

Medida da Banda de Frequências Audível Pelas Abelhas do Mel

David Salgueiro da Costa

Relatório Final da Dissertação de Projeto apresentado à
Escola Superior de Tecnologia e Gestão
Instituto Politécnico de Bragança

para obtenção do grau de Mestre em
Engenharia Industrial

Área de Especialização de Engenharia Eletrotécnica e de Computadores

Dezembro de 2017

Agradecimentos

Este trabalho não poderia ter sido concluído sem a forte ajuda que me foi prestada e, como tal, gostaria de agradecer a essas pessoas que tanto me ajudaram.

À minha família, por todo o carinho e dedicação, procurando sempre o melhor para a minha formação pessoal e académica, especialmente aos meus pais que estiveram sempre presentes durante todo este percurso.

Aos meus orientadores João Paulo Teixeira e Vasco Cadavez por toda a ajuda prestada.

À Soraia Falcão e Sofia Borges por se terem disponibilizado sempre com toda a ajuda e nas idas ao apiário.

Ao Jordy, por toda a ajuda que me deu durante a construção das caixas.

Aos meus amigos, principalmente ao José Pinela, por toda a força e ajuda que prestaram em todos os momentos.

A todos, que direta ou indiretamente, contribuíram neste percurso. Terão sempre o meu reconhecimento.

Muito Obrigado!

“ The most exciting phrase to hear in science, the one that heralds new discoveries, is not 'Eureka!' but 'That's funny...' ”

— Isaac Asimov

Resumo

As abelhas são insetos que, apesar de serem muito pacíficos, atacam quando se sentem ameaçadas para proteger a colmeia. Assim, surgiu a ideia de fazer um estudo sobre a audição das abelhas com o objetivo de encontrar a banda de frequência a que são mais sensíveis. Este conhecimento pode ser importante para identificar uma frequência ou um som capaz de as repelir.

Portanto, neste trabalho é apresentado uma série de experiências realizadas em laboratório onde as abelhas (*Apis mellifera*) teriam de fazer a escolha de entrar para uma caixa onde estava a ser reproduzido um som ou para outra caixa sem som. Previamente as abelhas foram condicionadas a irem para a caixa com som que continha alimento para associarem o som à presença de comida. Para isso foi construído um sistema de caixas para as manter. Todas as reações espontâneas foram observadas e registadas para ser feita uma análise de todas as experiências.

Aos dados obtidos de todas as experiências foi aplicado um tratamento estatístico onde foi utilizado um teste de Wilcoxon. Depois de analisados foi concluído que as experiências necessitavam de ter um maior número de repetições. Com as repetições feitas não foi possível perceber todas as frequências que as abelhas conseguem detetar, embora possam servir como indicadores que sim. À frequência de 200 Hz foi obtido um resultado ótimo, tendo sido constatado que é uma frequência que as abelhas detetam.

Foram também realizadas experiências usando o som de três predadores das abelhas, o zangão, a andorinha e a vespa asiática. Para o zangão os resultados não tiveram qualquer significância estatística, pelo que não foi possível retirar conclusões. Com os resultados da andorinha e da vespa asiática verificou-se que as abelhas não fogem na presença destes sons, mas que se movem na direção deste, aparentemente como forma de defesa da colmeia.

Palavras-chave: frequência; abelhas; som; predadores

Abstract

Bees are insects that, although very peaceful, attack when they feel threatened to protect the hive. So, the idea to do a study on bees hearing thresholds came up, to find out which frequency range they are most sensitive. This knowledge can be important to try and identify a frequency or a sound that repels them.

Therefore, here we present a series of laboratory experiments where the bees (*Apis mellifera*) would have to make the choice to enter a box where a sound was being played or another box without sound. The group of bees used in the experiments were previously conditioned to go to the box with sound that contained food in order for them to associate the sound to the presence of food. For this, a system of boxes was built to maintain them. All spontaneous reactions were observed and recorded for the analysis of all experiments.

After having the results from all the experiments, a statistical treatment was applied where a Wilcoxon test was used. After being analyzed, it was concluded that the experiments needed a bigger number of replications. With the repetitions that were realized, it was not possible to observe all the frequencies that bees can detect, although the results serve as an indicator that they do. At the frequency of 200 Hz an optimum result was obtained and it was verified that it is a frequency that the bees detect.

There were also conducted experiments using the sound of three bee's predators, the drone, the swallow and the asian wasp. For the drone, the results were not statistically significant, so it was not possible to draw any conclusions. With the results of the swallow and the asian wasp, it was verified that bees do not flee in the presence of these sounds, but that they go towards them.

Keywords: frequency; bees; sound; predators

Índice

Agradecimentos	v
Resumo	ix
Abstract.....	xi
Lista de tabelas	xv
Lista de figuras	xvii
Capítulo 1	3
1. Introdução, objetivos e estrutura da dissertação	3
Capítulo 2	5
2. As abelhas (<i>Apis mellifera</i>).....	7
2.1. Anatomia dos órgãos de audição das abelhas	7
2.1.1. Antena.....	7
2.1.2. Órgão de Johnston	8
2.1.3. Pelos sensoriais.....	9
2.2. Comportamento das abelhas	10
2.2.1. Aprendizagem associativa e de memória em laboratório	10
2.2.2. Condicionamento operante	11
2.2.3. Aprendizagem aversiva associativa em laboratório	11
2.3. Manter as abelhas em ambiente de laboratório.....	11
2.4. Condições em laboratório	12
2.4.1. Temperatura.....	12
2.4.2. Humidade relativa.....	13
2.4.3. Luz	14
2.4.4. Nutrição	14
2.5. Tom puro.....	18

Capítulo 3	19
3. Materiais e Métodos	21
3.1. Materiais e métodos	21
3.1.1. Contador de abelhas.....	21
3.1.2. Construção do sistema de caixas para transportar e manter as abelhas....	22
3.1.3. Dificuldades.....	24
3.1.4. Localização geográfica.....	24
3.1.5. Equipamento para reprodução dos tons puros.....	25
Capítulo 4	27
4. Procedimento Experimental	29
4.1. Experiências iniciais	31
4.2. Trabalho Experimental	36
Capítulo 5	55
5. Sons dos predadores	57
5.1. Resultados com os sons dos predadores	57
5.1.1. Zangão	58
5.1.2. Andorinha	61
5.1.3. Vespa Asiática	65
Capítulo 6	69
6. Conclusões.....	71
6.1. Propostas de trabalhos futuros	71
Referências bibliográficas	73

Lista de tabelas

Tabela 1 - Datas em que as abelhas foram recolhidas e o tempo de vida útil.	30
Tabela 2 - Descrição das experiências realizadas.....	31
Tabela 3- Resultados da experiência 1 – Distribuição das abelhas pelas caixas.....	33
Tabela 4 - Resultados da experiência 2 – caixa 1 com alimento.....	34
Tabela 5 - Resultados da experiência 3 - luz.....	35
Tabela 6 - Grupo utilizado e data de realização das experiências.....	36
Tabela 7 - Resultados obtidos para as experiências com frequência de 100 Hz.	38
Tabela 8 - Resultado do teste estatístico de Wilcoxon com o respectivo p-value para a média e máximo dos resultados.....	39
Tabela 9 - Resultados obtidos para as experiências com frequência de 150 Hz.	40
Tabela 10 - Resultado do teste estatístico de Wilcoxon com o respectivo p-value para a média e máximo dos resultados.....	42
Tabela 11 - Resultados obtidos para as experiências com frequência de 200 Hz.	43
Tabela 12 - Resultado do teste estatístico de Wilcoxon com o respectivo p-value para a média e máximo dos resultados.....	45
Tabela 13 - Resultados obtidos para as experiências com frequência de 300 Hz.	46
Tabela 14 - Resultado do teste estatístico de Wilcoxon com o respectivo p-value para a média e máximo dos resultados.....	47
Tabela 15 - Resultados obtidos para as experiências com frequência de 400 Hz.	48
Tabela 16 - Resultado do teste estatístico de Wilcoxon com o respectivo p-value para a média e máximo dos resultados.....	49
Tabela 17 - Resultados obtidos para as experiências com frequência de 500 Hz.	50
Tabela 18 - Resultado do teste estatístico de Wilcoxon com o respectivo p-value para a média e máximo dos resultados.....	51
Tabela 19 - Resultados obtidos para as experiências com frequência de 550 Hz.	52
Tabela 20 - Resultado do teste estatístico de Wilcoxon com o respectivo p-value para a média e máximo dos resultados.....	53
Tabela 21 - Resultados obtidos para as experiências com o som do Zangão.....	58
Tabela 22 - Resultado do teste estatístico de Wilcoxon com o respectivo p-value para a média e máximo dos resultados.....	60
Tabela 23 - Resultados obtidos para as experiências com o som da Andorinha.	61

Tabela 24 - Resultado do teste estatístico de Wilcoxon com o respetivo p-value para a média e máximo dos resultados.....	64
Tabela 25 - Resultados obtidos para as experiências com o som da Vespa Asiática.	65
Tabela 26 - Resultado do teste estatístico de Wilcoxon com o respetivo p-value para a média e máximo dos resultados.....	68

Lista de figuras

Figura 1 - Desenho experimental.....	4
Figura 2- A: antena de uma operária; B: junção de segmentos; C: placas e pelos sensoriais na antena.....	8
Figura 3 - Órgão de Johnston	9
Figura 4 - Pelo sensorial. c: cutícula; sc: células sensoriais; e: epiderme; bm: membrana base; nf: fibra nervosa.....	10
Figura 5 - Aglomerado de abelhas.....	12
Figura 6 - Exemplos de tons puros.	18
Figura 7 - Ligações ao Arduíno.....	21
Figura 8 - Ligações do LCD.....	22
Figura 9 - Caixa grande.	23
Figura 10 - Caixa transportadora.....	23
Figura 11 - Caixa pequena. As caixas 1 e 2 são iguais.....	24
Figura 12 - Localização do apiário.....	25
Figura 13 - Descrição de como foram realizadas as experiências.....	30
Figura 14 - Resultados da experiência 1 – Distribuição das abelhas pelas caixas	33
Figura 15 - Resultados da experiência 2 – caixa 1 com alimento	34
Figura 16 - Resultados da experiência 3 - luz	35
Figura 17 - Gráficos das experiências realizadas com frequência de 100 Hz.....	39
Figura 18 - Gráficos das experiências realizadas com frequência de 150 Hz.....	41
Figura 19 - Gráficos das experiências realizadas com frequência de 200 Hz.....	44
Figura 20 - Gráficos das experiências realizadas com frequência de 300 Hz.....	47
Figura 21 - Gráficos das experiências realizadas com frequência de 400 Hz.....	49
Figura 22 - Gráficos das experiências realizadas com frequência de 500 Hz.....	51
Figura 23 - Gráficos das experiências realizadas com frequência de 550 Hz.....	53
Figura 24 - Gráficos das experiências realizadas com o som do Zangão.....	60
Figura 25 - Gráficos das experiências realizadas com o som da Andorinha.....	63
Figura 26 - Gráficos das experiências realizadas com o som da Vespa Asiática.....	67

Capítulo 1

1. Introdução, objetivos e estrutura da dissertação

Neste projeto propusemo-nos realizar um estudo sobre a audição das abelhas, ou seja, depois de realizadas diversas experiências pretende-se encontrar qual a gama de frequências que as abelhas conseguem ouvir e realizar o traçado de um audiograma com a sensibilidade auditiva ao longo da banda de frequências audível. Pretende-se ainda encontrar uma frequência à qual a abelha seja muito sensível de tal forma que esta se afaste perante um som desta frequência, ou um som que lhe seja ameaçador com o objetivo de desenvolver um dispositivo para as repelir.

Assim, pretende-se dar resposta a um conjunto de questões, tais como:

- Quais os limiares da sua audição;
- Como ouvem;
- Como alimentá-las;
- Como as manter em laboratório.

Para dar resposta às questões acima, recorreremos à bibliografia para fazer o levantamento do estado da arte sobre a audição das abelhas, apresentado no Capítulo 2, com início na página 7, como de todos os aspetos que são necessários para manter as abelhas em laboratório, a sua alimentação e o ambiente aproximado ao que possuem dentro da colmeia (temperatura, humidade relativa e luz). Para determinar os limiares da audição será feito um conjunto de experiências, com um condicionamento clássico através do uso de um som com uma determinada frequência para ser associado à presença de comida.

Em estudos conduzidos por Towne & Kirchner (1989) foi concluído que o limiar superior de audição das abelhas é de 500 Hz, embora não seja especificado qual o limite inferior. Neste estudo, as abelhas foram treinadas para associar um som a um choque elétrico fraco para aprenderem a evitar esse choque deixando a fonte de alimentação quando detetassem esse som.

Foi também realizado outro estudo, sob um paradigma diferente, em que as abelhas, individualmente, foram treinadas para ir para a direita ou para a esquerda, num labirinto em Y com tubos de *tygon* que foram ligados a alto-falantes com adaptadores em forma de funil, onde era colocado uma pequena porção de sacarose associado a um som num dos lados (Kirchner, Dreller, & Towne, 1991). Neste estudo concluíram que as abelhas são capazes de aprender que o alimento é sempre apresentado associado a um som.

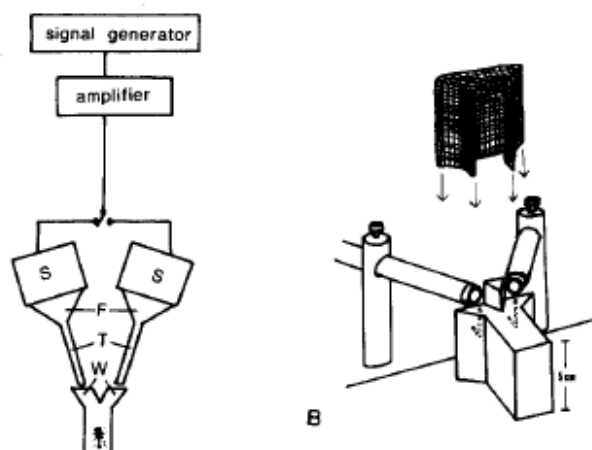


Figura 1 - Desenho experimental (Kirchner, Dreller, & Towne, 1991).

