, utilizou-se uma bomba de aquário (agitador) para uniformizar a temperatura. Esse agitador foi colocado em uma posição estratégica, de modo que não causasse turbulência à superfície da água e assim dificultasse a visualização no interior dos tubos.

O protocolo seguiu um gradiente térmico controlado, com aumento progressivo da temperatura em intervalos de 1 °C para as obreiras recém-emergidas e obreiras (forrageiras) e de 0.5 °C para os zangões. Para cada temperatura, foram realizados 9 ensaios, garantindo a consistência dos resultados.

Conforme as recomendações do protocolo, os ensaios com as amas tiveram início a 46 °C, enquanto os ensaios com os zangões começaram a 47 °C. Essas temperaturas foram estabelecidas com base em estudos piloto realizados na Universidade de Gante, Bélgica, pela equipa do projeto Better-B coordenadora desta tarefa. Estas temperaturas foram verificadas como os capazes de induzir estupor térmico em 20 minutos em 90% ou mais dos indivíduos testados.

Inicialmente, os ensaios foram conduzidos com a temperatura inicial de 46 °C para as obreiras recém-emergidas. No entanto, os resultados indicaram que essa temperatura não era suficiente para induzir estupor térmico em pelo menos 90% dos indivíduos em 20 minutos. No primeiro e segundo ensaio realizado a 46 °C apenas 70% e 80% dos indivíduos entraram em estupor térmico, respetivamente. Perante estes resultados, a temperatura inicial foi ajustada para 47 °C nos ensaios subsequentes, de forma a atender ao critério experimental pré-estabelecido. Para cada temperatura, foram avaliadas, 30 obreiras recém-emergidas e 30 obreiras forrageiras por colónia. As temperaturas testadas para as obreiras foram 47 °C, 48 °C e 49 °C. No caso dos

zangões, avaliou-se apenas uma colônia, e foram testadas as temperaturas de 47 °C, 47,5 °C e 48 °C.

Para iniciar os testes de tolerância ao calor, a temperatura do banho-maria foi verificada utilizando um termômetro digital, com a sonda inserida em um tubo tapado com uma bola de algodão humedecido, de modo a simular as condições às quais os indivíduos seriam submetidos. Em seguida, o smartphone (Figura 15) foi posicionado e ajustado para filmar o ensaio, garantindo uma visão clara do interior dos tubos. Esse procedimento foi essencial para registrar o momento exato em que cada abelha entrou em estupor térmico.

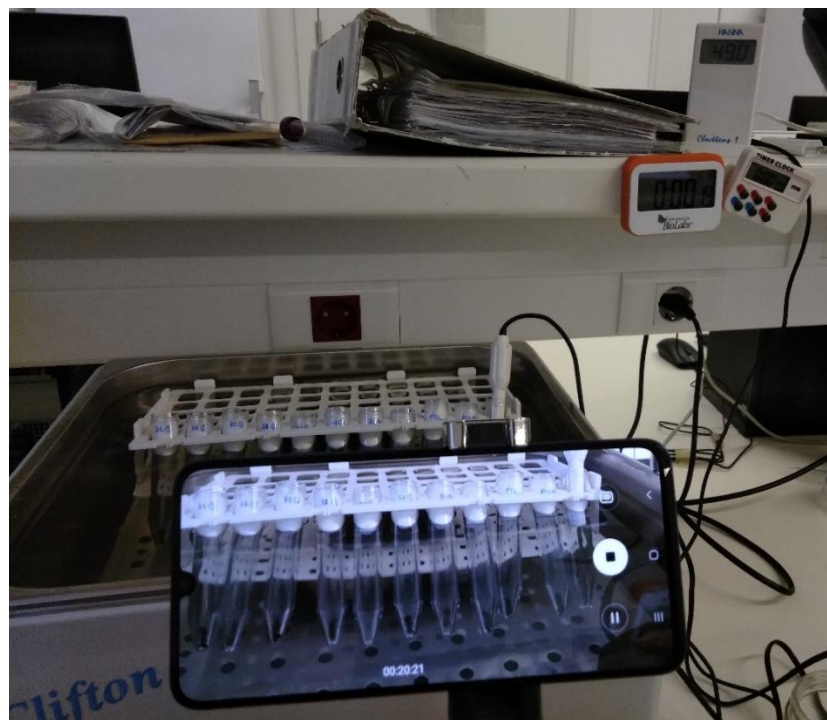


Figura 15: Smartphone posicionado em gravação.

4.7 Execução dos ensaios

Com a câmara posicionada, temperatura estabilizada e todos os tubos devidamente preparados, o suporte com os mesmos eram imersos no banho-maria. A partir da imersão, o tempo foi cronometrado por 20 minutos utilizando um cronômetro digital. Cada ensaio era composto por 10 indivíduos (obreiras recém-emergidas ou obreiras forrageiras) de diferentes colônias, onde

as três colônias tinham de estar representadas. Assim, seguiu-se um esquema de três indivíduos da colônia 1, três da colônia 2, e quatro da colônia 3. Além disso, a ordem das colônias em cada ensaio tinha que ser diferente de modo a excluir possíveis problemas de enviesamento dos resultados. A exceção foi aplicada aos zangões, uma vez que só foi possível avaliar uma colônia e deste modo os 10 indivíduos tinham a mesma origem.

4.8 Preparação e execução dos ensaios térmicos do frio

Para avaliar a tolerância ao frio, utilizou-se gelo granulado para reduzir a temperatura entre 0 °C e 0,3 °C. O gelo foi armazenado em uma caixa de isopor (Figura 16), com espaço suficiente para acomodar o suporte contendo os 10 tubos de ensaio e a sonda do termómetro digital.

O procedimento teve início com a adição de gelo granulado e água à caixa de isopor, facilitando a imersão do suporte contendo os tubos. A sonda do termómetro digital foi posicionada dentro de um tubo tapado com algodão humedecido, que ficou imerso no gelo para monitorizar a temperatura. Após aguardar a estabilização a 0 °C, foram inseridos no gelo os 10 indivíduos (Figura 17) de diferentes colônias e das mesmas castas em tubos individuais.

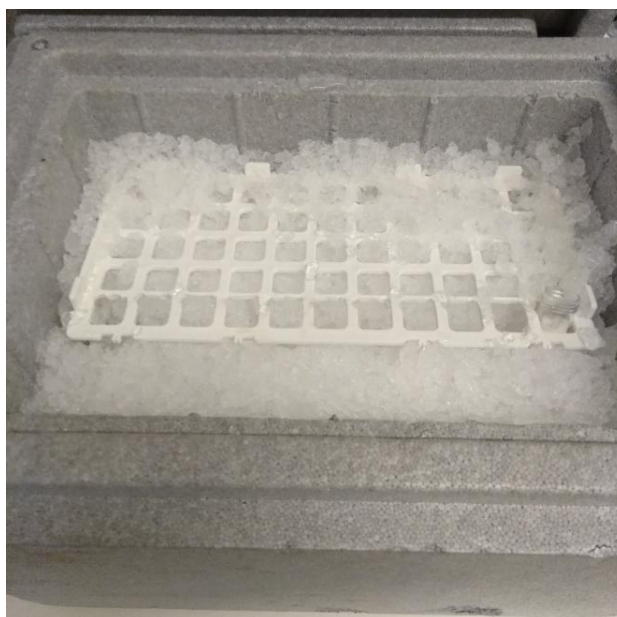


Figura 16: Imersão do suporte.

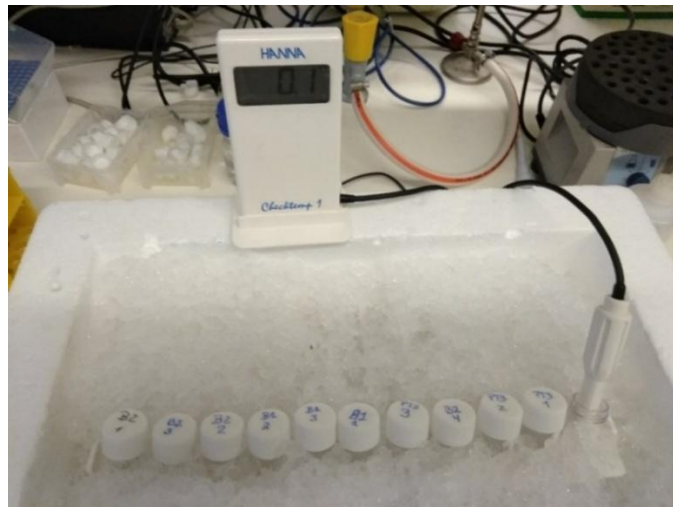


Figura 17: Imersão do suporte no gelo com os tubos.

Os tubos foram fechados com suas tampas originais, identificados e posicionados no rack de forma que permanecessem imersos ao máximo, evitando o risco de entrada de gelo no interior do tubo. Com a temperatura estabilizada, o suporte contendo os tubos foi cuidadosamente colocado na caixa de gelo, e o tempo foi cronometrado por 20 minutos. À medida que as abelhas começaram a apresentar imobilização, as tampas dos tubos foram retiradas.

Assim que as abelhas ficaram completamente imobilizadas na caixa de gelo, iniciou-se a preparação para a segunda etapa da experiência, focada no Tempo de Recuperação do Coma por Frio (CCRT). O banho-maria foi ajustado e mantido a uma temperatura de 25 °C. Para as gravações, um smartphone foi posicionado em um ângulo estratégico, para proporcionar uma visão clara do interior dos tubos.

Decorridos os 20 minutos, os indivíduos foram removidos do gelo e imediatamente transferidos para o banho-maria a 25 °C (Figura 18), onde se iniciou a gravação contínua para monitorização do processo de recuperação ao longo dos 20 minutos seguintes.

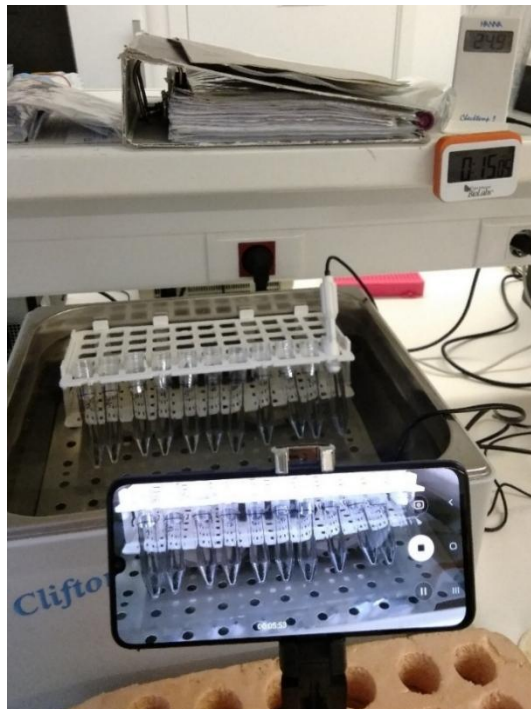


Figura 18: Abelhas recuperando da exposição ao frio após imersão no banho-maria a 25 °C.