Na Figura 1 temos um gerador de sinal que emite um estímulo sonoro na abertura de um dos tubos, conectados a alto-falantes (S) com adaptadores em forma de funil (F). A sacarose foi colocada nas fontes de alimentação (W).

Esta dissertação é composta por sete capítulos. No primeiro capítulo são descritas as características anatómicas e comportamentais das abelhas relacionadas com o sistema auditivo e as condições necessárias para as manter vivas em ambiente laboratorial.

No terceiro capítulo são apresentados os materiais e métodos adotados neste estudo, referentes nomeadamente: i) à construção do aparelho usado para contar as abelhas que vão para cada caixa ii) à construção do sistema de caixas onde são mantidas as abelhas e onde são realizadas as experiências, iii) às dificuldades encontradas ao longo do processo experimental, iv) à localização geográfica do apiário onde foram recolhidas as abelhas para os ensaios realizados e v) ao equipamento usado para reproduzir as frequências.

No quarto capítulo são apresentadas e discutidas as experiências realizadas com os tons puros nas frequências de 100, 150, 200, 300, 400, 500 e 550 Hz e o tratamento estatístico dos dados obtidos.

No quinto capítulo são discutidas as experiências realizadas com o som de animais predadores de abelhas (nomeadamente do zangão, da andorinha e da vespa asiática) e o tratamento estatístico aplicado aos resultados obtidos.

As conclusões e propostas de trabalhos futuros do estudo são apresentadas no capítulo seis.

Capítulo 2

2. As abelhas (*Apis mellifera*)

As abelhas são insetos bastante sociais, isto porque vivem dentro de uma colmeia onde estão milhares de abelhas juntas. Cada uma tem o seu papel a desempenhar, existe a rainha que é a componente principal da colmeia, pois é ela que impõe a harmonia na colónia e é a única responsável pela reprodução e pode viver até aos seis anos, existem também os zangões que têm o único propósito de fecundar a rainha e vivem no máximo até aos três meses porque após a fecundação morrem e finalmente as operárias que são responsáveis por toda a manutenção da colmeia, cuidam da higiene do habitat, garantem o alimento e água para todos os que lá vivem coletando pólen e néctar, produzem cera para formar os favos, alimentam todas as abelhas da colmeia e são elas também que defendem em caso de ataque por parte de algum predador e vivem até seis meses.

2.1. Anatomia dos órgãos de audição das abelhas

É necessário um estudo sobre a anatomia dos órgãos de audição para uma melhor compreensão de como elas detetam os sons. As abelhas captam as vibrações de um som convertendo-o de vibrações mecânicas em impulsos nervosos que são transmitidos ao cérebro (Collison, 2016).

Durante milhares de anos, o homem manteve as abelhas para diversos propósitos, como a produção do mel, e como tal existe sempre o fascínio por descobrir e compreender a sua história. O desenvolvimento de nossa compreensão da anatomia das abelhas foi descrito por Crane (1999).

2.1.1. Antena

As antenas são órgãos sensoriais muito importantes nas abelhas. Isto porque ajudam na percepção sensorial tátil, olfativa, gustativa e mais importante, auditiva. A Figura 2 representa a composição de uma antena.

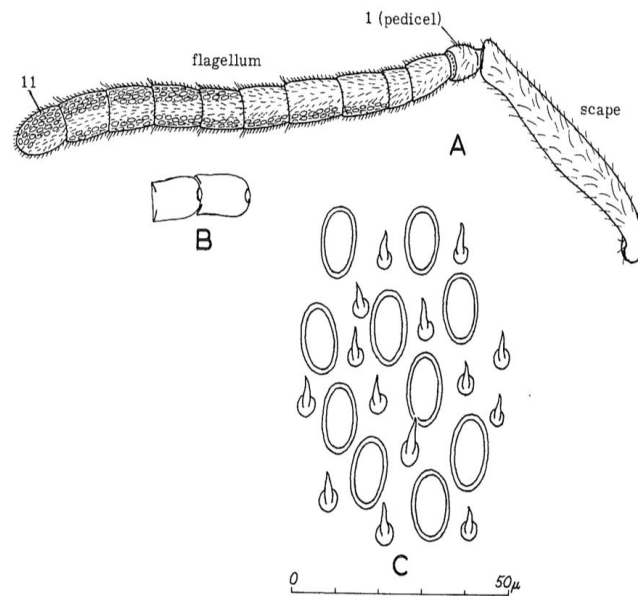


Figura 2- A: antena de uma operária; B: junção de segmentos; C: placas e pelos sensoriais na antena (Carreck *et al.*, 2013).

2.1.2. Órgão de Johnston

O órgão de Johnston (OJ) é um dos mais importantes na audição da abelha pois é este que recebe as vibrações mecânicas de um som e as converte em impulsos nervosos que são transmitidos ao cérebro. É um órgão sensorial situado na base da antena, no pedicelo. Embora presente na maioria dos insetos, difere amplamente em tamanho e função entre grupos. É composto por mais de 300 células nervosas dispostas à volta do tronco nervoso e crê-se que é indicador da velocidade de voo e também sensível a campos eletromagnéticos (Carreck *et al.*, 2013).

A Figura 3 faz a representação da localização, composição e formato do Órgão de Johnston.

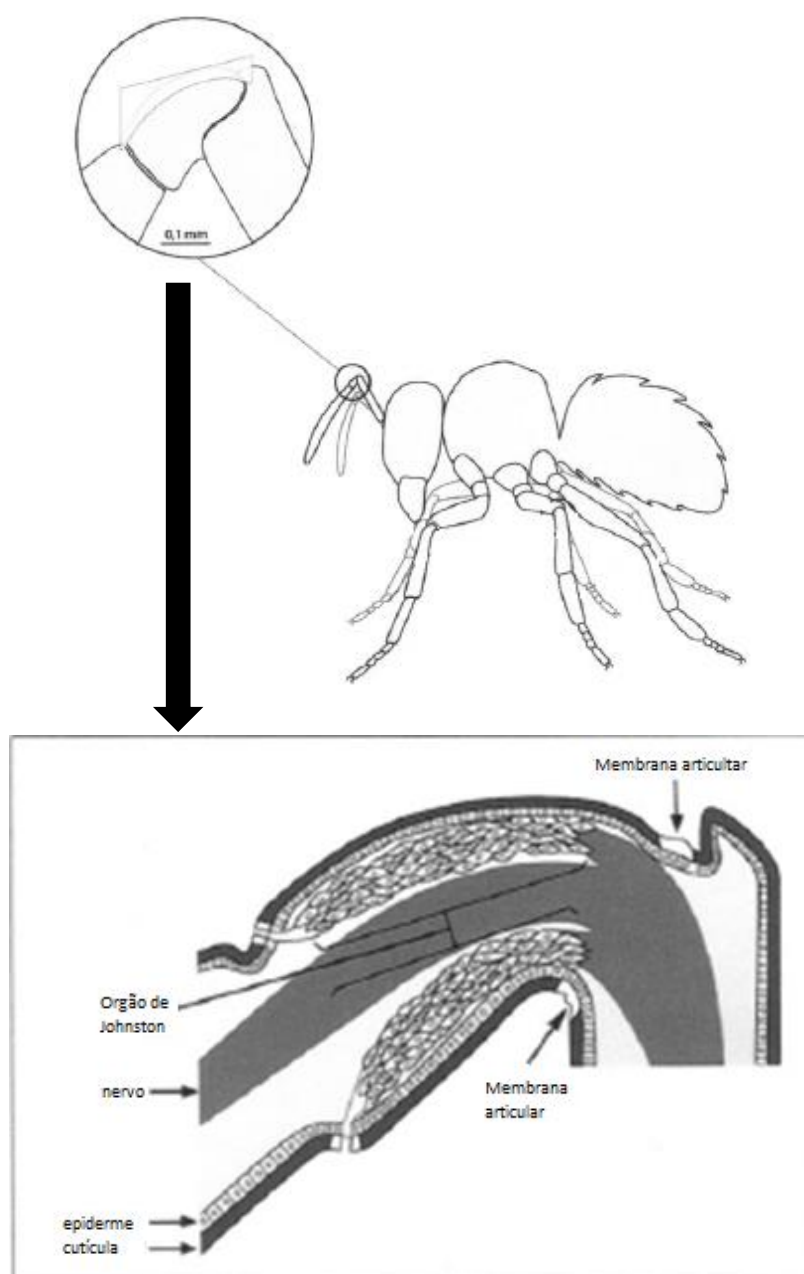


Figura 3 - Órgão de Johnston (Hunt & Richard, 2013).

2.1.3. Pelos sensoriais

Segundo Dreller & Kirchner (1993), para testar se os pelos existentes na antena auxiliam na audição das abelhas foi colocado um pequeno tubo de silicone em torno do pedicelo de uma das antenas e assim treinadas a reagir a um som com frequência de 265 Hz e depois testadas.

Os pelos sensoriais, Figura 4, estão situados nas antenas e só as abelhas adultas possuem estes pelos e são órgãos tácticos pois ajudam as abelhas na audição (Carreck *et al.*, 2013).

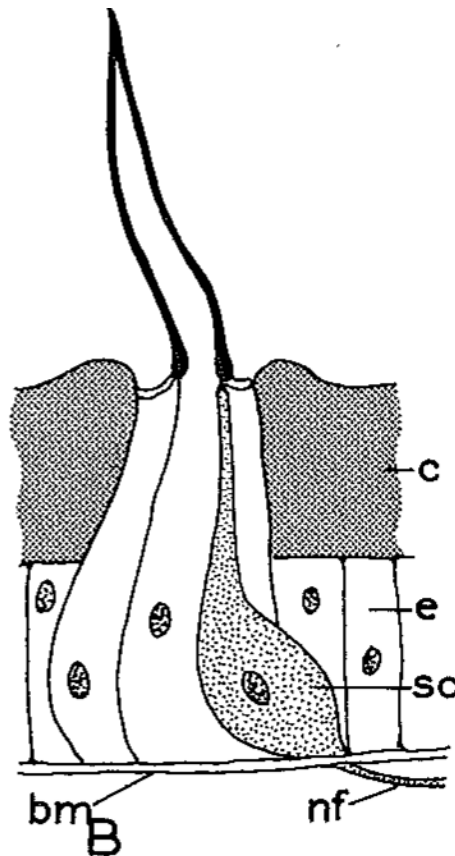


Figura 4 - Pelo sensorial. c: cutícula; sc: células sensoriais; e: epiderme; bm: membrana base; nf: fibra nervosa (Carreck *et al.*, 2013).

2.2. Comportamento das abelhas

As abelhas são um sistema modelo de mecanismos moleculares e genéticos dos comportamentos complexos, tais como a aprendizagem e memória, navegação ou comunicação. Além disso, as abelhas vivem numa colmeia onde existem milhares e cada uma tem o seu propósito sendo tudo comandado pela rainha. Logo, pode-se dizer que toda a colônia é feita de comportamentos complexos (Scheiner *et al.*, 2013).

2.2.1. Aprendizagem associativa e de memória em laboratório

A abelha é conhecida pelas suas capacidades de aprendizagem associativa tanto em campo como em condições controladas de um laboratório. Elas conseguem aprender e lembrar-se de odores, formas e sons. Podem ser treinadas em paradigmas clássicos e condicionadas. No condicionamento clássico, as abelhas aprendem a associar um estímulo com um estímulo biologicamente relevante, enquanto que no condicionamento

operante, a abelha avalia o seu próprio comportamento e as consequências (Randolf Menzel, 2012).

2.2.1.1. Condicionamento clássico

A maioria dos estudos sobre aprendizagem e memória emprega o condicionamento olfativo para a obtenção de uma certa resposta (Takeda, 1961), embora no presente estudo seja usado o condicionamento auditivo, onde se utiliza um som com uma determinada frequência para ser associado à presença de uma fonte de alimentação.

2.2.2. Condicionamento operante

Recentemente foi demonstrado que as abelhas respondem a sons aéreos sob um condicionamento aversivo, essas abelhas aprenderam a associar um som a um choque elétrico fraco para assim deixarem a fonte de alimentação (Towne & Kirchner, 1989).

Nos ensaios conduzidos por Kirchner, Dreller & Towne (1991), as abelhas foram treinadas para voar para um labirinto em Y colocado a 5 metros de distância da colmeia. Usando pequenas quantidades de sacarose, foram treinadas para percorrer o labirinto até pequenas fontes de alimentação. Depois de treinadas, foram presenteadas com uma recompensa de sacarose num dos lados onde existia um som.

2.2.3. Aprendizagem aversiva associativa em laboratório

Ao contrário de estudos usando estímulo de sacarose, estudos com estímulos aversivos têm sido mais negligenciados na investigação de abelhas (Srinivasan, 2010), apesar de existirem muitas razões para estudar este tipo de estímulo na sua investigação, pois sob condições de campo, as abelhas enfrentam diversos problemas relacionados com a fuga a estímulos aversivos tal como predadores, pesticidas e repelentes (Abramson et al., 2006).

2.3. Manter as abelhas em ambiente de laboratório

Para manter as abelhas em ambiente de laboratório é necessário ter em conta algumas variáveis, desde a temperatura até à alimentação. Se as condições não forem as adequadas, os resultados podem ser profundamente afetados. Este subcapítulo foca-se em todas essas condições.

Nos últimos anos, tem havido uma perda de colónias de abelhas em várias regiões do mundo devido, em grande parte, à introdução de parasitas e doenças, toxinas ambientais, restrições genéticas e problemas na gestão pelos apicultores (Neumann & Carreck, 2010). Os efeitos desses fatores podem ser estudados diretamente sob condições da colmeia ou então, como é o caso, em condições controladas de laboratório.

As abelhas podem, também, ser enjauladas individualmente para ser estudado a aprendizagem e a memória usando técnicas como reflexo de extensão de probóscide (Frost, Shutler, & Hillier, 2011).

2.4. Condições em laboratório

Para manter as abelhas em laboratório, é necessário ter em atenção todos os aspetos que façam com que o ambiente seja o máximo possível parecido com o ambiente em que estão na colmeia, tal como, a alimentação, a temperatura e a humidade relativa.

2.4.1. Temperatura

Requisitos de temperatura do laboratório

Apesar de existirem mudanças consideráveis na temperatura do laboratório, as abelhas normalmente conseguem manter o seu ninho com uma temperatura entre os 32 e 36 °C, ajustando o seu metabolismo e utilizando uma série de métodos comportamentais para garantir o seu melhor desenvolvimento (Stabentheiner, Kovac, & Brodschneider, 2010). No entanto, a temperatura das bordas externas dos aglomerados de abelhas (Figura 5) podem cair para tão baixo quanto 10 °C no inverno. Na maioria dos estudos em laboratório, as abelhas são mantidas entre 25 e 34 °C (Webster, 1994).



Figura 5 - Aglomerado de abelhas.

Recomendações de temperatura para manter abelhas adultas em laboratório

Apesar dos quadros de criação deverem ser mantidos constantemente a 34,5 °C para um melhor desenvolvimento das crias (Karl Crailsheim *et al.*, 2013), é recomendado manter as abelhas adultas a 30 °C. Geralmente, estas recomendações são também apropriadas na realização de experiências. No entanto, pode ser necessário fazer ajustes adicionais na temperatura. Um exemplo disso foi num estudo feito por Medrzycki & Tosi (2012) para investigar a toxicidade oral aguda de produto químico nas abelhas em condições de laboratório em que sugeriram que esses ensaios fossem realizados nas temperaturas de 25 e 35 °C para explicar a ampla gama de temperaturas às quais as abelhas estão expostas.

2.4.2. Humidade relativa

Requisitos da humidade relativa em laboratório

Tal como a temperatura, a humidade dentro da colmeia também pode ser influenciada pelas abelhas, embora em menor grau do que a temperatura. A humidade relativa, igual à temperatura, varia entre as diferentes áreas de uma colmeia (Human, Nicolson, & Dietemann, 2006), mas também oscila devido a eventos de respiração que trocam o ar obsoleto com ótica humidade com o ar à humidade ambiente (Southwick & Moritz, 1987). A humidade relativa dentro da colmeia está geralmente entre 50 e 80% (Human *et al.*, 2006) e quando é dada uma escolha entre um intervalo de humidades relativas (isto é, 24, 40, 55, 75 e 90%), as abelhas apresentam preferência por 75% (Ellis, Nicolson, Crewe, & Dietemann, 2008).

Regular a humidade relativo para manter abelhas operárias adultas em laboratório

A humidade relativa desejada pode ser obtida facilmente colocando um recipiente com água aberto debaixo da caixa onde são mantidas as abelhas.

Recomendações de humidade para manter abelhas operárias adultas em laboratório

Considerando as condições naturais das colmeias e a preferência das abelhas operárias é recomendado que sejam mantidas a uma humidade relativa de 60-70% (Williams *et al.*, 2013).

2.4.3. Luz

As abelhas passam a maior parte do tempo de vida em condições de luminosidade baixa dentro da colmeia e, no final das suas vidas, o fotoperiodismo desempenha um papel crucial no ritmo de forrageamento das operárias (Moore, 2001). Uma exceção é a *Apis mellífera adansonii* que têm os ninhos em aberto. Apesar da fototaxis (movimento em direção ou afastamento da luz) variar com a idade da abelha, intensidade da luz e comprimento de onda (Menzel & Greggers, 1985), a exposição permanente da abelha à luz pode afetar o comportamento das abelhas em conjunto.

Ao longo do procedimento experimental, foi notado que a luz afeta as abelhas. Como estão habituadas ao ambiente escuro da colmeia, a luminosidade provoca alterações no seu comportamento. Para que os resultados das experiências fossem o mais aproximado do real era necessário, as abelhas, serem condicionadas sob um ambiente próximo ao da colmeia, com pouca luminosidade.

2.4.4. Nutrição

A dieta pode afetar as abelhas de várias formas, como a longevidade (Schmidt, Thoenes, & Levin, 1987) e fisiologia (Alaux, Ducloz, Crauser, & Le Conte, 2010). Sob condições naturais, as abelhas recebem hidratos de carbono e proteínas necessárias consumindo néctar e pólen armazenados na colmeia. Os hidratos de carbono são a fonte de energia para as operárias e as proteínas são cruciais para o crescimento de tecido (Hersch, Crewe, Hepburn, Thompson, & Savage, 1978; Pernal & Currie, 2000). As vitaminas, minerais e lípidos são também obtidos no pólen.

A abelha operária adulta requer 4 mg de açúcares e consome em média 5 mg de pólen por dia (Barker & Lehner, 1974; Pernal & Currie, 2000). Curiosamente, em condições de laboratório as operárias autorregulam a ingestão para aproximadamente 10% de proteínas e 90% de hidratos de carbono (Altaye, Pirk, Crewe, & Nicolson, 2010).

Hidratos de carbono

Tipos de hidratos de carbono para fornecer a abelhas adultas em laboratório

As abelhas são capazes de sobreviver a períodos prolongados com apenas hidratos de carbono, embora o tempo letal médio (LT₅₀)¹ possa variar significativamente (isto é, LT₅₀

¹ Tempo letal médio após a exposição de um organismo a uma substância tóxica ou condição de stresse.

= 56,3, 37,7 e 31,3 dias para sacarose, xarope de milho com alto teor em frutose e mel, respectivamente) (Barker & Lehner, 1978). Além disso, dados sugerem que o tipo de hidrato de carbono pode influenciar a desintoxicação em abelhas (Johnson *et al.*, 2012), salientando ainda mais a importância de escolher cuidadosamente a fonte de hidratos de carbono para alimentar as operárias.

Fornecimento de mel a abelhas operárias adultas em laboratório

O mel é a fonte natural de hidratos de carbono das abelhas e pode ser facilmente coletado de uma colmeia. No entanto, é difícil padronizar dada a composição variada devido à diversidade floral. Além disso, pode conter resíduos químicos (Chauzat *et al.*, 2009) e microflora (Gilliam, 1979). O mel pode ser coletado de quadros (de mel) e fornecido puro, diluído 1:1 (volume/volume) com água ou como uma pasta consistindo de 70% de sacarose em pó e 30% de puro mel (Cédric Alaux, Dantec, Parrinello, & Le Conte, 2011).

Fornecimento de uma solução de sacarose a abelhas operárias adultas em laboratório

As soluções de sacarose podem sustentar os trabalhadores por longos períodos de tempo em laboratório (Barker & Lehner, 1978) e são usados muito frequentemente. Estas soluções podem ser feitas facilmente ao dissolver açúcar em água. A sacarose deve ser açúcar branco refinado destinado a consumo humano.

Fornecimento de pasta de sacarose a abelhas operárias adultas em laboratório

Embora seja menos usado em experiências comparado à solução de sacarose, a pasta de sacarose é frequentemente fornecida a rainhas e abelhas que cuidam da rainha que são mantidas em laboratório. Para fazer esta pasta, basta simplesmente juntar sacarose em pó com água.

Recomendações para fornecimento de hidratos de carbono a abelhas operárias adultas em laboratório

O uso de uma solução de sacarose produzida pelas próprias abelhas reduz as hipóteses de contaminação e dependendo do tipo de açúcar utilizado, pode sustentá-las por várias semanas. Portanto, uma ótima opção para providenciar hidratos de carbono às abelhas

mantidas em laboratório passa pelo fornecimento de uma solução de 50% sacarose-água (peso/volume) (Barker & Lehner, 1978).

Proteínas

Tipos de proteínas para fornecer a abelhas operárias adultas em laboratório

Tal como nos hidratos de carbono, a fonte e tipo de proteína podem influenciar o desenvolvimento, longevidade e imunidade da abelha (Haydak, 1970). As proteínas podem ser fornecidas as abelhas operárias em laboratório de várias formas, embora o valor nutritivo variará. Por exemplo, os indivíduos sobreviveram mais e apresentaram maiores níveis proteicos (Cremonz, Jong, & Bitondi, 1998) quando alimentados com pólen coletado do que quando alimentados por pólen curbicular.

Fornecer pão de abelha a operárias adultas em laboratório

O pão de abelha, uma mistura de pólen fermentado, néctar regurgitado, mel e secreções glandulares (Herbert & Shimanuki, 1978), é natural e uma fonte de proteína mais nutritiva para abelhas operárias jovens. No entanto, pode conter agentes patogénicos (Gilliam, 1979) e resíduos químicos (Genersch *et al.*, 2010) e colhê-lo é difícil e leva um tempo considerável, uma pequena micro-espátula de metal com uma lâmina côncava de 3-4 mm de largura pode ser usado para coletar pão de abelha multifloral. Alternativamente, uma área inteira de células contendo pão de abelha pode ser removida do quadro cortando secções transversais de todas as células perto das suas bases. O pão de abelha pode ser fornecido às operárias como uma pasta homogénea de 50% misturada com pasta de sacarose (peso/peso), por exemplo (Cremonz *et al.*, 1998).

Fornecer pólen curbicular a abelhas operárias adultas em laboratório

Os grânulos de pólen curbicular são unidades de pólen coletado pelas operárias que podem ser colhidos antes de serem armazenados numa colónia. Este pólen é uma forma simples de dar proteínas às operárias e podem ser coletadas nas colmeias com armadilhas de pólen, como as que estão ligadas à entrada da colmeia. Semelhante ao mel e ao pão de abelha, no entanto, o pólen curbicular pode conter resíduos químicos (Higes, Martín-Hernández, Garrido-Bailón, García-Palencia, & Meana, 2008) e normalmente fornece menos proteínas do que o pão de abelha, possivelmente por causa da sua digestibilidade

ou degradação reduzida durante o armazenamento (Herbert & Shimanuki, 1978; Dietz & Stevenson, 1980).

Fornecer substitutos de pólen às abelhas operárias adultas em laboratório

Os substitutos de pólen são dietas artificiais que não contêm pólen, mas contêm proteínas de soja, fermento de cerveja, leite ou algas (Brodschneider, Crailsheim, Robert, & Karl, 2010). Muito parecido com a solução de sacarose como fonte artificial de hidratos de carbono, esses substitutos não devem conter patogênicos relacionados com abelhas e poucos resíduos químicos.

Recomendações para fornecer proteínas a abelhas operárias adultas em laboratório

Em condições naturais, as operárias adultas saciam a maioria das suas necessidades de proteína consumindo pão de abelha (Crailsheim *et al.*, 1992). Esta proteína é vital para o adequado crescimento da glândula e desenvolvimento de tecido, como as glândulas hipofaríngeas, de cera e de músculos de voo e ao consumi-lo pode prolongar a longevidade das abelhas operárias. Embora as operárias possam sobreviver, em laboratório, por um tempo prolongado apenas com hidratos de carbono, é recomendado fornecer proteínas a abelhas operárias enjauladas com idade indefinida. A proteína não é necessária quando são colhidas abelhas operárias voadoras porque provavelmente são maiores do que 10 dias de idade e, portanto, atingiram o nível de proteína necessitado.

Lípidos, minerais e vitaminas

A importância dos lípidos, minerais e vitaminas para a criação de crias numa colmeia é bem conhecida, enquanto que, em abelhas adultas não (Brodschneider *et al.*, 2010; Haydak, 1970). Julga-se que as reservas sejam armazenadas no corpo durante o seu desenvolvimento para ser usado enquanto adultas (Haydak, 1970). As abelhas geralmente recebem estes nutrientes ao consumirem pão de abelha (Brodschneider *et al.*, 2010), embora muitos substitutos de proteínas também possam conter lípidos, minerais e vitaminas.

Água

A água é necessária para o metabolismo e geralmente é obtida na ingestão de soluções de açúcar. Na natureza, a água também pode ser uma importante fonte de minerais (Brodschneider *et al.*, 2010), que pode ser altamente variável dependendo da fonte.

A água é essencial para manter as abelhas em laboratório. Soluções de hidratos de carbono contendo >50% (peso/volume) são suficientes para a hidratação, se for menor, então deve ser fornecida água em separado.

2.5. Tom puro

Um tom puro é um som periódico, formado por uma única frequência e representado por uma curva sinusoidal. No entanto, o tom puro não existe na natureza, isto porque qualquer emissor vibra quando emite um som e essa vibração acaba por produzir sons secundários oriundos do próprio material que o compõe. A Figura 6 mostra vários exemplos de formas de onda de tons puros, com frequências crescentes de cima para baixo.

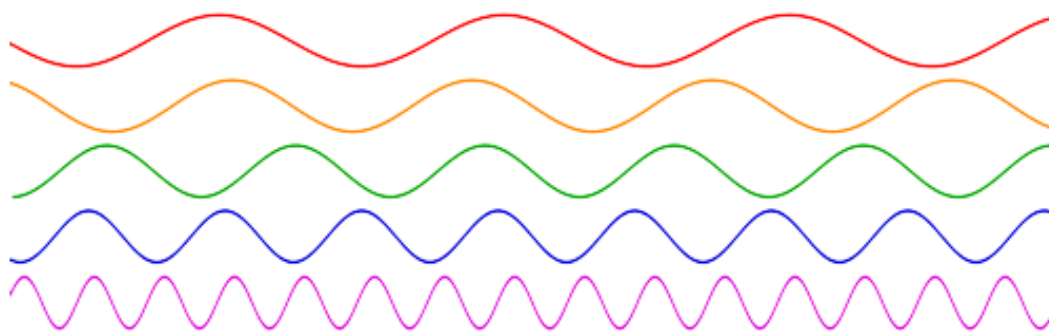


Figura 6 - Exemplos de tons puros.

Capítulo 3

3. Materiais e Métodos

3.1. Materiais e métodos

Primeiro, foi necessário construir as caixas onde iriam decorrer as experiências e depois de montadas, foram realizadas experiências para perceber o comportamento das abelhas e encontrar a forma mais correta de manter as abelhas para que tivessem um tempo de vida extenso.