Para o ensaio dos zangões foi necessário aplicar um estímulo de contato (Figura 19) de forma a avaliar a recuperação do coma induzido. Este estímulo era necessário para os zangões, mas não para as fêmeas, devido ao comportamento passivo, o qual dificultava a identificação clara no momento em que se recuperavam totalmente as suas funções motoras. O estímulo consistiu em toques suaves nas patas utilizando uma espátula de metal, realizados em intervalos de 30 segundos.



Figura 19: Estímulo aplicado com uma espátula aos zangões.

4.9 Análise dos vídeos da tolerância térmica do frio e calor

Após o término das experiências em laboratório, procedeu-se à análise de cada gravação para cada grupo de zangões e obreiras (figura 20). O momento exato (minuto e segundo) em que cada indivíduo começou a recuperar do coma induzido (caracterizada pelo primeiro movimento controlado das patas anteriores ou posteriores) ou a entrar em estupor térmico (o instante em que a abelha deslizou lentamente ou tombou para o fundo tubo, tornando-se incapaz de realizar movimentos corporais coordenados), foi cuidadosamente anotado e registado numa folha de cálculo (Figura 21). Além disso, a folha de cálculo (figura 22) continha todas as informações necessárias para a experiência, como a origem da colónia, data de colheita nas caixas de madeira, data e hora em que o ensaio foi realizado, a temperatura no momento em que as abelhas estavam no gelo, e a temperatura do banho-maria durante o processo de recuperação do coma induzido pelo frio.

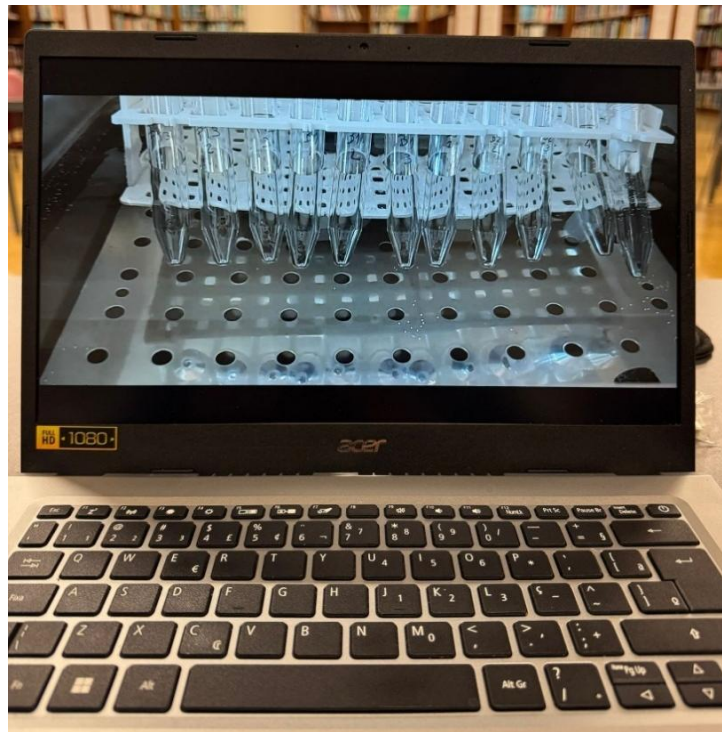


Figura 20: Análise dos vídeos.

Assay 11		Colony 1	Colony 2	Colony 3		
Date of worker "harvest"		12/06/2024 AM	12/06/2024 AM	12/06/2024 AM	Date of assay:	12-jun. Starting time: 14:23
T ice bath measured		0.2°C				
T water bath measured		25°C				
		colony of		Chill Coma RecoveryTime		
		provenance				
Vial #		minutes	seconds			
1	1	2	57			
2	1	2	42			
3	1	3	18			
4	2	4	22			
5	2	4	17			
6	2	4	21			
7	3	4	23			
8	3	6	39			
9	3	4	16			
10	3	5	56			

Figura 21: Captura de ecrán da folha de cálculo.

T4: Assay 2

Date of worker "harvest"	Colony 1 12/06/2024 AM	Colony 2 12/06/2024 AM	Colony 3 12/06/2024 AM	Date of assay:	12-jun.	Starting time:	11:02
T water bath measured	49°C						
	time before heat stupor		alive 0h after?	alive 6h after?			
Vial #	colony of provenance	minutes	seconds	1= yes, 0= no	1= yes, 0= no		
1		3	4	19	0		
2		3	3	20	0		
3		3	3	47	0		
4		3	3	33	0		
5		1	3	48	0		
6		1	2	31	0		
7		1	3	16	0		
8		2	2	26	0		
9		2	3	14	0		
10		2	2	35	0		

+

≡

89 DRONE heat tolerance

89 WORKER heat tolerance

55 FORAGER heat tolerance

44 DRONE cold tolerance

Figura 22: Exemplo da folha de cálculo com resultados da tolerância ao calor.

4.10 Local de Realização dos Ensaios Experimentais com Abelhas da Noruega

As práticas experimentais referentes às abelhas provenientes da Noruega não foram realizadas no Instituto Politécnico de Bragança. Todos os ensaios ocorreram na Noruega, sob supervisão e orientação da equipa parceira responsável pela execução do protocolo experimental. As coletas dos zangões foram realizadas entre os dias 11/06/2024 a 14/06/2024, enquanto a coleta das obreiras recém-emergidas ocorreu entre 12/08/2024 a 15/08/2024.

A fase pratica incluiu a filmagem completa dos testes de tolerância térmica, tanto do tempo até as abelhas entrarem em estupor térmico (HT), como do tempo de recuperação do coma induzido por frio (CCRT). Os vídeos obtidos foram posteriormente transferidos para a equipa portuguesa por meio de um disco rígido externo (HD). Coube a equipa de Portugal a tarefa de analisar os vídeos e identificar com precisão o momento em que cada abelha entrou em estupor ou se recuperou do coma.

Após essa análise, os dados foram organizados em uma planilha e utilizados para a realização do tratamento estatístico no software R.

4.11 Análise estatística dos dados

A análise estatística de dados foi realizada utilizando o software R (versão 4.4.2) (R Core Team, 2024). Inicialmente, os dados foram organizados e transformou-se o tempo até entrar em estupor térmico (HT) e o tempo de recuperação de coma induzido por frio (CCRT) em

segundos. Em seguida, foi verificada a normalidade da distribuição das variáveis utilizando o teste Shapiro-Wilk (`shapiro.test()`). Uma vez que os pressupostos dos testes paramétricos não foram satisfeitos, recorreu-se a testes não paramétricos. Para comparar HT e CCRT entre zangões e amas e entre amas e forrageiras, utilizou-se o teste Mann-Whitney (`wilcox.test()`). Para comprar os tempos de HT dos diferentes grupos de indivíduos (zangões, amas e forrageiras) para as diferentes temperaturas testadas foi aplicado o Kruskal-Wallis (`kruskal.test()`), seguido do teste de Dunn de comparações múltiplas (Dunn test, `dunn.test()`) com a correção de Bonferroni. Além disso, foram produzidos gráficos boxplot para facilitar a visualização das diferenças entre os grupos, utilizando o pacote `ggplot2`. Todas as análises consideraram um nível de significância de $\alpha = 0,05$.

A escolha dos testes estatísticos foi baseada nas características dos dados. Como HT e CCRT são variáveis contínuas, iniciou-se pela verificação da normalidade de suas distribuições utilizando o teste de Shapiro-Wilk. Como os dados não seguiram uma distribuição normal, optou-se por testes não paramétricos, que são mais apropriados nesse contexto por não exigirem esse pressuposto. O teste de Mann-Whitney foi utilizado para comparações entre dois grupos independentes, enquanto o teste de Kruskal-Wallis foi aplicado para comparar mais de dois grupos, seguido do teste de Dunn com correção de Bonferroni para comparações múltiplas. Essa abordagem garante maior robustez e confiabilidade na análise estatística dos dados experimentais.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Estupor térmico (HT) Comparação entre zangões e obreiras recém-emergidas

Todos os resultados serão apresentados no formato mediana (intervalo interquartil). No geral, os zangões apresentaram 390 (126) demonstraram um tempo de HT maior que as obreiras recém-emergidas 255 (195), sendo essa diferença estatisticamente significativa (Mann-Whitney teste, $W=18106$, $p= 1,639 \times 10^{-11}$). Além disso, como mostrado na Figura 23-A, observou-se uma maior variabilidade na resposta térmica entre as obreiras recém-emergidas.

Uma vez que os zangões de Portugal (*A. m. iberiensis*) não foram testados a 49 °C, refez-se a análise excluindo essa temperatura para as obreiras (Figura 23-B). Ainda assim, os tempos das obreiras recém-emergidas 309 (260) foram significativamente menores em comparação com os dos zangões 390 (126) ($W = 10034$; $p= 0,00169$).

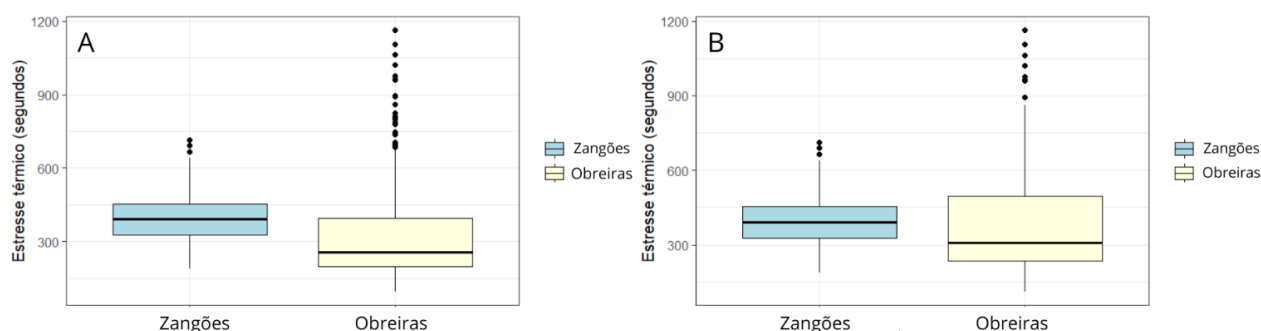


Figura 23: Comparação entre zangões e obreiras recém-emergidas considerando todas as temperaturas testadas para ambos os grupos (A) e excluindo da análise $T = 49\text{ °C}$ (B).

Para comparar zangões e obreiras recém-emergidas em diferentes temperaturas (figura 24), os dados foram reorganizados em grupos, considerando apenas as temperaturas coincidentes (47 °C e 48°C).