Numa segunda etapa, foram realizadas todas as experiências, primeiro com tons puros a várias frequências e depois com o som de três predadores das abelhas.

3.1.1. Contador de abelhas

Para que o processo de contagem das abelhas que entravam em cada caixa fosse simplificado, foi construído um contador utilizando um Arduino UNO e um LDR. O contador foi colocado à entrada da caixa 1 e 2 no tubo de plástico. Como o tubo de plástico era mais largo que o LDR (light dependent resistor), o aparelho não contava as abelhas com precisão, pelo que não foi utilizado, tendo a contagem sido feita manualmente.

A Figura 7 mostra as ligações que foram feitas ao Arduino e a Figura 8 a ligações do LCD.

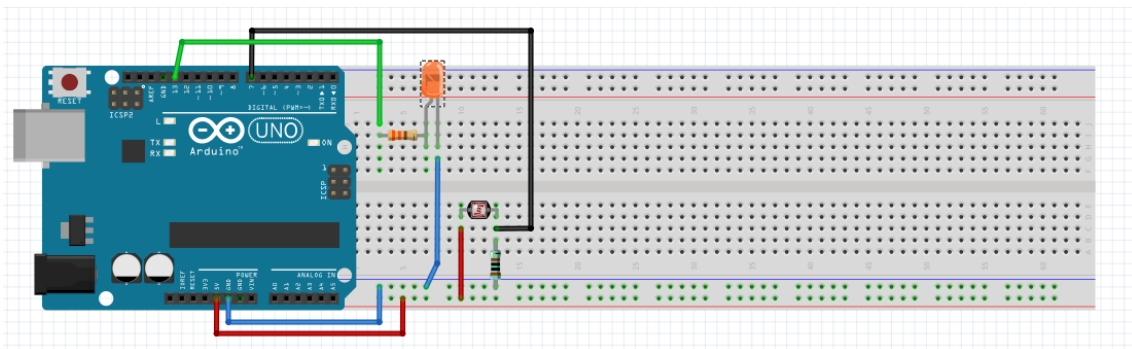


Figura 7 - Ligações ao Arduino.

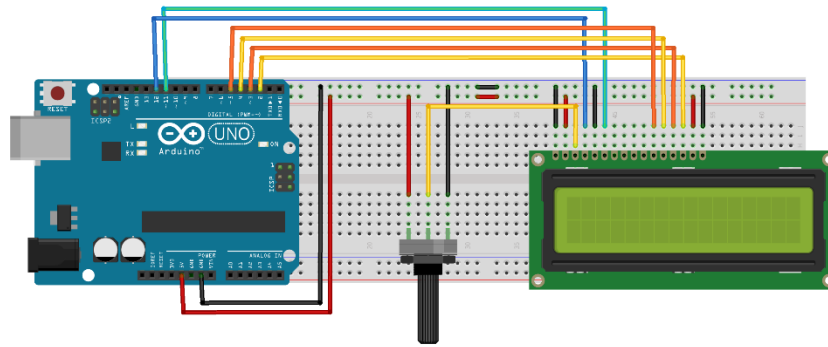


Figura 8 - Ligações do LCD.

3.1.2. Construção do sistema de caixas para transportar e manter as abelhas

Para manter as abelhas em laboratório, foram construídas 3 caixas e mais uma para as transportar do apiário para a sala e depois coloca-las dentro da caixa grande. A caixa grande, juntamente com as duas caixas pequenas, constituíam um sistema em Y onde foram realizadas as experiências. Na construção do sistema das quatro caixas foram utilizados os seguintes materiais:

- Duas placas de PVC branco com 1 m² cada
- Calha em L
- Calha em Y
- Rede mosquiteira
- Folhas de acetato
- Fita-cola
- Cola

Caixa grande:

Para a construção da caixa grande foram utilizadas quatro placas de PVC branco de 0,5 m por 0,5 m, duas para a parte de cima e a parte de baixo e as outras duas para dois dos lados onde estão ligados dois tubos de 1 metros para fazer ligação com as caixas mais pequenas. Um lado foi revestido com rede mosquiteira para circular ar para poderem respirar e o outro lado foi revestido com folhas de acetato para facilitar a visualização da parte de dentro. Os tubos são removíveis e nos furos das ligações dos tubos existem umas “portas” que deslizam para cima e para baixo quando é necessário fechar para tirar os tubos. Existe também outra porta para quando é necessário fazer limpeza dentro que também possui uma porta do mesmo género (Figura 9).



Figura 9 - Caixa grande.

Caixa transportadora:

Para construir a caixa que foi utilizada para ir buscar as abelhas ao apiário foram usadas quatro placas de PVC de 20 cm por 20 cm, a parte de cima foi revestida com folhas de acetato para ser possível a visualização do número de abelhas existentes dentro e foi feita uma porta que se move para cima e para baixo com uma entrada de cinco centímetros, (Figura 10).



Figura 10 - Caixa transportadora.

Caixas pequenas:

As duas caixas pequenas são constituídas por cinco placas de PVC de 15 cm por 15 cm cada uma e a parte de cima como na caixa transportadora foi revestida por acetato para o mesmo propósito. O tubo faz ligação da caixa grande para as pequenas sendo a entrada

nestas caixas achatada (inicialmente com o propósito de introduzir um dispositivo que as contasse com base num LDR, mas ao fazer as experiências concluiu-se que por causa do tubo ser feito de folhas de acetato e por estes serem grossos, as abelhas ao passar pelo dispositivo não eram contabilizadas). Na placa de trás foi cortado um quadrado onde se tapou com rede para colocar a coluna com o som produzido (Figura 11).

As caixas foram construídas deste modo para que as abelhas, durante as experiências, tivessem duas opções, uma saída com som e a outra sem som.

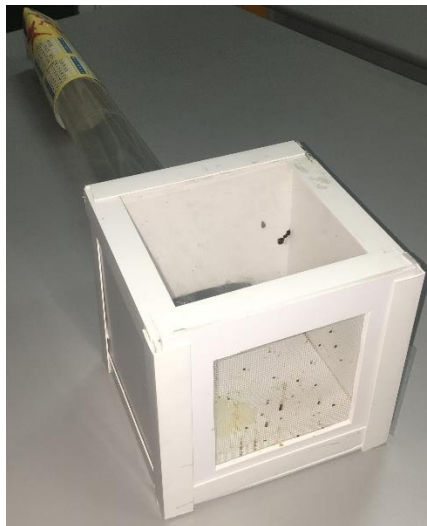


Figura 11 - Caixa pequena. As caixas 1 e 2 são iguais.

3.1.3. Dificuldades

Inicialmente, surgiram várias dificuldades para manter as abelhas vivas em laboratório por um período extenso de tempo (2 a 3 semanas), pelo facto de ser complicado manter a temperatura da sala a uma temperatura constante de 35 °C e humidade relativa de 70%. Conforme foram feitas as experiências, o processo de as manter também foi evoluindo. Através de um termómetro, a temperatura foi sempre controlada com a ajuda de um aquecedor. Para manter a humidade relativa a cerca de 70%, foi colocado um recipiente com água sob a caixa onde estavam as abelhas.

3.1.4. Localização geográfica

Todas as abelhas utilizadas nas experiências foram recolhidas num apiário pertencente ao Instituto Politécnico de Bragança nas datas descritas na Tabela 1 situado na freguesia de Nogueira como mostra na Figura 12 assinalado com um X.



Figura 12 - Localização do apiário.

3.1.5. Equipamento para reprodução dos tons puros

Para gerar as diferentes frequências foi utilizado um gerador de sinais e para os reproduzir uma coluna de som. Foi ligado o gerador, configurado com a frequência que era pretendida, à coluna e esta foi colocada numa das caixas pequenas conforme a experiência que era realizada.

Capítulo 4

4. Procedimento Experimental

Nesta secção são descritas todas as experiências efetuadas e posteriormente o resultado de cada uma.

As abelhas foram condicionadas ao som, colocando alimento numa das caixas pequenas juntamente com um som a uma determinada frequência Figura 13. Este condicionamento foi feito para as duas caixas durante um dia para cada uma.

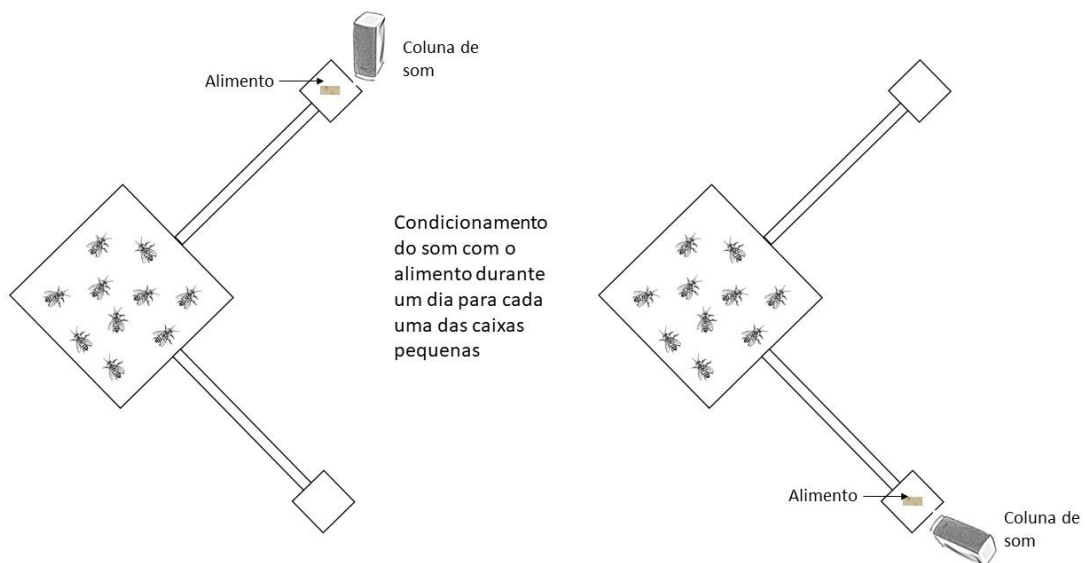


Figura 13 - Condicionamento das abelhas

Todas as experiências foram feitas depois de as abelhas estarem entre 50 a 60 minutos sem comida para que as abelhas fossem à procura da fonte de alimentação quando reproduzido o som a uma qualquer frequência, determinando assim os limites superior e inferior da sua audição e os acessos aos tubos foram abertos simultaneamente.

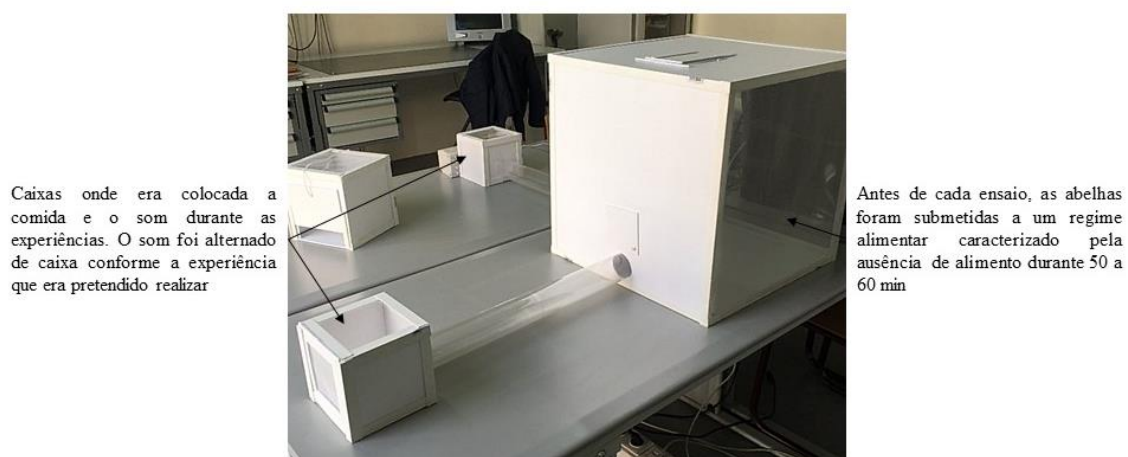


Figura 14 - Descrição de como foram realizadas as experiências.

As experiências foram realizadas com grupos de abelhas diferentes, pois o tempo de vida delas dentro das caixas é mais reduzido do que se estivessem no seu habitat natural pelo que foi registado o dia em que chegaram ao laboratório e as experiências realizadas com um determinado grupo.

Na Tabela 1 é possível ver o grupo de abelhas, a data de recolha, a data de fim de vida e ainda o tempo de vida útil de cada um dos grupos.

Tabela 1 - Datas em que as abelhas foram recolhidas e o tempo de vida útil.

Grupo	Data de recolha	Fim de vida	Tempo de vida útil
1	20/04/2017	21/04/2017	1 dia
2	24/04/2017	03/05/2017	9 dias
3	04/05/2017	14/05/2017	10 dias
4	16/05/2017	30/05/2017	14 dias
5	31/05/2017	13/06/2017	13 dias
6	14/06/2017	19/06/2017	5 dias
7	21/06/2017	08/07/2017	17 dias

8	10/07/2017	02/08/2017	23 dias
9	23/08/2017	14/09/2017	22 dias

4.1. Experiências iniciais

As primeiras três experiências realizadas neste projeto tinham o propósito de perceber alguns dos comportamentos que as abelhas têm quando submetidas a condições diferentes. A primeira, teve o objetivo de compreender como as abelhas se distribuíam pelas caixas 1 e 2 tendo apenas uma porção de sacarose na caixa 3 e as condições de temperatura e de iluminação iguais e pela experiência foi concluído que elas à medida do tempo foram se distribuindo de forma semelhante pelas duas. A segunda foi realizada com a sacarose apenas numa das caixas para perceber se as abelhas comunicam entre si, a localização da fonte de alimentação como fazem se estivessem em condições de campo. E finalmente a terceira foi realizada para ver a sensibilidade da abelha à luz, sendo que foi colocada comida nas caixas 1 e 2 embora um deles fosse tapado para ficar completamente escuro e a outra destapada e pelos resultados obtidos é perceptível que elas preferem um lugar onde exista iluminação, tendo que assim ser bem controlada em ambas as caixas em todas as experiências realizadas. Em todas as experiências as abelhas foram previamente condicionadas à presença de um som (tons puros nas várias frequências utilizadas).

No decorrer de uma das experiências foi colocada uma placa de PVC com duas porções de sacarose, uma já utilizada em experiências anteriores e outra “nova” e notou-se que as abelhas primeiro preencheram o espaço todo da sacarose já utilizada e apenas se começaram a alimentar da outra depois de já não existir espaço na primeira. Todas estas experiências são descritas na Tabela 2.

Tabela 2 - Descrição das experiências realizadas

Experiência	Nº de Repetições	Para que?	Frequência
1	2	Verificar a distribuição das abelhas pelas caixas	-
2	2	Testar a comunicação entre as abelhas	-
3	2	Determinar a sensibilidade das abelhas à luz	-
4	4	Verificar se detetam um tom puro	100 Hz
5	4	Verificar se detetam um tom puro	150 Hz
6	6	Verificar se detetam um tom puro	200 Hz

7	2	Verificar se detetam um tom puro	300 Hz
8	2	Verificar se detetam um tom puro	400 Hz
9	2	Verificar se detetam um tom puro	500 Hz
10	4	Verificar se detetam um tom puro	550 Hz

1ª Experiência: distribuição das abelhas pelas caixas

Realizada a 26/04/2017 com o grupo 2 de abelhas

Esta primeira experiência, consistiu em colocar comida apenas na caixa grande, mas com as entradas para os tubos abertas e com as caixas pequenas viradas para a janela (pois elas preferem um sítio onde exista luminosidade). O objetivo desta experiência foi ver como as abelhas se distribuem pelos dois tubos com as mesmas condições de luminosidade e temperatura nas duas caixas. Os resultados são apresentados na Tabela 3 e na Figura 15 com o número de abelhas e intervalos de tempo de contagem de 1 minuto.

Tabela 3- Resultados da experiência 1 – Distribuição das abelhas pelas caixas

Tempo em minutos	Caixa 1	Caixa 2
1	3	3
2	5	5
3	6	6
4	6	6
5	6	6
6	7	7
7	7	9
8	7	10
9	9	10
10	10	10

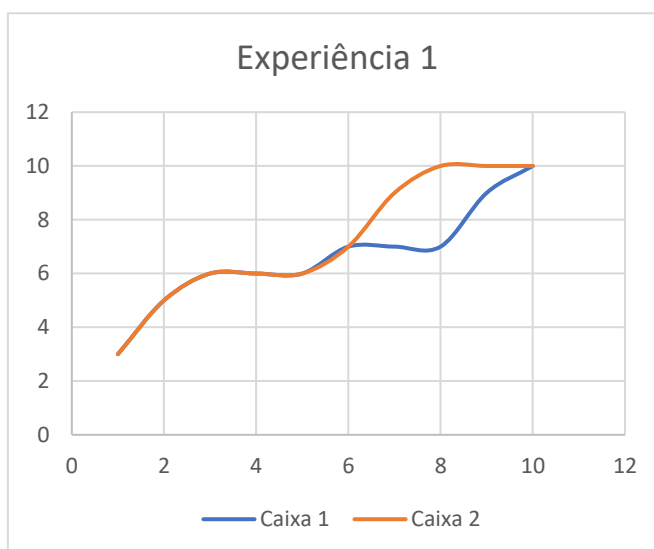


Figura 15 - Resultados da experiência 1 – Distribuição das abelhas pelas caixas

Observações da experiência 1:

Nesta experiência, com cerca de 150 abelhas, apenas as que não se estavam a alimentar na pasta de sacarose existente na caixa central é que foram para dentro dos tubos, pois em média (pela 2ª experiência) elas demoram 30 minutos até deixarem o alimento.

Pelos resultados obtidos, é possível verificar que as abelhas se distribuem igualmente pelas duas caixas nas condições impostas nesta experiência.

2ª Experiência: caixa 1 com alimento

Realizada a 26/04/2017 com o grupo 2

Na segunda experiência, foi colocada comida numa das caixas pequenas (caixa 1). Esta experiência teve o propósito de perceber se as abelhas ao descobrirem a fonte de alimentação comunicavam o local às outras como fazem quando estão numa colmeia. Os resultados são apresentados na Tabela 4 e na Figura 16.

Tabela 4 - Resultados da experiência 2 – caixa 1 com alimento

Tempo em minutos	Caixa 1 - com alimentação	Caixa 2 - sem alimentação
1	1	0
2	3	0
3	4	0
4	5	0
5	7	0
6	8	0
7	9	0
8	11	0
9	13	0
10	13	1

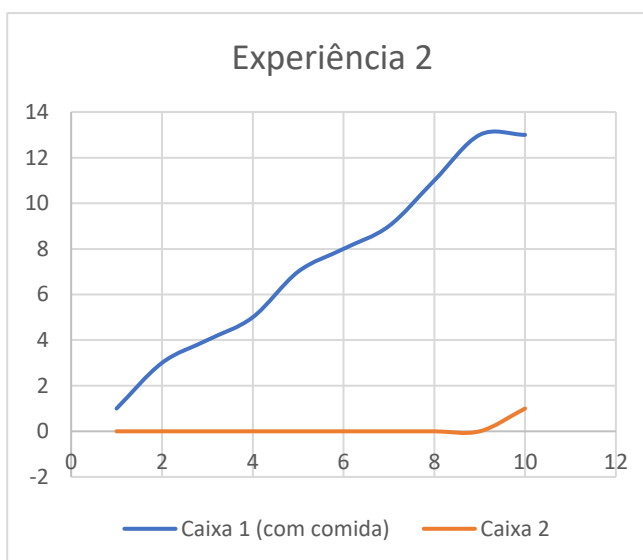


Figura 16 - Resultados da experiência 2 – caixa 1 com alimento

A caixa 1 continha dois bocados de comida, um já utilizado anteriormente e outro “novo”, foi verificado que as abelhas apenas iam comer ao que já tinha sido utilizado e apenas começaram a comer no outro depois de já não terem mais espaço no primeiro.

Observações da experiência 2:

Analisando a Tabela 4, pode-se verificar uma preferência pela caixa que continha o alimento, com o decorrer do tempo da experiência, cada vez mais abelhas entravam para essa caixa, não tendo entrado nenhuma na caixa que não tinha alimento, pelo que podemos deduzir que as abelhas comunicam entre elas, sendo assim importante que não exista alimento em nenhuma das caixas durante a realização das experiências.

3ª Experiência: luz

Realizada a 01/05/2017 com o grupo 2

Esta experiência foi realizada para determinar a sensibilidade das abelhas à luz e consistiu em ter uma caixa tapada (caixa 2) completamente no escuro e a outra destapada (caixa 1) com luz natural, ambas sem comida. Os resultados são apresentados na Tabela 5 e na Figura 17.

Tabela 5 - Resultados da experiência 3 - luz

Tempo em minutos	Caixa 1 - luz	Caixa 2 - escuro
1	23	0
2	26	0
3	33	0
4	40	0
5	43	0
6	46	0
7	47	1
8	49	0
9	50	0
10	51	0

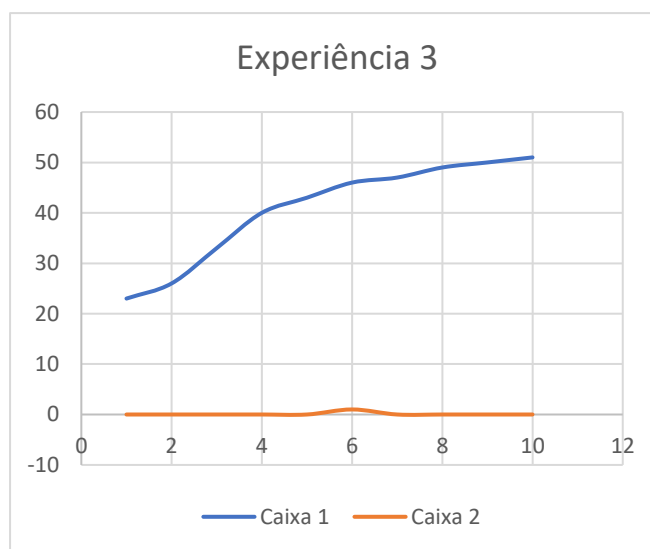


Figura 17 - Resultados da experiência 3 - luz

Ao fim do primeiro minuto, o tubo 1 já continha 23 abelhas e o número foi sempre aumentando até minuto 4 que já contava com 40 abelhas.

Apenas passados 7 minutos entrou a primeira abelha no tubo 2 embora tivesse saído ~30 segundos depois.

Assim, pela experiência realizada pode ser concluído que as abelhas vão sempre para o local com mais iluminação pelo que é necessário ter um cuidado acrescido para que as condições de luminosidade das caixas 1 e 2 sejam sempre iguais.

Observações da experiência 3:

Como pode ser verificado pelos resultados da Tabela 5, as abelhas são muito sensíveis à luz, preferindo sempre a caixa com mais luminosidade, isso pode dever-se ao facto de procurarem algum espaço aberto por onde sair, por isso, durante as experiências é necessário ter em consideração que a luminosidade nas caixas seja igual.

4.2. Trabalho Experimental

Nesta secção serão descritas todas as experiências realizadas com os tons puros de 100 até 550 Hz para encontrar os limites das bandas de frequências audíveis pelas abelhas.

Todas as experiências foram ordenadas por ordem de frequência crescente, embora não tenha sido esta a ordem de realização. Algumas das experiências foram feitas com repetições, por vezes, em datas e com grupos diferentes.

Em todas estas experiências as abelhas foram previamente condicionadas com o som na caixa que continha alimento, contudo, durante as experiências não foi colocada sacarose em nenhuma das caixas.

Na Tabela 6 são descritos os grupos utilizados e as datas de realização das experiências para cada frequência. Em cada data da tabela foram realizadas duas experiências, uma em que o som foi colocado na caixa 1 e a outra com o som na caixa 2. Nas experiências com o grupo 3 e 6 à frequência de 200 Hz apenas foi realizada uma experiência com o som na caixa 1, isto porque foram as duas primeiras experiências realizadas.

Tabela 6 - Grupo utilizado e data de realização das experiências

Frequência	Grupos	Datas de realização
100	7	27/06/2017
	7	05/07/2017
150	7	29/06/2017
	7	06/07/2017
200	3	08/05/2017
	6	10/05/2017
	4	22/05/2017
	8	17/08/2017
300	4	24/05/2017
400	5	07/06/2017
500	7	07/07/2017
550	5	12/06/2017
	6	17/06/2017

Tratamento estatístico

Os resultados obtidos em todas as experiências foram submetidos a um tratamento estatístico com o teste de Wilcoxon.

O teste de Wilcoxon é um método não-paramétrico utilizado para comparar duas amostras emparelhadas. Inicialmente são calculados os valores numéricos da diferença entre cada amostra (caixa com som e caixa sem som). Depois de calculada todas as diferenças entre os valores obtidos, foram ordenadas pelo seu valor absoluto e depois foram substituídos pelo posto que ocupam, ordenados numa escala numérica crescente. Numa etapa seguinte, foi calculado o teste estatístico W e a seguir obtido o p -value. O teste estatístico W é calculado pela seguinte equação:

$$W = \sum_{i=1}^{N_r} [\text{sgn}(x_{2,i} - x_{1,i}) * R_i] , \text{ onde}$$

- N_r – Tamanho da amostra reduzida;
- i – Pares de amostras;
- sgn – Função sinal;
- $x_{2,i}$ e $x_{1,i}$ – Valores da diferença entre cada amostra.

Este teste dá um peso maior às diferenças grandes entre cada par e quando as suposições paramétricas são “atendidas”, a eficiência do teste de Wilcoxon é de cerca de 95% tanto para pequenas como para grandes amostras.

100 Hz:

Para esta experiência foram realizadas 4 experiências, duas com o som na caixa 1 e duas com o som na caixa 2. Todos os resultados, o máximo e a média foram registados na Tabela 7.

Tabela 7 - Resultados obtidos para as experiências com frequência de 100 Hz.

Tempo	Com Som	Sem Som	Com Som	Sem Som	Com Som	Sem Som	Com Som	Sem Som
1	16	15	20	12	0	27	3	3
2	16	22	25	13	15	14	0	6
3	13	22	19	18	18	18	0	7
4	14	23	24	19	20	11	1	7
5	15	17	18	18	18	12	1	7
6	17	17	16	24	14	6	0	7
7	19	23	18	24	10	6	0	6
8	18	13	20	27	20	6	0	7
9	22	21	19	24	22	7	1	6
10	21	18	20	24	24	9	1	6
Máximo	22	23	25	27	24	27	3	7
% Máximo	49	51	48	52	47	53	30	70
Média	17,1	19,1	19,9	20,3	16,1	11,6	0,7	6,2
% Média	47	53	50	50	58	42	10	90

Os gráficos da Figura 18 correspondem às experiências da Tabela 7 e as linhas com a cor azul correspondem à caixa onde foi reproduzido o som, as linhas laranjas à caixa onde não tinha som, o eixo horizontal ao tempo em minutos e o eixo vertical ao número de abelhas.