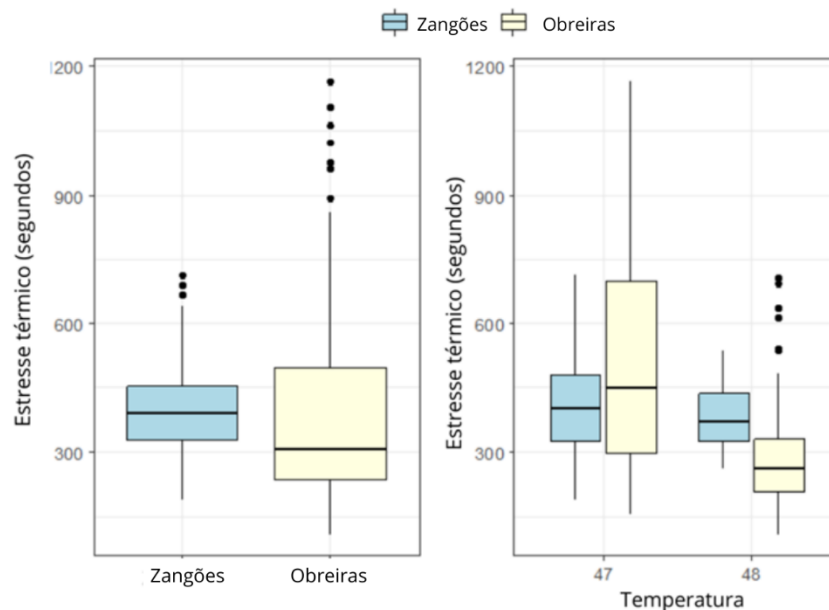


Figura 24: Comparação entre zangões e obreiras recém-emergidas de Portugal.

Comparando o HT dos zangões de Portugal para as duas temperaturas ($T=47\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $48\text{ }^{\circ}\text{C}$), verificou-se uma redução dos tempos embora a diferença não seja estatisticamente significativa (Kruskal-Wallis, $Z = 0.468$; $p = 1$), indicando que o aumento da temperatura não afetou de forma expressiva o HT. Em contrapartida, as comparações dos tempos HT das obreiras recém-emergidas mostram uma redução altamente significativa com o aumento da temperatura para $48\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Tabela 1; $Z = 7.07$; $p = 4.54 \times 10^{-12}$), evidenciando a maior sensibilidade térmica desta casta. Na comparação entre castas, a $47\text{ }^{\circ}\text{C}$, e embora as obreiras recém-emergidas demonstrassem um ligeiro aumento do tempo HT em relação aos zangões, essa diferença não mostrou ser estatisticamente significativa ($Z = -0.506$; $p = 1$). No entanto, ao comparar zangões e obreiras recém-emergidas a $48\text{ }^{\circ}\text{C}$, os zangões apresentaram HT significativamente superiores ($Z = 4.021$; $p = 1.74 \times 10^{-4}$). É necessário realçar que apenas uma colónia tinha zangões suficientes para entrar na experiência, pelo que reduzimos bastante a variabilidade esperada e desta forma os resultados de comparação entre castas têm de ser interpretados com cautela.

O mesmo padrão foi observado nos zangões da Noruega (*A. m. mellifera*) (Figura 25), que também demonstraram maior tempo HT 260 (184) em comparação com as obreiras recém-

emergidas 187 (158). Essa diferença foi estatisticamente significativa, conforme indicado pelo teste Mann-Whitney ($W = 45,862$; $p\text{-value} = 1,76 \times 10^{-9}$).

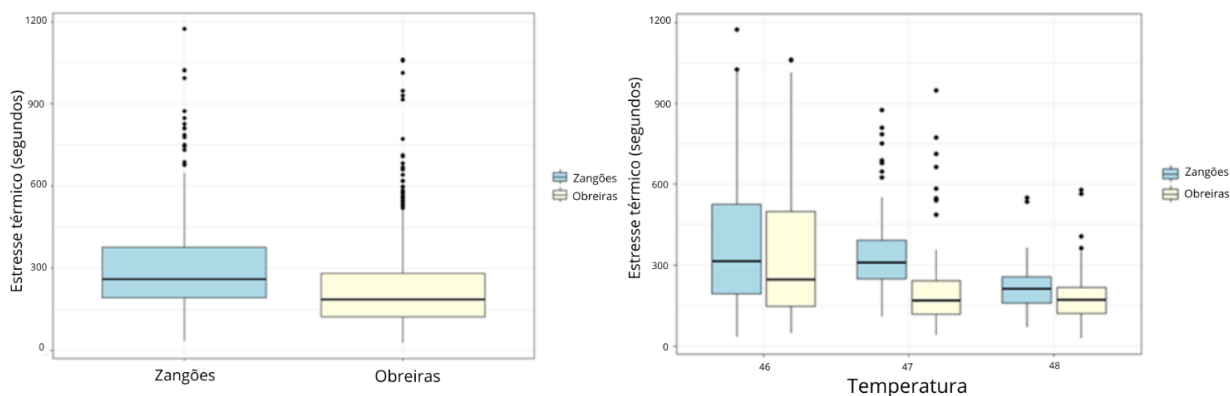


Figura 25: Comparação entre zangões e obreiras recém-emergidas da Noruega.

Na Noruega, tanto os zangões como as obreiras recém-emergidas apresentaram uma redução significativa dos tempos de HT com o aumento da temperatura para 48 °C (Tabela 2) (zangões: $Z = 5,122$; $p = 2,26 \times 10^{-6}$; obreiras: $Z = 5,269$ e $p = 1,03 \times 10^{-6}$), evidenciando uma acentuada redução do desempenho térmico em ambas as castas, relativamente aos indivíduos de Portugal. Na comparação entre castas, apenas a 47 °C se observaram tempos de HT significativamente superiores dos zangões em relação às obreiras recém-emergidas ($Z = 6,666$, $p = 1,97 \times 10^{-10}$). As restantes temperaturas não revelaram diferenças significativas entre as castas (Tabela 2).

Os resultados, independentemente da subespécie, sugerem que os zangões suportam temperaturas elevadas por mais tempo do que as obreiras recém-emergidas antes de entrarem em estupor, que vai ao encontro de estudos que relatam diferenças fisiológicas entre castas quanto à tolerância térmica (Stabentheiner et al., 2010). Em termos morfológicos, os zangões e as obreiras são bastante diferentes. Os zangões, por apresentarem maior tamanho corporal e volume hemolinfático, podem beneficiar de maior inércia térmica e melhor estabilidade interna frente ao calor (Coelho, 1991; Stabentheiner et al., 2010). Embora o papel dos zangões na colónia seja essencialmente reprodutivo, o facto de apresentarem tempo de HT superior

relativamente às obreiras recém-emergidas, que são abelhas de interior e por isso sujeitas a temperaturas relativamente constantes, pode indicar um processo adaptativo para fazer face às temperaturas elevadas que podem encontrar durante os voos de acasalamento. Por outro lado, a exposição continuada a temperaturas elevadas pode levar à inviabilidade do esperma até 75%, como reportado por McAfee et al. (2025). Esse comprometimento reprodutivo pode ter um impacto direto na qualidade da fecundação das rainhas e, em última instância, na renovação e manutenção saudável da colónia.

Nas obreiras, a exposição ao stress térmico resulta em respostas mais rápidas, sugerindo uma maior sensibilidade à elevação de temperatura. Considerando que as obreiras desempenham funções essenciais na manutenção da termorregulação e no cuidado com a criação, a mortalidade decorrente de eventos extremos, como ondas de calor, pode comprometer significativamente a estabilidade térmica da colónia. Esse desequilíbrio coloca em risco a viabilidade da criação e, consequentemente, a sustentabilidade da colónia (Bordier et al., 2017; Stabentheiner et al., 2010). Além disso, um estudo mostrou que as exposições das abelhas a temperaturas elevadas durante a fase de pupa resultaram num início precoce de forrageamento e numa consequente vida útil mais curta (Medina et al., 2018). De forma complementar, Poot-Báez et al. (2020), estudando abelhas africanizadas, demonstrou que durante as ondas de calor, a temperatura do ninho aumenta significativamente resultando em obreiras de tamanho mais reduzido, mostrando desta forma o efeito fisiológico que as alterações climáticas possam eventualmente causar.

Esses efeitos, no entanto, podem variar entre populações adaptadas a diferentes condições climáticas. O presente estudo evidencia essa mesma hipótese, ao revelar diferenças nos intervalos de temperaturas testadas entre as duas origens de abelhas. Tanto os zangões como as obreiras recém-emergidas da Noruega foram testados a 46 °C, 47 °C e 48 °C, enquanto os zangões de Portugal foram testados a 47 °C, 47.5 °C e 48 °C e as obreiras recém-emergidas a 47 °C, 48 °C e 49 °C. Este resultado indica desde já uma diferença entre as subespécies que poderá estar relacionada com a adaptação às condições ambientais locais.

Ao analisar temperatura a temperatura, a comparação entre os zangões de Portugal e da Noruega (figura 26), revelou diferenças claras na forma como cada subespécie lida com o calor extremo. A 47 °C, os zangões de Portugal suportaram temperaturas elevadas por mais tempo

antes de entrarem em estupor, com 399 (162) segundos, enquanto os da Noruega atingiram esse ponto mais rapidamente, com 309 (143) segundos. Essa diferença foi estatisticamente significativa ($p= 0,0126$).

A 48 °C, o padrão manteve-se e tornou-se ainda mais evidente: os zangões de Portugal resistiram cerca de 370 (144) segundos, enquanto os da Noruega não ultrapassaram 214 (89) segundos, uma diferença altamente significativa ($p= 1,53 \times 10^{-12}$; teste Mann-Whitney).

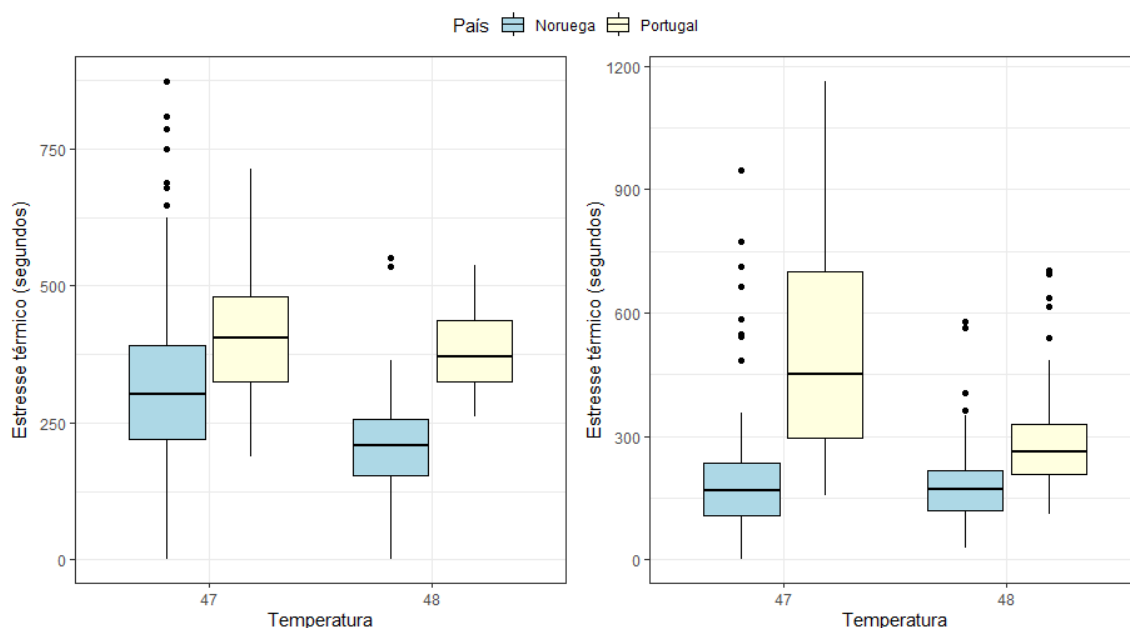


Figura 26: Comparação entre países de zangões (esquerdo) e obreiras recém-emergidas (direito).