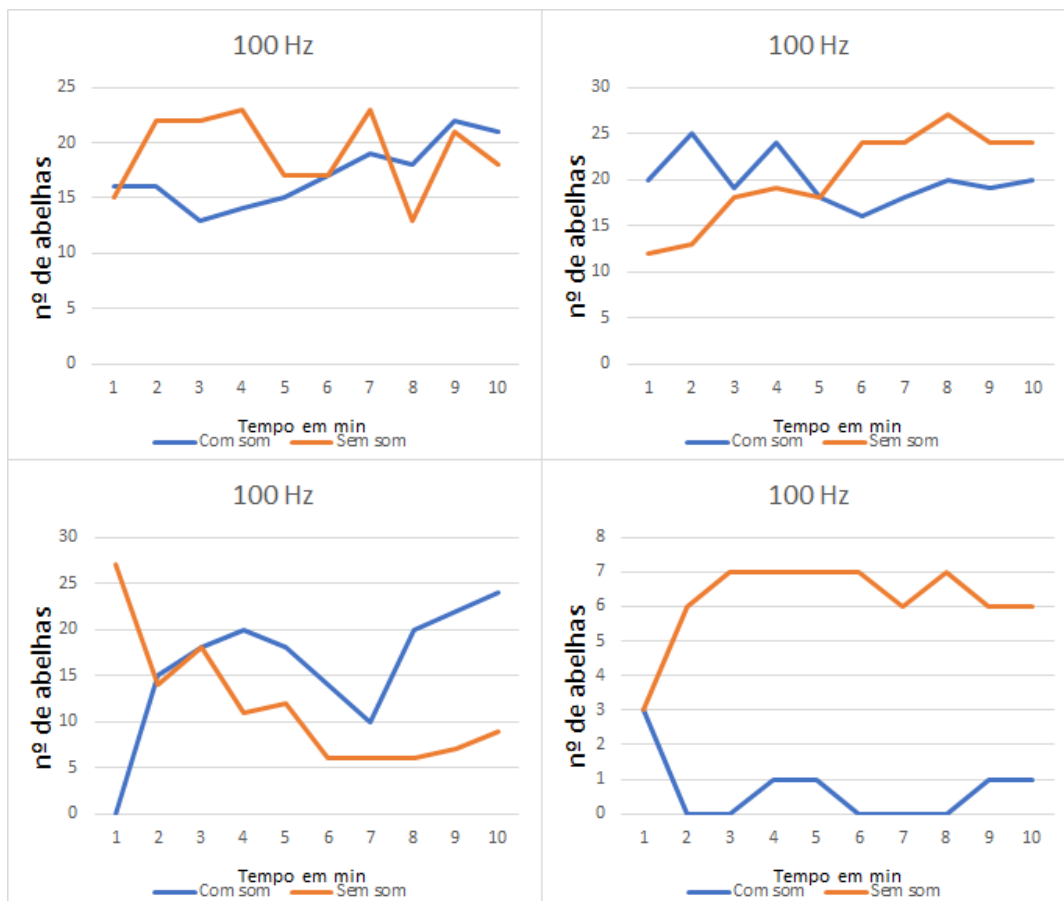


Figura 18 - Gráficos das experiências realizadas com frequência de 100 Hz.

Com um som à frequência de 100 Hz, tanto pelo *p-value* da média como do máximo (Tabela 8), conclui-se que os resultados não têm significância estatística, pois são superiores a 0,05.

Pela Tabela 7, verifica-se também que independentemente da caixa onde está o som, o número de abelhas que foram para a caixa 1 ou 2 é semelhante.

Tabela 8 - Resultado do teste estatístico de Wilcoxon com o respectivo *p-value* para a média e máximo dos resultados

Média (%)		Máximo	
Som / Sem Som		Som / Sem Som	
W	P-Value	W	P-Value
3	0,5839	0	0,1003

150 Hz:

Para a experiência com frequência a 150 Hz foram realizadas 4 experiências, duas com o som na caixa 1 e duas com o som na caixa 2. Todos os resultados, o máximo e a média foram registados na Tabela 9.

Tabela 9 - Resultados obtidos para as experiências com frequência de 150 Hz.

Tempo	Com Som	Sem Som	Com Som	Sem Som	Com Som	Sem Som	Com Som	Sem Som
1	2	0	0	1	18	6	23	20
2	4	0	1	1	20	7	24	20
3	5	0	1	1	22	6	24	22
4	5	0	1	2	22	6	24	23
5	6	0	1	2	26	5	21	22
6	5	1	0	2	23	4	22	19
7	6	1	1	2	25	6	21	22
8	5	1	1	1	26	5	19	21
9	5	1	1	3	20	5	14	22
10	5	1	2	3	22	5	16	20
Máximo	6	1	2	3	26	7	24	23
% Máximo	86	14	40	60	79	21	51	49
Média	4,8	0,5	0,9	1,8	22,4	5,5	20,8	21,1
% Média	91	9	33	67	80	20	50	50

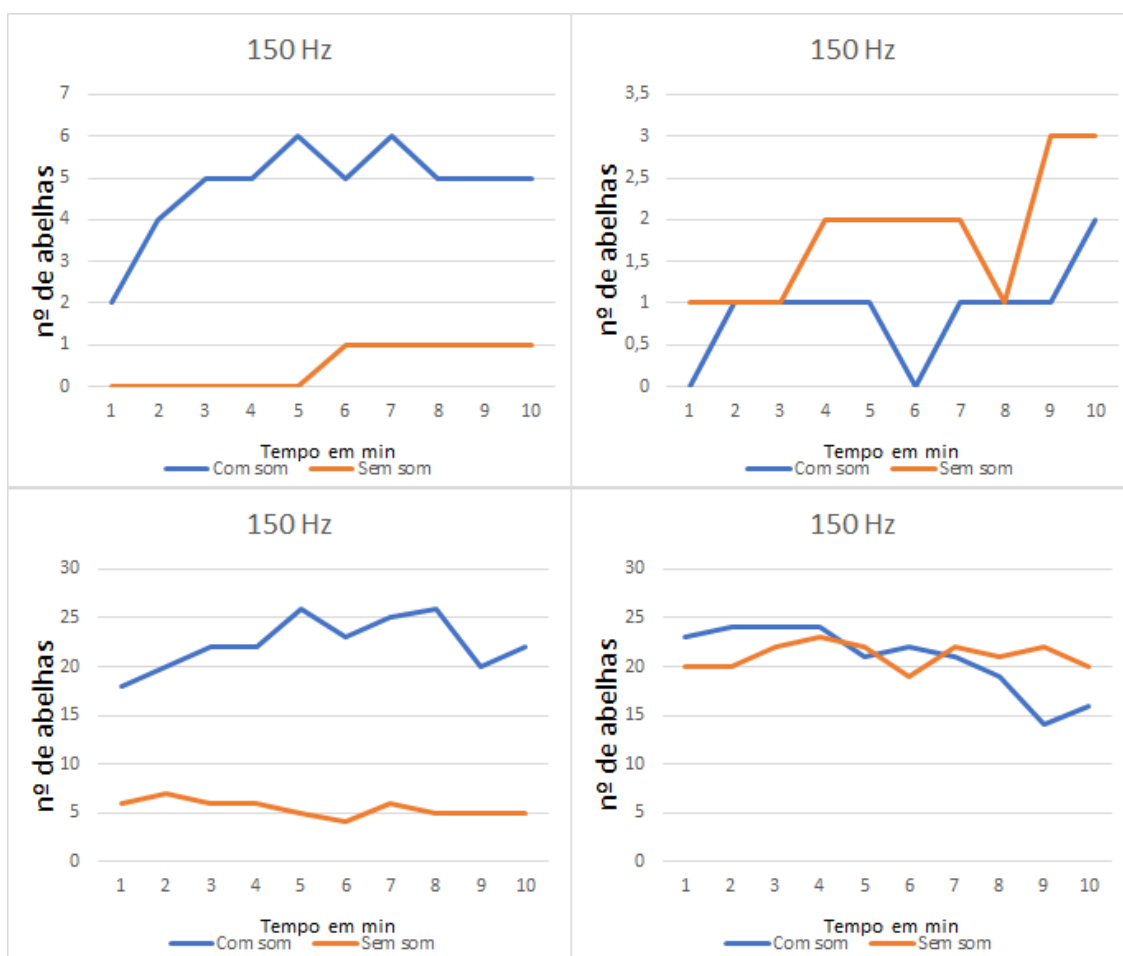


Figura 19 - Gráficos das experiências realizadas com frequência de 150 Hz

Os gráficos da Figura 19 correspondem às experiências da Tabela 9 e as linhas com a cor azul correspondem à caixa onde foi reproduzido o som, as linhas laranjas à caixa onde não tinha som, o eixo horizontal ao tempo em minutos e o eixo vertical ao número de abelhas.

Com um som à frequência de 150 Hz, tanto pelo *p-value* da média como do máximo (Tabela 10), conclui-se que os resultados não têm significância estatística, pois são superiores a 0,05.

Pela Tabela 9, verifica-se que apenas numa das experiências o máximo do número de abelhas da caixa sem som é maior, nas restantes o máximo é sempre na caixa onde está a ser reproduzido o som. Uma das razões para que os valores não têm significância estatística é a falta de repetições da experiência, contudo estes resultados podem servir como um indicador de que as abelhas conseguem detetar esta frequência.

Tabela 10 - Resultado do teste estatístico de Wilcoxon com o respetivo p-value para a média e máximo dos resultados.

Média (%)		Máximo	
Som / Sem Som		Som / Sem Som	
W	P-Value	W	P-Value
7	0,5839	8,5	0,2693

200 Hz:

Para esta experiência foram realizadas 6 experiências, quatro com o som na caixa 1 e duas com o som na caixa 2. Todos os resultados, o máximo e a média foram registados na Tabela 11.

Tabela 11 - Resultados obtidos para as experiências com frequência de 200 Hz.

Tempo	Com Som	Sem Som	Com Som	Sem Som	Com Som	Sem Som	Com Som	Sem Som	Com Som	Sem Som	Com Som	Sem Som
1	5	1	10	1	1	1	5	0	14	2	20	5
2	6	2	13	5	15	6	6	0	22	0	37	10
3	6	3	13	5	17	12	7	0	26	0	54	11
4	6	3	13	5	27	13	7	0	27	1	58	8
5	6	3	12	7	30	14	9	0	24	4	61	6
6	7	3	13	6	31	17	9	0	23	3	62	7
7	7	3	15	6	33	15	9	0	27	2	69	12
8	7	3	15	6	34	15	12	0	30	1	77	17
9	7	3	16	5	33	13	14	0	30	1	79	17
10	8	3	16	2	33	13	17	0	31	1	78	15
Máximo	8	3	16	7	34	17	17	0	31	4	79	17
% Máximo	73	27	70	30	67	33	100	0	89	11	82	18
Média	6,5	2,7	13,6	4,8	25,4	11,9	9,5	0	25,4	1,5	59,5	10,8
% Média	71	29	74	26	68	32	100	0	94	6	85	15

Os gráficos da Figura 20 correspondem às experiências da Tabela 11 e as linhas com a cor azul correspondem à caixa onde foi reproduzido o som, as linhas laranjas à caixa onde não tinha som, o eixo horizontal ao tempo em minutos e o eixo vertical ao número de abelhas.



Figura 20 - Gráficos das experiências realizadas com frequência de 200 Hz

Com um som à frequência de 200 Hz, tanto pelo *p-value* da média como do máximo (Tabela 12), conclui-se que os resultados são estatisticamente significativos, pelo que se pode afirmar que a uma frequência de 200 Hz as abelhas conseguem ouvir.

Tabela 12 - Resultado do teste estatístico de Wilcoxon com o respetivo p-value para a média e máximo dos resultados.

Média (%)		Máximo	
Som / Sem Som		Som / Sem Som	
W	P-Value	W	P-Value
21	0,03603	21	0,03552

300 Hz:

Para esta experiência foram realizadas 2 experiências, uma com o som na caixa 1 e uma com o som na caixa 2. Todos os resultados, o máximo e a média foram registados na Tabela 13.

Tabela 13 - Resultados obtidos para as experiências com frequência de 300 Hz.

Tempo	Com Som	Sem Som	Com Som	Sem Som
1	4	2	2	10
2	14	3	2	13
3	12	3	2	13
4	12	2	1	16
5	10	2	1	17
6	10	1	1	16
7	13	1	1	17
8	10	1	2	19
9	11	1	1	20
10	12	0	1	21
Máximo	14	3	2	21
% Máximo	82	18	9	91
Média	10,8	1,6	1,4	16,2
% Média	87	13	8	92

Os gráficos da Figura 21 correspondem às experiências da Tabela 13 e as linhas com a cor azul correspondem à caixa onde foi reproduzido o som, as linhas laranjas à caixa onde não tinha som, o eixo horizontal ao tempo em minutos e o eixo vertical ao número de abelhas.

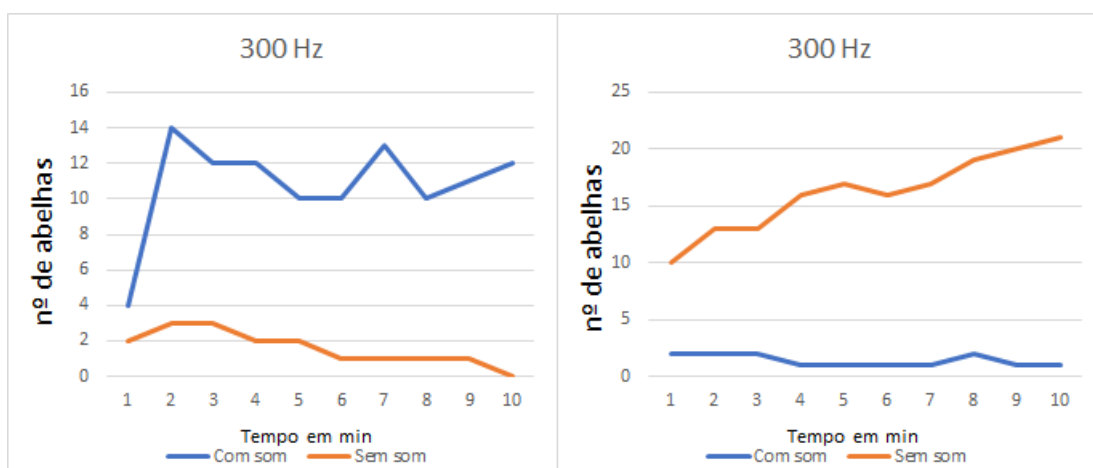


Figura 21 - Gráficos das experiências realizadas com frequência de 300 Hz.

Com um som à frequência de 300 Hz, tanto pelo *p-value* da média como do máximo (Tabela 14), conclui-se que os resultados não têm significância estatística, pois iguais a 1. Pela Tabela 13, é possível verificar que numa das experiências a caixa com um maior número de abelhas é a caixa com som e na outra a maior parte das abelhas deslocou-se para a caixa sem som, logo não é possível retirar qualquer conclusão. Para que os valores obtidos depois do tratamento estatístico fossem diferentes, era necessário a realização de mais repetições com a mesma frequência.

Tabela 14 - Resultado do teste estatístico de Wilcoxon com o respetivo *p-value* para a média e máximo dos resultados

Média (%)		Máximo	
Som / Sem Som		Som / Sem Som	
W	P-Value	W	P-Value
1	1	1	1

400 Hz:

Para esta experiência foram realizadas 2 experiências, uma com o som na caixa 1 e uma com o som na caixa 2. Todos os resultados, o máximo e a média foram registados na Tabela 15.

Tabela 15 - Resultados obtidos para as experiências com frequência de 400 Hz.

Tempo	Com Som	Sem Som	Com Som	Sem Som
1	2	0	31	1
2	2	0	38	3
3	3	0	41	2
4	3	0	41	3
5	4	0	42	6
6	4	0	42	4
7	4	0	39	5
8	4	0	37	7
9	4	0	35	9
10	4	0	32	7
Máximo	4	0	42	9
% Máximo	100	0	82	18
Média	3,4	0	37,8	4,7
% Média	100	0	89	11

Os gráficos da Figura 22 correspondem às experiências da Tabela 15 e as linhas com a cor azul correspondem à caixa onde foi reproduzido o som, as linhas laranjas à caixa onde não tinha som, o eixo horizontal ao tempo em minutos e o eixo vertical ao número de abelhas.

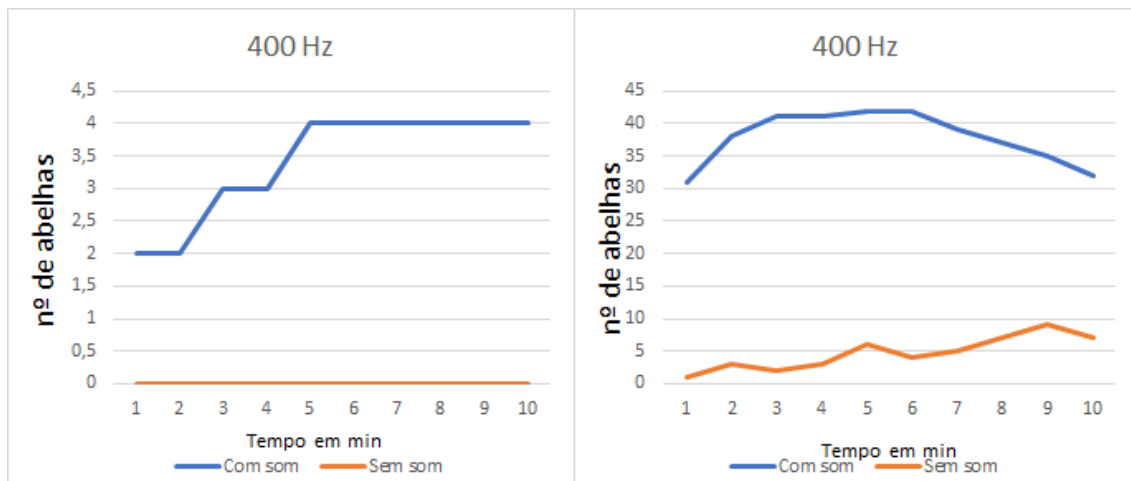


Figura 22 - Gráficos das experiências realizadas com frequência de 400 Hz.

Com um som à frequência de 400 Hz, tanto pelo *p-value* da média como do máximo (Tabela 16), conclui-se que os resultados não têm significância estatística, pois são superiores a 0.05, pela média igual a 0.5 e pelo máximo igual a 0.3711.

Pela Tabela 15, verifica-se uma maior aderência, nas duas experiências, à caixa onde foi colocado o som. Como o número de repetições das experiências é baixo, os resultados estatísticos não são significativos, embora possam servir como indicador de que as abelhas a esta frequência conseguem ouvir.

Tabela 16 - Resultado do teste estatístico de Wilcoxon com o respectivo *p-value* para a média e máximo dos resultados

Média (%)		Máximo	
Som / Sem Som		Som / Sem Som	
W	P-Value	W	P-Value
3	0,5	3	0,3711

500 Hz:

Para esta experiência foram realizadas 2 experiências, uma com o som na caixa 1 e uma com o som na caixa 2. Todos os resultados, o máximo e a média foram registados na Tabela 17.

Tabela 17 - Resultados obtidos para as experiências com frequência de 500 Hz.

Tempo	Com Som	Sem Som	Com Som	Sem Som
1	11	0	4	3
2	2	0	7	3
3	3	0	9	4
4	5	0	12	7
5	5	0	15	9
6	6	0	16	6
7	6	0	19	9
8	5	0	24	8
9	5	0	25	9
10	6	0	26	11
Máximo	11	0	26	11
% Máximo	100	0	70	30
Média	5,4	0	15,7	6,9
% Média	100	0	69	31

Os gráficos da Figura 23 correspondem às experiências da Tabela 17 e as linhas com a cor azul correspondem à caixa onde foi reproduzido o som, as linhas laranjas à caixa onde não tinha som, o eixo horizontal ao tempo em minutos e o eixo vertical ao número de abelhas.

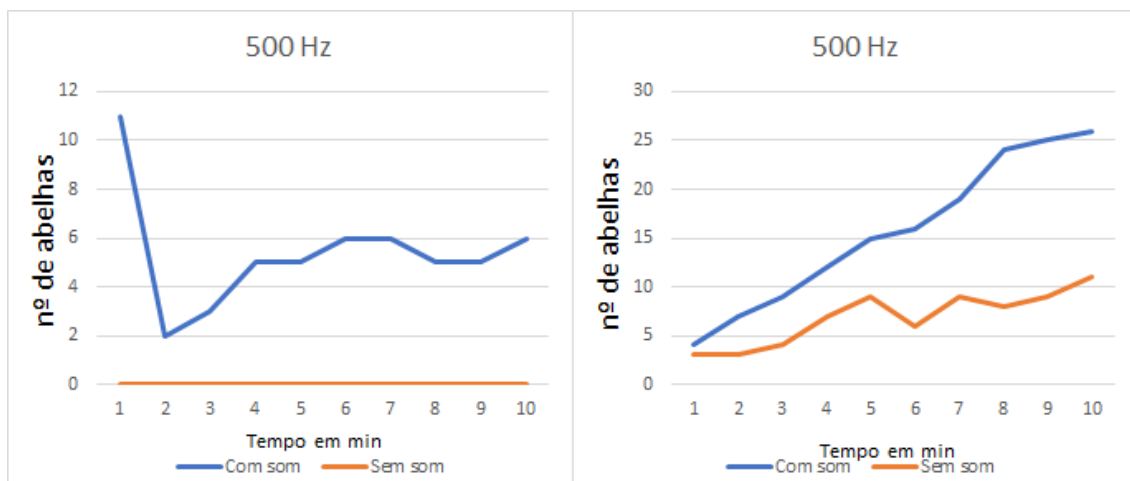


Figura 23 - Gráficos das experiências realizadas com frequência de 500 Hz.

Com um som à frequência de 500 Hz, tanto pelo *p-value* da média como do máximo (Tabela 18), conclui-se que os resultados não têm significância estatística, pois são superiores a 0.05, pela média e pelo máximo iguais a 0.3711.

Pela Tabela 17, verifica-se, tal como nas experiências a 400 Hz, que as abelhas foram, nas duas experiências, à caixa onde foi colocado o som. Mais uma vez o número de experiências é baixo, pelo que os resultados estatísticos não são significativos, todavia podem servir como indicador de que as abelhas também conseguem detetar um som a esta frequência.

Tabela 18 - Resultado do teste estatístico de Wilcoxon com o respetivo *p-value* para a média e máximo dos resultados.

Média (%)		Máximo	
Som / Sem Som		Som / Sem Som	
W	P-Value	W	P-Value
3	0,3711	3	0,3711

550 Hz:

Para esta experiência foram realizadas 4 experiências, duas com o som na caixa 1 e duas com o som na caixa 2. Todos os resultados, o máximo e a média foram registados na Tabela 19.

Tabela 19 - Resultados obtidos para as experiências com frequência de 550 Hz.

Tempo	Com Som	Sem Som	Com Som	Sem Som	Com Som	Sem Som	Com Som	Sem Som
1	4	0	0	9	9	0	8	26
2	7	0	0	19	15	9	8	37
3	46	0	0	29	16	9	10	44
4	49	0	0	28	17	15	10	62
5	58	0	0	35	25	22	10	65
6	59	0	0	43	46	18	8	53
7	61	1	0	43	57	20	8	60
8	63	1	0	42	60	17	5	64
9	69	1	0	43	52	25	11	55
10	66	0	0	43	55	28	8	56
Máximo	69	1	0	43	60	28	11	65
% Máximo	99	1	0	100	68	32	14	86
Média	48,2	0,3	0	33,4	35,2	16,3	8,6	52,2
% Média	99	1	0	100	68	32	14	86

Os gráficos da Figura 24 correspondem às experiências da Tabela 19 e as linhas com a cor azul correspondem à caixa onde foi reproduzido o som, as linhas laranjas à caixa onde não tem som, o eixo horizontal ao tempo em minutos e o eixo vertical ao número de abelhas.

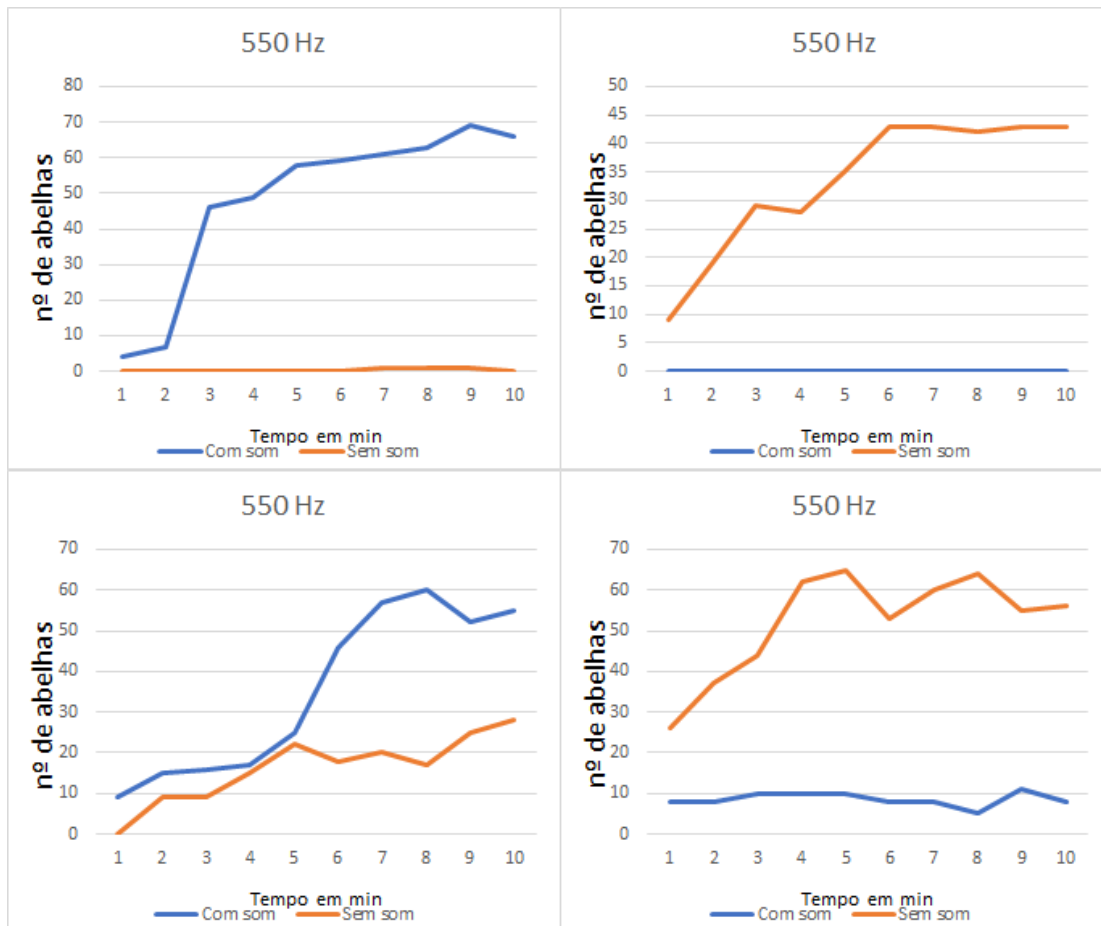


Figura 24 - Gráficos das experiências realizadas com frequência de 550 Hz.

Com um som à frequência de 550 Hz, tanto pelo *p-value* da média como do máximo (Tabela 20), conclui-se que os resultados não têm significância estatística, pois são iguais a 1.

Na Tabela 19, verifica-se, em todas as experiências, um número de abelhas muito superior na caixa 1, independentemente de ter som ou não. Posto isto, é possível concluir que as abelhas não conseguem detetar esta frequência.

Tabela 20 - Resultado do teste estatístico de Wilcoxon com o respetivo *p-value* para a média e máximo dos resultados.

Média (%)		Máximo	
Som / Sem Som		Som / Sem Som	
W	P-Value	W	P-Value
5	1	5	1

Capítulo 5

5. Sons dos predadores

5.1. Resultados com os sons dos predadores

Todas as experiências apresentadas a seguir foram realizadas com o som de três predadores com o objetivo de perceber se as abelhas, na presença de algum dos sons, são repelidas. Neste relatório, estas experiências foram ordenadas pela seguinte ordem:

- Zangão;
- Andorinha;
- Vespa Asiática.