Relativamente à comparação das obreiras recém-emergidas entre as duas subespécies, o resultado não foi diferente dos zangões. As obreiras recém-emergidas de Portugal apresentaram um tempo de HT superior às da Noruega para ambas as temperaturas. A 47 °C, as obreiras recém-emergidas da Noruega foram mais sensíveis ao calor, com 169 (125) segundos, enquanto as obreiras recém-emergidas de Portugal resistiram por mais tempo, com 420 (624) segundos ($W = 245,5$, $p= 3,80 \times 10^{-6}$). A 48 °C, a diferença também foi clara, com as da Noruega apresentando 171 (96) segundos, enquanto as de Portugal apresentaram 262 (123) segundos ($W = 1726$, $p= 1 \times 10^{-13}$).

Estes resultados sugerem que, independentemente da casta, as abelhas *A. m. iberiensis* têm um limite térmico superior que pode estar ligado a adaptações fisiológicas resultantes das condições climáticas mais quentes do sul da Europa, em contraste com o ambiente mais frio da Noruega. Estudos anteriores sugerem que as abelhas das regiões mais quentes tendem a desenvolver uma maior tolerância ao calor como forma de enfrentar os desafios impostos por temperaturas extremas. Por exemplo, Abou-Shaara et al. (2017), demonstrou que as abelhas da Arábia Saudita (*A. m. jemenitica*) são significativamente mais tolerantes ao calor do que a subespécie europeia *A. m. carnica*. As subespécies africanas, como por exemplo *A. m. scutellata*, também têm uma maior tolerância a temperaturas elevadas (Sheppard et al., 1991). Mesmo em subespécies geneticamente mais próximas e que partilham condições climáticas mais semelhantes, como *A. m. carnica* e *A. m. ligustica*, foram observadas diferenças onde a sub-espécie *A. m. ligustica* se revelou mais adaptada a temperaturas mais altas (Kovac et al., 2014). De fato, Le Conte & Navajas (2008), destacam que a variabilidade genética entre as subespécies de *A. mellifera* influencia a sua capacidade de adaptação ao ambiente térmico local.

5.2 Comparação entre obreiras (forrageiras) e obreiras recém-emergidas

No geral, as forrageiras de Portugal apresentaram um tempo de HT significativamente maior 380 (280) do que as obreiras recém-emergidas 255 (195), conforme indicado pelo teste de Mann-Whitney ($W=49255$, $p= 2,287 \times 10^{-15}$). Além disso, como mostrado na Figura 27 observou-se uma maior variabilidade na resposta térmica entre as obreiras recém-emergidas do que entre as forrageiras. Este resultado indica que as forrageiras suportam temperaturas elevadas por mais tempo antes de entrarem em estupor.

Para comparar forrageiras e obreiras recém-emergidas em diferentes temperaturas no mesmo grupo, os dados foram reorganizados de forma a criar seis grupos, utilizando-se apenas as temperaturas coincidentes entre os tipos de abelhas ($T = 47\text{ }^{\circ}\text{C}$, $48\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $49\text{ }^{\circ}\text{C}$). A Figura 27 mostra os tempos de HT para as forrageiras e obreiras recém-emergidas quando submetidas a temperaturas distintas.

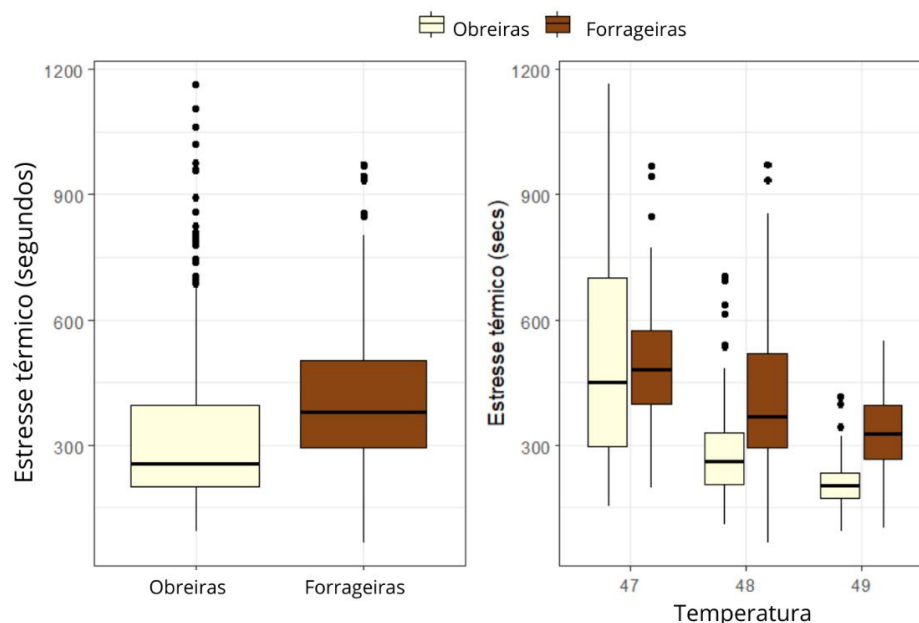


Figura 27: Comparação entre forrageiras e obreiras recém-emergidas considerando todas as temperaturas testadas para ambos os grupos.

Comparando os tempos de HT das forrageiras entre as três temperaturas analisadas (47 °C, 48 °C e 49 °C), verificou-se uma redução progressiva e estatisticamente significativa do tempo de HT com o aumento da temperatura (Tabela 3). As forrageiras submetidas a 48 °C apresentaram tempos de HT significativamente menores do que a 47° C ($Z = 3,15$; $p = 0,0120$), e essa redução foi ainda mais pronunciada a 49° C ($Z = 5,88$; $p = 2,92 \times 10^{-8}$), indicando que o aumento da temperatura afeta negativamente a tolerância térmica das forrageiras. A diferença entre 48 °C e 49 °C também foi estatisticamente significativa, ainda que mais discreta ($Z = 2,74$; $p = 0,0458$), sugerindo uma queda contínua na resistência térmica com o aumento da temperatura.

A análise dos tempos de HT das obreiras recém-emergidas nas três temperaturas testadas (47 °C, 48 °C e 49 °C) revelou uma tendência clara de diminuição da resistência térmica com o aumento da temperatura (Tabela 3). Entre 47 °C e 48 °C, a redução foi expressiva e estatisticamente significativa ($Z = 6,80$; $p = 7,88 \times 10^{-11}$), indicando que mesmo um pequeno aumento na temperatura já compromete a tolerância das obreiras recém-emergidas ao calor. A exposição a 49 °C acentuou ainda mais a redução do tempo de tolerância, com diferenças

altamente significativas em relação a 47 °C ($Z = 10,76$; $p = 3,80 \times 10^{-26}$), sugerindo forte impacto do stress térmico perante temperaturas extremas. A comparação entre 48 °C e 49 °C também resultou em diferenças significativas ($Z = 4,02$; $p = 0,0004$), o que reforça a ideia de que as obreiras recém-emergidas perdem progressivamente sua capacidade de suportar o calor conforme a temperatura aumenta.

Ao comparar os tempos de HT entre forrageiras e obreiras recém-emergidas nas diferentes temperaturas, observou-se que em todas as temperaturas analisadas as forrageiras apresentaram maior tolerância térmica, com diferenças estatisticamente significativas na maioria dos casos (Tabela 3). A 48 °C, as forrageiras resistiram por mais tempo, com 367 (228) segundos, enquanto as obreiras recém-emergidas apresentaram 262 (123) segundos havendo uma diferença robusta ($Z = 5,30$; $p = 8,74 \times 10^{-7}$). A discrepância foi ainda mais pronunciada a 47 °C ($Z = 8,46$; $p \approx 0$), indicando que as forrageiras suportam significativamente melhor o calor perante temperaturas moderadamente elevadas. A maior diferença foi observada a 49 °C ($Z = 12,47$; $p = 7,69 \times 10^{-35}$), onde a tolerância térmica das obreiras recém-emergidas caiu drasticamente em relação às forrageiras. Esses resultados indicam que, embora as obreiras recém-emergidas e forrageiras respondam de forma semelhante a temperaturas moderadas, as forrageiras demonstram uma vantagem térmica em temperaturas mais elevadas, o que pode refletir adaptações comportamentais e fisiológicas associadas à sua exposição ao ambiente externo durante o pasto.

Os resultados indicam que tanto as obreiras recém-emergidas como as forrageiras apresentaram uma diminuição progressiva nos tempos de resistência térmica à medida que a temperatura aumentou de 47 °C para 49 °C. No entanto, as forrageiras mantiveram tempos medianos de estupor térmico consistentemente mais elevados em comparação com as obreiras recém-emergidas em todas as temperaturas testadas. Essa diferença foi mais pronunciada a 48 °C e 49 °C, onde as obreiras recém-emergidas apresentaram reduções mais acentuadas na tolerância ao calor em comparação com as forrageiras.

A maior resistência térmica observada nas forrageiras em relação às obreiras recém-emergidas pode estar relacionada com as suas diferenças comportamentais e fisiológicas. As forrageiras por serem responsáveis pela colheita de recursos fora da colmeia, estão naturalmente expostas a maiores variações de temperatura ambiental, o que pode ter favorecido adaptações

fisiológicas resultantes em maior resistência ao calor (Stabentheiner et al., 2010). De acordo com Johnson (2010), diferentes castas e idades podem exibir plasticidade térmica diferenciada, dependendo das suas funções na colônia. Apesar das forrageiras apresentarem maior tolerância ao calor, é importante considerar que a exposição prolongada a temperaturas extremas pode comprometer funções fisiológicas essenciais, aumentando a mortalidade a longo prazo (Stabentheiner et al., 2021).

No estudo de Alqarni et al. (2019), foi analisada a expressão de genes codificantes das proteínas de choque térmico (HSPs) em amas e forrageiras de três subespécies: *A. m. carnica*, *A. m. ligustica* e *A. m. jemenitica* expostas a temperaturas elevadas durante 4 horas. As amas, independentemente da subespécie, apresentaram resposta semelhante, com expressão de Hsp70 e Hsp82 quando expostas a temperaturas de 40 °C e 45 °C. Isso mostra que, mesmo sendo de origens diferentes, as amas reagem de forma similar ao calor. Já as forrageiras mostraram respostas distintas. *A. m. jemenitica* não expressou nenhum dos genes a 40 °C enquanto *A. m. carnica* e *A. m. ligustica* expressaram a Hsp 70. Já a 45 °C, *A. m. jemenitica* expressou Hsp70, *A. m. carnica* expressou Hsp40 e Hsp70 enquanto *A. m. ligustica* expressou Hsp40, Hsp60 e Hsp70, sugerindo menor resistência térmica e maior dependência desses mecanismos de proteção. Esses resultados indicam que as forrageiras da subespécie local (*A. m. jemenitica*) parecem mais adaptadas ao clima quente, enquanto as europeias precisam ativar mais defesas celulares em resposta às mesmas condições. Este resultado também pode estar relacionado com o metabolismo de cada subespécie, que influenciando a sua reação ao stress térmico.

Essas proteínas desempenham um papel crucial na manutenção da integridade celular frente a condições de stress térmico, favorecendo a sobrevivência em condições ambientais extremas. Além disso, a resposta das abelhas ao stress térmico envolve também o fortalecimento do sistema antioxidante. Durante a exposição ao calor, ocorre a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), que podem danificar as células. Para combater esses efeitos, as abelhas ativam a expressão de proteínas de choque térmico (HSPs) e genes reguladores associados ao controle antioxidante, como NF- κ B e proteínas do tipo *Zinc finger*. Contudo, quando o desequilíbrio entre a produção de ROS e a defesa antioxidante persiste, ocorre falência celular e morte (Zhao et al., 2021). Esses resultados destacam a importância das

adaptações fisiológicas específicas das obreiras na sobrevivência sob condições térmicas extremas, e destacam a vulnerabilidade diferenciada frente ao stress ambiental.

5.3 Tempo de Recuperação do Coma por Frio - Comparação entre zangões e obreiras recém-emergidas

Nos ensaios do tempo de recuperação do coma induzido pelo frio (CCRT), os zangões de Portugal obtiveram 222 (152) segundos, apresentando um tempo de recuperação ligeiramente inferior ao das obreiras recém-emergidas, que tivera, 236 (81,5) segundos. No entanto, essa diferença não foi estatisticamente significativa (Mann-Whitney teste, $W= 2808$; $p= 0,3148$). Observa-se que, embora as medianas sejam próximas, as obreiras recém-emergidas apresentaram menor variabilidade em comparação com os zangões (Figura 28). Esses resultados sugerem que, no contexto climático de Portugal, não há diferença significativa entre zangões e obreiras recém-emergidas na capacidade de recuperação do coma por frio, sendo semelhante apesar das diferenças fisiológicas e comportamentais entre as duas castas.

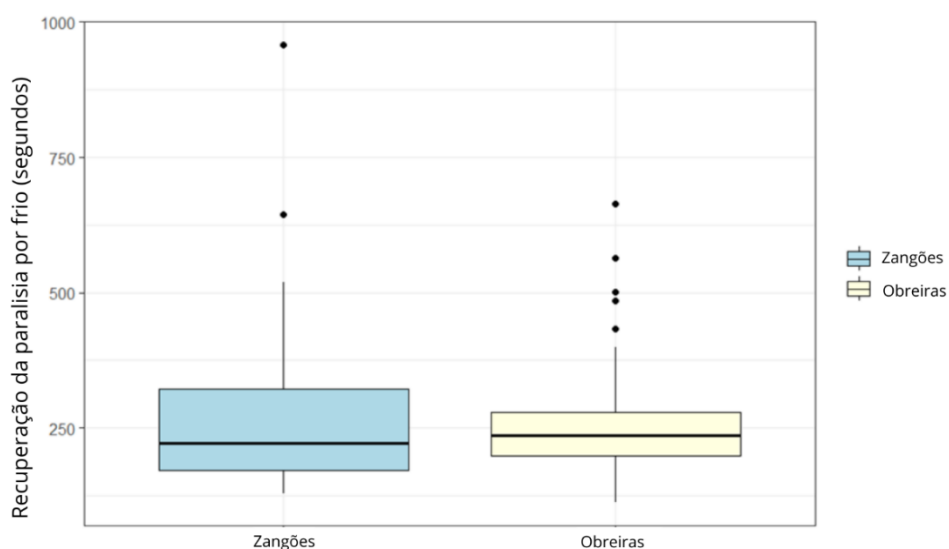


Figura 28: Comparação entre zangões e obreiras recém-emergidas relativamente à recuperação da paralisia por frio

O coma induzido pelo frio nos insetos é caracterizado pela perda da coordenação motora, sendo esse o parâmetro mais comumente utilizado em estudos experimentais. Apesar de representar um colapso fisiológico temporário, o coma é reversível, desde que sua duração não ultrapasse um limite crítico e que a temperatura não continue a cair até atingir níveis letais (Hazell & Bale, 2011).

Os zangões, por possuírem características morfológicas e fisiológicas distintas, como maior tamanho corporal e volume hemolinfático, poderiam ser mais vulneráveis ao frio (Coelho, 1991). No entanto, a semelhança nos tempos de recuperação pode estar relacionada com uma aclimação semelhante ao clima local. De acordo com Colinet et al. (2015), a exposição crônica a flutuações térmicas moderadas pode induzir uma maior plasticidade térmica e favorecer mecanismos de reparação ativa de danos celulares durante os ciclos de reaquecimento. Esses processos fisiológicos adaptativos podem explicar a ausência de diferenças significativas entre castas em Portugal, sugerindo que ambos grupos partilham mecanismos eficientes de recuperação do coma induzido por frio.

Um estudo recente demonstra que a entrada e a recuperação do coma induzido por frio envolvem diferentes sistemas fisiológicos nos insetos (Andersen & Overgaard, 2019). De acordo com os autores, a perda da coordenação motora e a entrada em coma estão associadas a uma despolarização no sistema nervoso central (SNC), enquanto a recuperação do coma depende primariamente da repolarização das membranas do sistema muscular. Esses resultados foram observados em diferentes espécies de *Drosophila* com distintas tolerâncias ao frio, sugerindo que os mecanismos de tolerância térmica são multifatoriais. Assim, no contexto do presente estudo, as diferenças observadas na recuperação entre castas podem estar relacionadas não apenas com a intensidade do frio, mas também com variações na eficiência de recuperação da função muscular, o que reforça a complexidade fisiológica envolvida nesse processo.

A comparação da tolerância ao frio entre as obreiras recém-emergidas da Noruega e de Portugal (Figura 29) revelou uma diferença estatisticamente significativa nos tempos de recuperação após exposição ($W = 1443$, $p < 2,2 \cdot 10^{-16}$), indicando que a origem geográfica das abelhas influencia significativamente a tolerância ao frio em *A. mellifera*. As abelhas da Noruega apresentaram um tempo de recuperação de 130 (63), enquanto as de Portugal

apresentaram 236 (81,5) segundos, indicando uma maior tolerância ao frio por parte das obreiras recém-emergidas norueguesas.

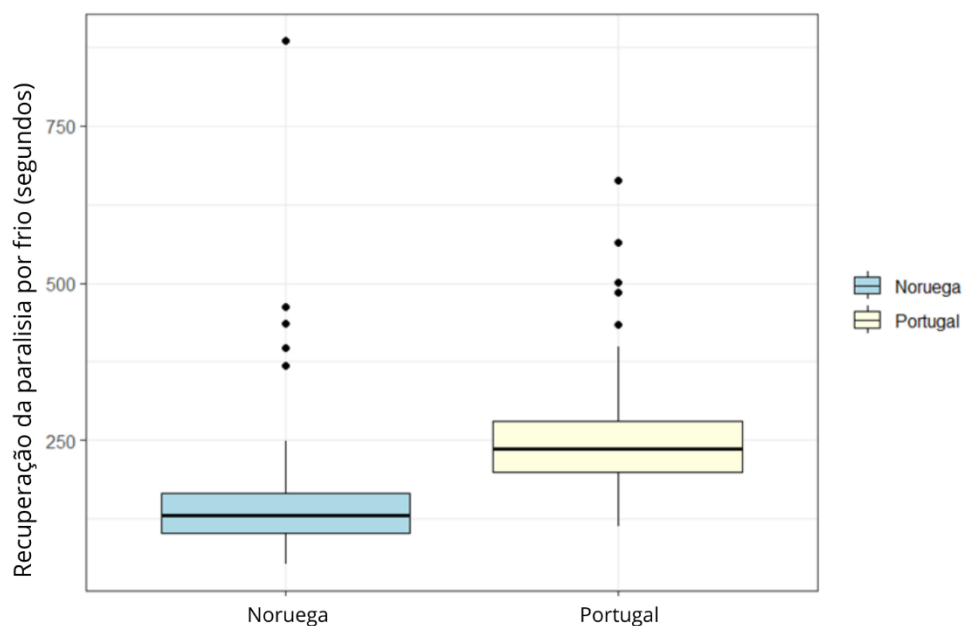


Figura 29: Comparação entre países da recuperação da paralisia por frio das obreiras recém-emergidas.

Conforme demonstrado por Stabentheiner et al. (2010), a termorregulação coletiva desempenha um papel essencial na sobrevivência das abelhas em ambientes frios, sendo regulada por mecanismos comportamentais e fisiológicos específicos. As colônias de regiões com clima mais severo, como a Noruega, exibem maior capacidade de gerar calor por meio de termogênese muscular e do agrupamento, o que contribui para a maior tolerância ao frio. O menor de tempo de recuperação observado nas abelhas da Noruega pode estar relacionado a mecanismos bioquímicos e celulares. Segundo Colinet et al. (2015), insetos expostos a regimes térmicos flutuantes desenvolvem maior tolerância ao frio por meio de respostas fisiológicas adaptativas, como a produção de proteínas de choque térmico, manutenção da homeostasia iônica e produção de crioprotetores. Assim, a maior tolerância ao frio das abelhas da Noruega

pode refletir adaptações fisiológicas e comportamentais resultantes da exposição prolongada a ambientes termicamente variáveis, reforçando o papel da plasticidade térmica na sobrevivência e recuperação frente ao stress por frio.

A comparação dos resultados entre zangões provenientes da Noruega e de Portugal (Figura 30) revelou uma diferença estatisticamente significativa na recuperação do coma induzido pelo frio ($W = 4397,5$, $p = 4,702 \times 10^{-9}$). O tempo de recuperação dos zangões da Noruega foi de 327 (82) segundos, enquanto o dos zangões de Portugal foi de 222 (152) segundos.

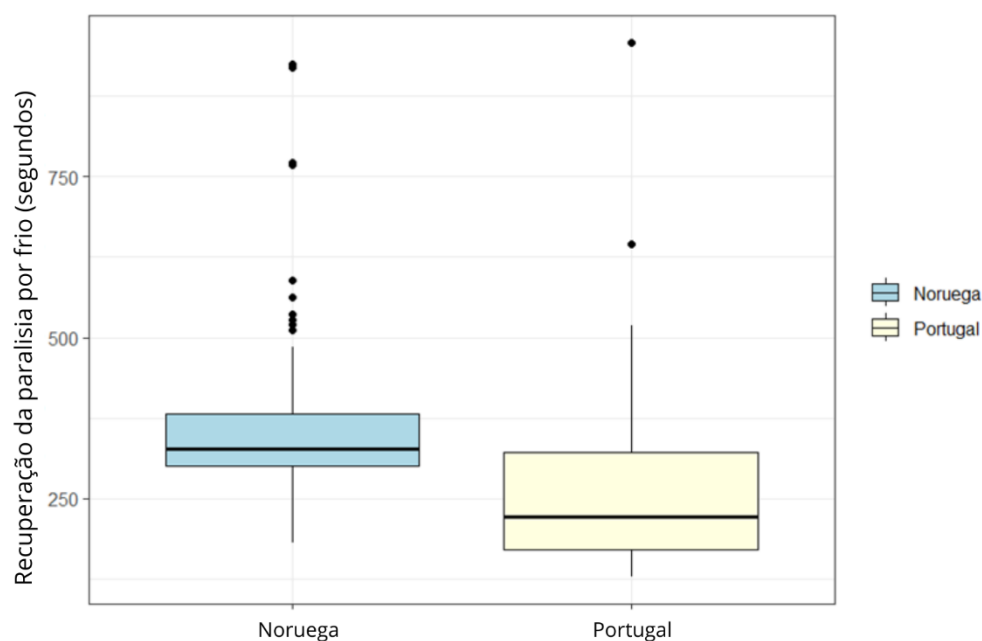


Figura 30: Comparação entre países da recuperação da paralisia por frio dos zangões.

Apesar da origem em um ambiente mais frio, os zangões da Noruega apresentaram um tempo de recuperação significativamente mais lento após o coma induzido pelo frio, em comparação com os zangões de Portugal. Esta observação contraria a expectativa de que indivíduos de climas frios exibam maior tolerância ao frio, mas pode ser explicada por diferentes mecanismos fisiológicos e ecológicos associados à casta reprodutiva e à história térmica local. Segundo Colinet et al. (2015), insetos expostos a temperaturas flutuantes dentro

de faixas permissivas desenvolvem maior plasticidade térmica e mecanismos eficientes de recuperação durante os períodos de reaquecimento, incluindo restauração iônica, ativação de proteínas de choque térmico e metabolismo antioxidante. De acordo com MacMillan & Sinclair (2011), a recuperação do coma induzido pelo frio é um processo fisiológico ativo, que envolve a restauração da homeostasia iônica, a reativação da excitabilidade muscular e a reorganização das membranas celulares. Assim, a recuperação mais rápida observada nos zangões de Portugal pode refletir uma menor magnitude de lesão durante o frio, e não necessariamente maior tolerância térmica.

5.4 Comparação entre obreiras (forrageiras) e obreiras recém-emergidas

Os dados revelam diferença estatisticamente significativa nos tempos de recuperação do coma induzido por frio entre forrageiras e obreiras recém-emergidas ($W = 9730$, $p = 0.02898$) de Portugal. As forrageiras apresentaram tempo de recuperação de 251 (66) segundos, enquanto o das obreiras recém-emergidas apresentaram 236 (81,5) segundos, conforme a figura 31.

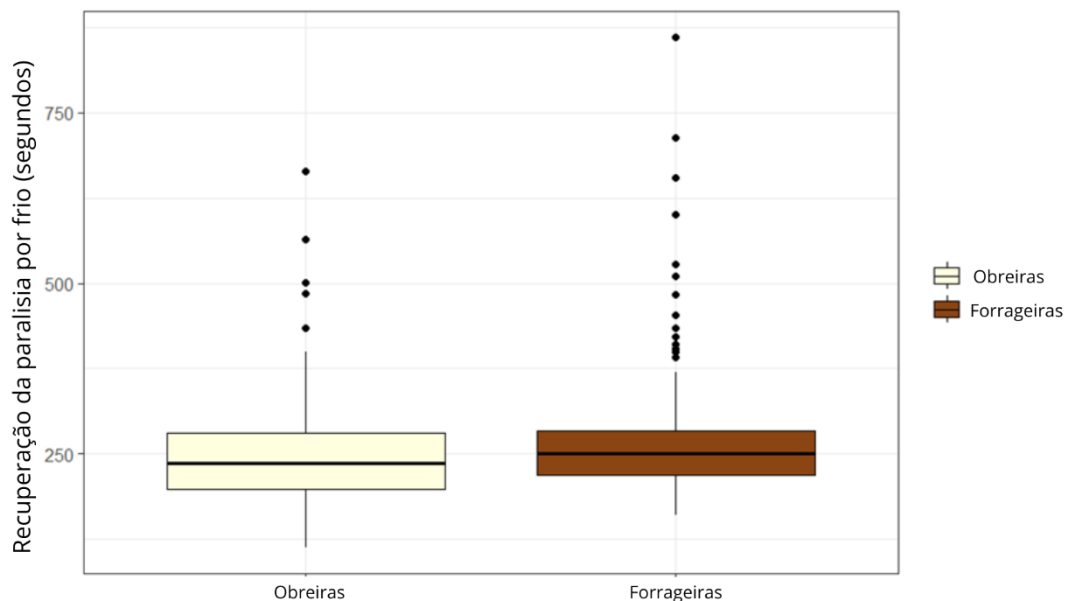


Figura 31: Comparação entre castas da recuperação da paralisia por frio das forrageiras e obreiras recém-emergidas.

O maior tempo de recuperação observado nas forrageiras pode estar ligado às demandas energéticas elevadas e ao desgaste fisiológico acumulado em função de sua atividade no exterior. Embora Harrison & Fewell (2002) descrevam uma elevada capacidade metabólica nas forrageiras, esta pode não ser vantajosa em condições stress térmico. A maior sensibilidade ao frio observada nas abelhas mais velhas pode refletir uma limitação em restaurar rapidamente a homeostasia após o coma, exigindo mais tempo e energia para reativar funções fisiológicas essenciais. Além disso, Terblanche & Chown (2007) destacam que o envelhecimento e a maior atividade oxidativa podem comprometer a tolerância térmica nos insetos, sugerindo que alterações fisiológicas relacionadas com a idade podem influenciar negativamente a capacidade de recuperação após exposições ao frio.

6 CONCLUSÕES

Este estudo demonstrou que a tolerância térmica em *A. mellifera* varia de forma significativa entre castas (obreiras recém-emergidas) e zangões e entre as subespécies *A. m. iberiensis* e *A. m. mellifera*. A análise dos tempos de estupor térmico (HT) e de recuperação do coma induzido pelo frio (CCRT) permitiu identificar padrões consistentes de resistência ao calor mais elevados em *A. m. iberiensis*, sugerindo uma adaptação fisiológica ao clima mediterrânico, em contraste com *A. m. mellifera* exposta a ambientes mais frios e húmidos. Os zangões apresentaram maior resistência ao calor em comparação com as obreiras recém-emergidas, o que pode estar associado ao seu maior tamanho corporal e volume hemolinfático, favorecendo uma maior inércia térmica (Coelho, 1991; Stabentheiner et al., 2010). Esta maior tolerância pode representar uma vantagem adaptativa durante os voos de acasalamento em ambientes quentes, embora a exposição prolongada ao calor possa comprometer a qualidade do sémen (McAfee et al., 2025).

As obreiras forrageiras demonstraram maior tolerância térmica do que as obreiras recém-emergidas, especialmente em temperaturas elevadas, o que reforça a hipótese de que a exposição constante ao ambiente externo favorece adaptações fisiológicas específicas, como a produção de proteínas de choque térmico (HSPs) (Alqarni et al., 2019). Tal como sugerido por Johnson (2010), essa plasticidade térmica pode estar diretamente ligada às funções desempenhadas na colmeia.

Na comparação entre subespécies, verificou-se que *A. m. iberiensis* resistiu mais ao calor do que *A. m. mellifera*, independentemente da casta. Estes resultados são concordantes com estudos prévios que apontam maior tolerância térmica em populações adaptadas a ambientes mais quentes (Abou-Shaara et al., 2017; Kovac et al., 2014). A variabilidade genética parece ter um papel central na capacidade de adaptação térmica local (Le Conte & Navajas, 2008).

Os resultados do tempo de recuperação do coma por frio de Portugal mostraram menor variabilidade nos tempos de recuperação das obreiras recém-emergidas em relação aos zangões, o que pode indicar uma maior estabilidade fisiológica dessa casta. No entanto, não foram encontradas diferenças significativas. Os dados obtidos para as obreiras recém-emergidas e

forrageiras de Portugal indicaram diferença significativa no tempo de recuperação do coma induzido por frio, com as obreiras recém-emergidas apresentando um tempo de recuperação inferior ao das forrageiras. Além disso Terblanche & Chown (2007) destacam que o envelhecimento e a maior atividade oxidativa podem comprometer a tolerância térmica nos insetos, sugerindo que alterações fisiológicas relacionadas com a idade podem influenciar negativamente a capacidade de recuperação após exposições ao frio.

De forma geral, este trabalho contribuiu para o aprofundamento do conhecimento sobre a adaptação térmica na abelha melífera. Os dados obtidos reforçam a importância de integrar informações sobre subespécies, castas e condições ambientais em estratégias de conservação de polinizadores e de manejo apícola, especialmente diante dos desafios impostos pelas alterações climáticas globais.

7 REFERÊNCIAS

- Abou-Shaara, H. F., Owayss, A. A., Ibrahim, Y. Y., & Basuny, N. K. (2017). A review of impacts of temperature and relative humidity on various activities of honey bees. In *Insectes Sociaux* (Vol. 64, Issue 4, pp. 455–463). Birkhauser Verlag AG. <https://doi.org/10.1007/s00040-017-0573-8>
- AGROBITTEN. (2025). Saca quadro pegador de caixilho caixa abelha com formão. Mercado Livre. https://produto.mercadolivre.com.br/MLB-2901671934-saca-quadro-pegador-de-caixilho-caixa-abelha-com-formo-_JM
- Alqarni, A. S., Ali, H., Iqbal, J., Owayss, A. A., & Smith, B. H. (2019). Expression of heat shock proteins in adult honey bee (*Apis mellifera* L.) workers under hot-arid subtropical ecosystems. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(7), 1372–1376. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.08.017>
- Andersen, M. K., & Overgaard, J. (2019). The central nervous system and muscular system play different roles for chill coma onset and recovery in insects. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 233, 10–16. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2019.03.015>
- Arce, A. N., Cantwell-Jones, A., Tansley, M., Barnes, I., Brace, S., Mullin, V. E., Notton, D., Ollerton, J., Eatough, E., Rhodes, M. W., Bian, X., Hogan, J., Hunter, T., Jackson, S., Whiffin, A., Blagoderov, V., Broad, G., Judd, S., Kokkini, P., ... Gill, R. J. (2023). Signatures of increasing environmental stress in bumblebee wings over the past century: Insights from museum specimens. *Journal of Animal Ecology*, 92(2), 297–309. <https://doi.org/10.1111/1365-2656.13788>
- Arneth, A., Shin, Y.-J., Leadley, P., Rondinini, C., Bukvareva, E., Kolb, M., Midgley, G. F., Oberdorff, T., Palomo, I., & Saito, O. (2020). Post-2020 biodiversity targets need to embrace climate change. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(49), 30882–30891. <https://doi.org/10.1073/pnas.2009584117>
- Bak Winther, C., Bahrndorff, S., Noer Krog, N., Jørgensen Bjerregard, L., Overgaard, J., & Kristensen Nygaard, T. (2020). Comparison of Static and Dynamic Assays When Quantifying Thermal Plasticity of Drosophilids. *Insects*, 11(8), 537. <https://doi.org/10.3390/insects11080537>

- Bordier, C., Suchail, S., Pioz, M., Devaud, J. M., Collet, C., Charreton, M., Le Conte, Y., & Alaux, C. (2017). Stress response in honeybees is associated with changes in task-related physiology and energetic metabolism. *Journal of Insect Physiology*, 98, 47–54. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2016.11.013>
- Burdine, J. D., & McCluney, K. E. (2019). Differential sensitivity of bees to urbanization-driven changes in body temperature and water content. *Scientific Reports*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-38338-0>
- Chávez-Galarza, J., Garnery, L., Henriques, D., Neves, C. J., Loucif-Ayad, W., Jonhston, J. S., & Pinto, M. A. (2017). Mitochondrial DNA variation of *Apis mellifera iberiensis*: further insights from a large-scale study using sequence data of the tRNA^{Leu}-cox2 intergenic region. *Apidologie*, 48(4), 533–544. <https://doi.org/10.1007/s13592-017-0498-2>
- Chávez-Galarza, J., Henriques, D., Johnston, J. S., Carneiro, M., Rufino, J., Patton, J. C., & Pinto, M. A. (2015). Revisiting the Iberian honey bee (*Apis mellifera iberiensis*) contact zone: maternal and genome-wide nuclear variations provide support for secondary contact from historical refugia. *Molecular Ecology*, 24(12), 2973–2992. <https://doi.org/10.1111/mec.13223>
- Chen, C., Liu, Z., Pan, Q., Chen, X., Wang, H., Guo, H., Liu, S., Lu, H., Tian, S., Li, R., & Shi, W. (2016). Genomic Analyses Reveal Demographic History and Temperate Adaptation of the Newly Discovered Honey Bee Subspecies *Apis mellifera sinixinyuan* n. ssp. *Molecular Biology and Evolution*, 33(5), 1337–1348.
- Coelho, J. R. (1991). Heat transfer and body temperature in Honey bee (Hymenoptera: Apidae) drones and workers. *Environmental Entomology*, 20(6), 1627–1635. <https://doi.org/10.1093/ee/20.6.1627>
- Colinet, H., Sinclair, B. J., Vernon, P., & Renault, D. (2015). Insects in Fluctuating Thermal Environments. *Annual Review of Entomology*, 60(1), 123–140. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-010814-021017>
- Costa, W. F., Cordeiro, G. D., Giannini, T. C., & Fonseca, V. L. I. (2017). *Efeito das mudanças climáticas sobre polinizadores de algumas culturas agrícolas no Brasil*. <https://www.researchgate.net/publication/321151858>

- de Farias-Silva, F. Jackson., & Freitas, B. M. (2021). Thermoregulation in the large carpenter bee *Xylocopa frontalis* in the face of climate change in the Neotropics. *Apidologie*, 52(2), 341–357. <https://doi.org/10.1007/s13592-020-00824-8>
- De Souza, D. A., Kaftanoglu, O., De Jong, D., Page, R. E., Amdam, G. V., & Wang, Y. (2018). Differences in the morphology, physiology and gene expression of honey bee queens and workers reared *in vitro* versus *in situ*. *Biology Open*. <https://doi.org/10.1242/bio.036616>
- Domingos, H. G. T., & Gonçalves, L. S. (2014). TERMORREGULAÇÃO DE ABELHAS COM ÊNFASE EM *Apis mellifera* Thermoregulation in bees with emphasis on *Apis mellifera*. *Acta Veterinaria Brasilica*, 8(3), 151–154.
- Engel, M. S. (1999). The Taxonomy of Recent and Fossil Honey Bees (Hymenoptera: Apidae; *Apis*). In *HYM. RES* (Vol. 8, Issue 2).
- Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa. (s.d.). *Apis mellifera*. In *VIVA – Artrópodes*. Recuperado em 23 de maio de 2025, de <https://www.viva.fct.unl.pt/artropodes/apis-mellifera>
- Fauna Silvestre de Hormaza. (2014, novembro). *Apis mellifera iberica* [Fotografia]. *Fauna Silvestre de Hormaza*. Recuperado em 23 de maio de 2025, de <https://faunasilvestredehormaza.blogspot.com/2014/11/apis-mellifera-iberica.html>
- Findsen, A., Pedersen, T. H., Petersen, A. G., Nielsen, O. B., & Overgaard, J. (2014). Why do insects enter and recover from chill coma? Low temperature and high extracellular potassium compromise muscle function in *Locusta migratoria*. *Journal of Experimental Biology*, 217(8), 1297–1306. <https://doi.org/10.1242/jeb.098442>
- Freitas, E. (1999). *A Vida das Abelhas*.
- Gómez, A., & Lunt, D. H. (2007). Refugia within Refugia: Patterns of Phylogeographic Concordance in the Iberian Peninsula. In *Phylogeography of Southern European Refugia* (pp. 155–188). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/1-4020-4904-8_5
- Gonzalez, V. H., Oyen, K., Vitale, N., & Ospina, R. (2022). Neotropical stingless bees display a strong response in cold tolerance with changes in elevation. *Conservation Physiology*, 10(1). <https://doi.org/10.1093/conphys/coac073>
- Gonzalez, V. H., Rancher, W., Vigil, R., Garino-Heisey, I., Oyen, K., Tscheulin, T., Petanidou, T., Hranitz, J. M., & Barthell, J. F. (2024). Bees remain heat tolerant after acute exposure

- to desiccation and starvation. *Journal of Experimental Biology*, 227(24).
<https://doi.org/10.1242/jeb.249216>
- Guimarães, M. R. F. (2010). *Poliestismo e expectativa de vida em operárias de Atta laevigata*. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Viçosa. Repositório Institucional da UFV.
- Harrison, J. F., & Fewell, J. H. (2002). Environmental and genetic influences on flight metabolic rate in the honey bee, *Apis mellifera*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 133(2), 323–333.
[https://doi.org/10.1016/S1095-6433\(02\)00163-0](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(02)00163-0)
- Hazell, S. P., & Bale, J. S. (2011). Low temperature thresholds: Are chill coma and CTmin synonymous? *Journal of Insect Physiology*, 57(8), 1085–1089.
<https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2011.04.004>
- Hepburn, H. R., & Radloff, S. E. (1998). *Honeybees of Africa* (Springer-Verlag Berlin, Ed.). Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-662-03604-4>
- Hristov, P., Shumkova, R., Palova, N., & Neov, B. (2020). Factors Associated with Honey Bee Colony Losses: A Mini-Review. *Veterinary Sciences*, 7(4), 166.
<https://doi.org/10.3390/vetsci7040166>
- Jhawar, J., Davidson, J. D., Weidenmüller, A., Wild, B., Dormagen, D. M., Landgraf, T., Couzin, I. D., & Smith, M. L. (2023). How honeybees respond to heat stress from the individual to colony level. *Journal of The Royal Society Interface*, 20(207).
<https://doi.org/10.1098/rsif.2023.0290>
- Johnson, B. R. (2010). Division of labor in honeybees: form, function, and proximate mechanisms. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 64(3), 305–316.
<https://doi.org/10.1007/s00265-009-0874-7>
- Jørgensen, L. B., Malte, H., & Overgaard, J. (2019). How to assess *Drosophila* heat tolerance: Unifying static and dynamic tolerance assays to predict heat distribution limits. *Functional Ecology*, 33(4), 629–642. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.13279>
- Kazenel, M. R., Wright, K. W., Griswold, T., Whitney, K. D., & Rudgers, J. A. (2024). Heat and desiccation tolerances predict bee abundance under climate change. *Nature*, 628(8007), 342–348. <https://doi.org/10.1038/s41586-024-07241-2>

- Kovac, H., Käfer, H., Stabentheiner, A., & Costa, C. (2014). Metabolism and upper thermal limits of *Apis mellifera carnica* and *A. m. ligustica*. *Apidologie*, 45(6), 664–677. <https://doi.org/10.1007/s13592-014-0284-3>
- Le Conte, Y., & Navajas, & M. (2008). Changements climatiques : impact sur les populations d'abeilles et leurs maladies. In *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz* (Vol. 27, Issue 2).
- Lutterschmidt, W. I., & Hutchison, V. H. (1997). The critical thermal maximum: data to support the onset of spasms as the definitive end point. *Canadian Journal of Zoology*, 75(10), 1553–1560. <https://doi.org/10.1139/z97-782>
- MacMillan, H. A., & Sinclair, B. J. (2011). Mechanisms underlying insect chill-coma. *Journal of Insect Physiology*, 57(1), 12–20. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2010.10.004>
- Malhi, Y., Franklin, J., Seddon, N., Solan, M., Turner, M. G., Field, C. B., & Knowlton, N. (2020). Climate change and ecosystems: threats, opportunities and solutions. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 375(1794), 20190104. <https://doi.org/10.1098/rstb.2019.0104>
- Martén-Rodríguez, S., Cristobal-Pérez, E. J., de Santiago-Hernández, M. H., Huerta-Ramos, G., Clemente-Martínez, L., Krupnick, G., Taylor, O., Lopezaraiza-Mikel, M., Balvino-Olvera, F. J., Senties-Aguilar, E. M., Díaz-Infante, S., Aguirre Jaimes, A., Novais, S., Cortés-Flores, J., Lobo-Segura, J., Fuchs, E. J., Delgado-Carrillo, O., Ruiz-Mercado, I., Sáyago-Lorenzana, R., ... Quesada, M. (2025). Untangling the Complexity of Climate Change Effects on Plant Reproductive Traits and Pollinators: A Systematic Global Synthesis. *Global Change Biology*, 31(2). <https://doi.org/10.1111/gcb.70081>
- Martinet, B., Dellicour, S., Ghisbain, G., Przybyla, K., Zambra, E., Lecocq, T., Boustani, M., Baghirov, R., Michez, D., & Rasmont, P. (2021). Global effects of extreme temperatures on wild bumblebees. *Conservation Biology*, 35(5), 1507–1518. <https://doi.org/10.1111/cobi.13685>
- Martinet, B., Lecocq, T., Smet, J., & Rasmont, P. (2015). A Protocol to Assess Insect Resistance to Heat Waves, Applied to Bumblebees (*Bombus* Latreille, 1802). *PLOS ONE*, 10(3), e0118591. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0118591>
- Martins, G., Melo, L., & Lima, O. (2023). TOLERÂNCIA TÉRMICA EM SCAPTOTRIGONA AFF. DEPILIS EM EXPOSIÇÃO AGUDA À TEMPERATURAS ELEVADAS.

- McAfee, A., Metz, B. N., Connor, P., Du, K., Allen, C. W., Frausto, L. A., Swenson, M. P., Phillips, K. S., Julien, M., Rempel, Z., Currie, R. W., Baer, B., Tarpy, D. R., & Foster, L. J. (2025). Factors affecting heat resilience of drone honey bees (*Apis mellifera*) and their sperm. *PLOS ONE*, 20(2), e0317672. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0317672>
- Medina, R. G., Paxton, R. J., De Luna, E., Fleites-Ayil, F. A., Medina Medina, L. A., & Quezada-Euán, J. J. G. (2018). Developmental stability, age at onset of foraging and longevity of Africanized honey bees (*Apis mellifera* L.) under heat stress (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Thermal Biology*, 74, 214–225. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2018.04.003>
- Meixner, M. D., Leta, M. A., Koeniger, N., & Fuchs, S. (2011). The honey bees of Ethiopia represent a new subspecies of *Apis mellifera*—*Apis mellifera simensis* n. ssp. *Apidologie*, 42(3), 425–437. <https://doi.org/10.1007/s13592-011-0007-y>
- 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. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.52.4.05>
- Meixner, M. D., Worobik, M., Wilde, J., Fuchs, S., & Koeniger, N. (2007). *Apis mellifera mellifera* in eastern Europe – morphometric variation and determination of its range limits. *Apidologie*, 38(2), 191–197. <https://doi.org/10.1051/apido:2006068>
- Mercado Livre. (n.d.). *Formão para apicultor meliponicultor inox punho madeira top*. Recuperado em 06 de maio de 2025, de https://produto.mercadolivre.com.br/MLB-2685125398-formo-para-apicultor-meliponicultor-inox-punho-madeira-top-_JM
- Moreira, L., & Farinha, N. (2011). *Guia Prático da Biologia da Abelha- Manual de Apicultura* (Vol. 1).
- Mota, A. V., Trindade, G. N., Toledo, T. S., & Cardinal, K. M. (2023). TERMORREGULAÇÃO DE ABELHAS COM ÊNFASE EM APIS MELLÍFERA. In *Zootecnia: tópicos atuais em pesquisa* (Vol. 2, pp. 227–239). Editora Científica Digital. <https://doi.org/10.37885/230211947>
- Normais Climatológicas. (n.d.).
- Owen, R. (2020). *The Australian Beekeeping Manual* (2nd ed.). <https://books.google.pt/books?hl=pt->

- BR&lr=&id=wxgFEAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=Owen,+R.+(2020).+The+Australia+beekeeping+manual.+Exisle+Publishing+Pty+Lda,+Austr%C3%A1lia.&ots=m2s5eERvnt&sig=ug3Z9Wuf3cX_A2qTJhwH6oVwWKS&redir_esc=y#v=onepage&q&f=true
- Pigliucci, M., Murren, C. J., & Schlichting, C. D. (2006). Phenotypic plasticity and evolution by genetic assimilation. *Journal of Experimental Biology*, 209(12), 2362–2367. <https://doi.org/10.1242/jeb.02070>
- Pinto, M. A., Azevedo, J. C., Costa, F., Patton, J. C., Johnston, J. S., & De La Rúa, P. (2012). *Padrões de Diversidade Neutral e Adaptativa da Abelha Ibérica*. <http://hymenopteragenome.org/>
- Poot-Báez, V., Medina-Hernández, R., Medina-Peralta, S., & Quezada-Euán, J. J. G. (2020). Intranidal temperature and body size of Africanized honey bees under heatwaves (Hymenoptera: Apidae). *Apidologie*, 51(3), 382–390. <https://doi.org/10.1007/s13592-019-00725-5>
- Portal do Agronegócio. (2021, 2 de julho). *As abelhas e o agronegócio*. Recuperado em 03 de maio de 2025, de <https://www.portaldoagronegocio.com.br/pecuaria/apicultura/artigos/as-abelhas-e-o-agronegocio>
- Rajagopalan, K., DeGrandi-Hoffman, G., Pruett, M., Jones, V. P., Corby-Harris, V., Pireaud, J., Curry, R., Hopkins, B., & Northfield, T. D. (2024). Warmer autumns and winters could reduce honey bee overwintering survival with potential risks for pollination services. *Scientific Reports*, 14(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-55327-8>
- Ramos, J. M., & Carvalho, N. C. (2007). *Estudo morfológico e biológico das fases de desenvolvimento de Apis mellifera*. http://www.faei.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/h4KxXMNL19aDCa_b_2013-4-26-15-37-3.pdf
- Revista Jardins. (2023, 24 de julho). *Plantas e abelhas: mutualidades*. Recuperado em 14 de maio de 2025, de <https://revistajardins.pt/plantas-e-abelhas-mutualidades/>
- Ribeiro, D. (2013). Banho-maria. *Revista de Ciência Elementar*, 1(1). <https://doi.org/10.24927/rce2013.071>

- Ruttner, F. (1988). Biogeography and Taxonomy of Honeybees. In *Biogeography and Taxonomy of Honeybees*. Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-72649-1>
- Sánchez-Echeverría, K., Castellanos, I., Mendoza-Cuenca, L., Zuria, I., & Sánchez-Rojas, G. (2019). Reduced thermal variability in cities and its impact on honey bee thermal tolerance. *PeerJ*, 7, e7060. <https://doi.org/10.7717/peerj.7060>
- Santos, J. B., Viana, M. C., Mariano, C. dos S. F., Menezes, R. S. T. de, Nery, D. G., & Brandão, S. N. (2022). Mudanças climáticas e o declínio das abelhas. *Terrae Didactica*, 18, e022022. <https://doi.org/10.20396/td.v18i00.8669210>
- Sheppard, W. S., & Meixner, M. D. (2003). *Apis mellifera pomonella*, a new honey bee subspecies from Central Asia. *Apidologie*, 34(4), 367–375. <https://doi.org/10.1051/apido:2003037>
- Sheppard, W. S., Soares, A. E. E., DeJong, D., & Shimanuki, H. (1991). Hybrid status of honey bee populations near the historic origin of Africanization in Brazil. *Apidologie*, 22(6), 643–652. <https://doi.org/10.1051/apido:19910607>
- Stabentheiner, A., Kovac, H., & Brodschneider, R. (2010). Honeybee colony thermoregulation - Regulatory mechanisms and contribution of individuals in dependence on age, location and thermal stress. *PLoS ONE*, 5(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008967>
- Stabentheiner, A., Kovac, H., Mandl, M., & Käfer, H. (2021). Coping with the cold and fighting the heat: thermal homeostasis of a superorganism, the honeybee colony. *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, 207(3), 337–351. <https://doi.org/10.1007/s00359-021-01464-8>
- Terblanche, J. S., & Chown, S. L. (2007). The effects of temperature, body mass and feeding on metabolic rate in the tsetse fly *Glossina morsitans centralis*. *Physiological Entomology*, 32(2), 175–180. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3032.2006.00549.x>
- van Heerwaarden, B., Sgrò, C., & Kellermann, V. M. (2024). Threshold shifts and developmental temperature impact trade-offs between tolerance and plasticity. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 291(2016). <https://doi.org/10.1098/rspb.2023.2700>

- Vasiliev, D., & Greenwood, S. (2020). Pollinator biodiversity and crop pollination in temperate ecosystems, implications for national pollinator conservation strategies: Mini review. In Gan Jay (Ed.), *Science of the Total Environment* (Vol. 744). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140880>
- West-Eberhard, M. J. (2003). *Developmental Plasticity and Evolution*. Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/oso/9780195122343.001.0001>
- Wiese, H., & Salomé, James. A. (2020). *NOVA APICULTURA* (AGROLIVROS, Vol. 10). https://books.google.pt/books?id=nxcIEAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=pt-PT&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=true
- Zapata-Hernández, G., Gajardo-Rojas, M., Calderón-Seguel, M., Muñoz, A. A., Yáñez, K. P., Requier, F., Fontúrbel, F. E., Ormeño-Arriagada, P. I., & Arrieta, H. (2024). Advances and knowledge gaps on climate change impacts on honey bees and beekeeping: A systematic review. *Global Change Biology*, 30(3). <https://doi.org/10.1111/gcb.17219>
- Zhao, H., Li, G., Guo, D., Li, H., Liu, Q., Xu, B., & Guo, X. (2021). Response mechanisms to heat stress in bees. In *Apidologie* (Vol. 52, Issue 2, pp. 388–399). Springer-Verlag Italia s.r.l. <https://doi.org/10.1007/s13592-020-00830-w>

8 ANEXOS

Comparações múltiplas (Teste de Dunn) entre grupos resistência térmica

Tabela A1: Resultados das comparações múltiplas entre grupos de Portugal.

Comparação		Z Score	P	P _{adj}
zangões_47 zangões_48	-	0.468561	0.319692	1.00E+00
zangões_47 obreiras_47	-	-0.50629	0.306326	1.00E+00
zangões_48 obreiras_47	-	-1.04558	0.147877	8.87E-01
zangões_47 obreiras_48	-	4.74662	1.03E-06	6.21E-06
zangões_48 obreiras_48	-	4.021273	2.89E-05	1.74E-04
obreiras_47 obreiras_48	-	7.073185	0	4.54E-12

Tabela A2: Resultados das comparações múltiplas entre grupos da Noruega.

Comparação	Z Score	P	P _{adj}
zangões_46 - zangões_47	-1.1011401	0.1354178356	1.000000e+00
zangões_46 - zangões_48	3.9470955	0.0000395525	5.932875e-04
zangões_47 - zangões_48	5.1224666	0.0000001508	2.261734e-06
zangões_46 - obreiras_46	1.5044918	0.0662273858	9.934108e-01
zangões_47 - obreiras_46	2.6852482	0.0036237984	5.435698e-02
zangões_48 - obreiras_46	2.6234527	0.0043521760	6.528264e-02
zangões_46 - obreiras_47	5.4609573	0.0000000237	3.551804e-07
zangões_47 - obreiras_47	6.6663045	0.0000000000	1.967435e-10
zangões_48 - obreiras_47	1.5146356	0.0649323567	9.739853e-01
obreira_46 – obreiras_47	4.2114446	0.0000126871	1.903071e-04
zangões_46 - obreiras_48	6.4805072	0.0000000000	6.856108e-10
zangões_47 - obreira_48	7.7258646	0.0000000000	8.332248e-14
zangões_48 - obreiras_48	2.4779031	0.0066078522	9.911778e-02
obreiras_46 - obreiras_48	5.2689149	0.0000000686	1.029244e-06
obreiras_47 - obreiras_48	0.9400433	0.1735976841	1.000000e+00

Tabela A3: Resultados das comparações múltiplas entre obreiras (forrageiras) e obreiras (interna).

Comparação	Z Score	P	P _{adj}
forrageiras_47 forrageiras_48	- 3.155339	0.000802	0.0120
forrageiras_47 forrageiras_49	- 5.888472	1.9E-09	2.92E-08
forrageiras_48 forrageiras_49	- 2.742059	0.003053	0.0458
forrageiras_47 obreiras_47	- 1.561006	0.059261	0.8889
forrageiras_48 obreiras_47	- -1.55785	0.059634	0.8945
forrageiras_49 obreiras_47	- -4.26408	1E-05	0.0002
forrageiras_47 obreiras_48	- 8.46307	0	1.95E-16

forrageiras_48 obreiras_48	-	5.29893	5.82E-08	8.74E-07
forrageiras_49 obreiras_48	-	2.534192	0.005635	0.0845
obreiras_47 obreiras_48	-	6.799431	0	7.88E-11
forrageiras_47 obreiras_49	-	12.4747	0	7.69E-35
forrageiras_48 obreiras_49	-	9.310559	0	9.54E-20
forrageiras_49 obreiras_49	-	6.534409	0	4.79E-10
obreiras_47 obreiras_49	-	10.76443	0	3.80E-26
obreiras_48 obreiras_49	-	4.022882	2.87E-05	0.0004