O som foi reproduzido através de uma coluna na caixa 1 nas experiências 1 e 3 e na caixa 2 nas experiências 2 e 4 e foi registado o número de abelhas que ia para cada uma das caixas. Tal como nas experiências anteriores, os acessos aos tubos foram abertos simultaneamente, nos ensaios 1 e 2 não foi colocada comida nas caixas e no 3 e 4 tinham comida nas duas caixas, para ser possível ver se existe diferença no número de abelhas que vai para cada uma das caixas quando existe ou não comida.

5.1.1. Zangão

Para esta experiência foram realizadas 7 repetições, três com o som na caixa 1 e quatro com o som na caixa 2. Todos os resultados, o máximo e a média foram registados na Tabela 21.

Tabela 21 - Resultados obtidos para as experiências com o som do Zangão.

Tempo	Com Som	Sem Som	Com Som	Sem Som	Com Som	Sem Som	Com Som	Sem Som
1	3	1	3	2	8	1	7	2
2	7	3	5	3	6	4	10	2
3	8	2	5	3	7	5	12	3
4	10	3	6	3	8	5	13	7
5	11	3	8	3	7	4	14	8
6	11	3	8	2	8	4	14	8
7	13	3	9	4	8	4	17	9
8	13	3	9	3	8	4	20	9
9	13	3	9	3	8	4	20	9
10	13	3	10	3	8	4	23	9
Máximo	13	3	10	4	8	5	23	9
% Máximo	81	19	71	29	62	38	72	28
Média	10,2	2,7	7,2	2,9	7,6	3,9	15	6,6
% Média	79	21	71	29	66	34	69	31

Tabela 21.1 – Continuação da Tabela 21.

Tempo	Com Som	Sem Som	Com Som	Sem Som	Com Som	Sem Som
1	11	73	3	0	0	5
2	10	85	7	0	1	5
3	12	91	10	0	1	5
4	10	95	14	1	0	6
5	12	90	16	2	0	6
6	12	92	17	3	0	6
7	14	114	17	3	0	7
8	11	97	16	3	0	7
9	13	87	17	3	1	8
10	13	103	20	4	1	10
Máximo	14	114	20	4	1	10
% Máximo	11	89	154	31	9	91
Média	11,8	92,7	13,7	1,9	0,4	6,5
% Média	11	89	88	12	6	94

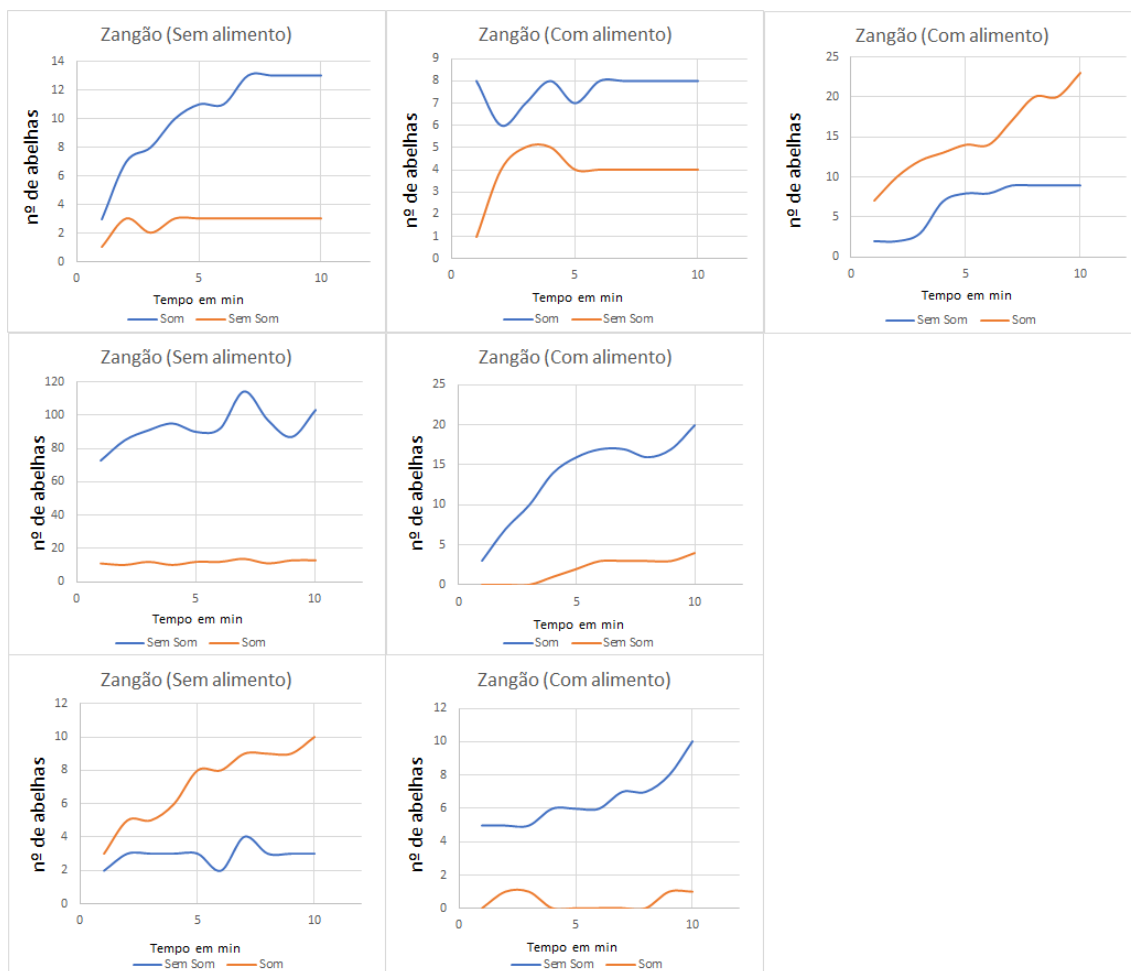


Figura 25 - Gráficos das experiências realizadas com o som do Zangão.

Os gráficos da Figura 25 correspondem às experiências da Tabela 21 e as linhas com a cor azul correspondem à caixa onde foi reproduzido o som e as linhas laranja à caixa onde não tinha som.

Com o som do zangão, tanto pelo *p-value* da média como do máximo (Tabela 22), conclui-se que os resultados não têm significância estatística, pois são superiores a 0.05.

Na Tabela 21, verifica-se que nas experiências, as abelhas tanto entravam, em maioria, na caixa com som como na caixa sem som.

Tabela 22 - Resultado do teste estatístico de Wilcoxon com o respectivo *p-value* para a média e máximo dos resultados.

Média				Máximo			
Som / Sem Som		Som / Sem Som		Som / Sem Som		Som / Sem Som	
Com alimento		Sem alimento		Com alimento		Sem alimento	
W	P-value	W	P-value	W	P-value	W	P-value
7	0,5839	5	0,4227	7	0,5839	5	0,4227

5.1.2. Andorinha

Para esta experiência foram realizadas 11 repetições, seis com o som na caixa 1 e cinco com o som na caixa 2. Todos os resultados, o máximo e a média foram registados na Tabela 23.

Tabela 23 - Resultados obtidos para as experiências com o som da Andorinha.

Tempo	Com Som	Sem Som	Com Som	Sem Som	Com Som	Sem Som	Com Som	Sem Som	Com Som	Sem Som	Com Som	Sem Som
1	21	3	10	9	2	0	1	0	3	2	0	4
2	20	2	7	9	3	1	1	3	15	2	1	6
3	24	5	8	11	3	1	0	3	22	2	1	13
4	25	8	7	10	3	1	0	3	34	2	0	32
5	21	6	4	12	3	1	0	5	46	1	0	32
6	21	10	7	11	3	1	0	6	60	1	0	40
7	24	12	6	11	4	2	0	7	64	2	0	47
8	22	9	4	9	4	2	0	6	63	1	0	50
9	25	8	6	10	4	2	0	6	78	1	0	51
10	24	8	5	11	4	2	1	6	79	1	0	57
Máximo	25	12	10	12	4	2	1	7	79	2	1	57
% Máximo	68	32	45	55	67	33	13	88	98	2	2	98
Média	22,7	7,1	6,4	10,3	3,3	1,3	0,3	4,5	46,4	1,5	0,2	33,2
% Média	76	24	38	62	72	28	6	94	97	3	1	99

Tabela 23.1 – Continuação da Tabela 23.

Tempo	Com Som	Sem Som	Com Som	Sem Som	Com Som	Sem Som	Com Som	Sem Som	Com Som	Sem Som
1	0	0	0	11	13	1	2	14	56	18
2	2	0	0	12	18	1	2	15	61	19
3	2	0	0	28	18	1	3	16	48	19
4	2	1	0	32	21	3	3	19	28	11
5	2	1	0	40	21	3	3	19	28	21
6	3	1	0	51	20	3	4	16	18	16
7	3	1	0	66	21	3	5	20	26	14
8	3	1	0	74	21	3	6	20	45	5
9	3	1	0	83	21	3	6	20	69	6
10	3	1	0	87	21	3	6	21	76	6
Máximo	3	1	0	87	21	3	6	21	76	21
% Máximo	75	25	0	100	88	13	22	78	78	22
Média	2,3	0,7	0	48,4	19,5	2,4	4	18	45,5	13,5
% Média	77	23	0	100	89	11	18	82	77	23



Figura 26 - Gráficos das experiências realizadas com o som da Andorinha.

Os gráficos da Figura 26 correspondem às experiências da Tabela 23 e as linhas com a cor azul correspondem à caixa onde foi reproduzido o som e as linhas laranja à caixa onde não tinha som.

Com o som da andorinha, verificou-se que tanto na média como no máximo, nas experiências que continham alimento, os resultados não são estatisticamente significativos (Tabela 24), enquanto que nas experiências sem alimento se verifica o contrário, logo não é possível tirar conclusões.

Tabela 24 - Resultado do teste estatístico de Wilcoxon com o respetivo p-value para a média e máximo dos resultados.

Média				Máximo			
Som / Sem Som		Som / Sem Som		Som / Sem Som		Som / Sem Som	
Com alimento		Sem alimento		Com alimento		Sem alimento	
W	P-value	W	P-value	W	P-value	W	P-value
15	0,05906	21	0,03603	15	0,05791	21	0,03603

5.1.3. Vespa Asiática

Para esta experiência foram realizadas 11 repetições, cinco com o som na caixa 1 e seis com o som na caixa 2. Todos os resultados, o máximo e a média foram registados na Tabela 25.

Tabela 25 - Resultados obtidos para as experiências com o som da vespa Asiática.

Tempo	Com Som	Sem Som	Com Som	Sem Som	Com Som	Sem Som	Com Som	Sem Som	Com Som	Sem Som	Com Som	Sem Som
1	22	1	0	3	11	7	8	13	1	0	3	2
2	27	1	2	4	9	7	8	13	1	0	4	3
3	25	1	2	4	8	11	9	31	3	0	4	3
4	25	1	2	5	7	12	8	32	4	0	4	3
5	27	3	2	4	9	13	8	35	4	0	4	3
6	20	3	3	3	9	14	10	33	5	0	4	3
7	22	2	2	2	8	14	11	33	7	0	4	3
8	21	2	2	3	7	14	8	34	8	0	4	3
9	20	2	2	3	7	13	11	35	9	0	4	4
10	15	2	0	3	8	14	12	29	9	0	4	4
Máximo	27	3	3	5	11	14	12	35	9	0	4	4
% Máximo	90	10	38	63	44	56	26	74	100	0	50	50
Média	22,4	1,8	1,7	3,4	8,3	11,9	9,3	28,8	5,1	0	3,9	3,1
% Média	93	7	33	67	41	59	24	76	100	0	56	44

Tabela 25.1 – Continuação da Tabela 25.

Tempo	Com Som	Sem Som	Com Som	Sem Som	Com Som	Sem Som	Com Som	Sem Som	Com Som	Sem Som
1	3	1	0	0	20	1	1	4	2	17
2	4	1	0	0	22	2	1	4	2	18
3	4	1	0	0	22	2	1	4	2	18
4	4	2	0	1	22	2	1	3	2	19
5	4	2	0	1	21	1	2	6	2	19
6	4	2	0	1	20	2	2	6	2	19
7	4	1	0	0	22	2	1	6	2	19
8	4	2	1	1	22	2	0	7	2	20
9	4	3	1	1	22	2	0	7	2	21
10	5	3	1	1	23	1	1	7	2	21
Máximo	5	3	1	1	23	2	2	7	2	21
% Máximo	63	38	50	50	92	8	22	78	9	91
Média	4	1,8	0,3	0,6	21,6	1,7	1	5,4	2	19,1
% Média	69	31	33	67	93	7	16	84	9	91

Os gráficos da Figura 27 correspondem às experiências da Tabela 25 e as linhas com a cor azul correspondem à caixa onde foi reproduzido o som e as linhas laranja à caixa onde não tinha som.



Figura 27 - Gráficos das experiências realizadas com o som da Vespa Asiática.

Com o som da vespa asiática, os resultados não são estatisticamente significativos (Tabela 26), isto porque, o valor do *p-value* é superior a 0,05. Pelo que não se pode concluir que as abelhas seguem este som.

Tabela 26 - Resultado do teste estatístico de Wilcoxon com o respetivo *p-value* para a média e máximo dos resultados.

Média				Máximo			
Som / Sem Som		Som / Sem Som		Som / Sem Som		Som / Sem Som	
Com alimento		Sem alimento		Com alimento		Sem alimento	
W	<i>P-value</i>	W	<i>P-value</i>	W	<i>P-value</i>	W	<i>P-value</i>
12	0,2807	20	0,05917	8	0,3613	15	0,05906

Capítulo 6

6. Conclusões

Este estudo intensivo sobre a aquisição de dados relacionados com a banda de frequência audível pelas abelhas do mel permitiu concluir que as abelhas são modelos experimentais úteis para estudar níveis de complexidade cognitivos, pois vivem dentro de uma colmeia onde se encontram milhares destes insetos, cada um deles com a sua função a desempenhar, e onde existe apenas uma abelha rainha que comanda as operações ligadas à colmeia. Contudo, o seu manuseamento exige cuidados alargados relacionados com a sua manutenção e com a segurança do investigador.

Após a análise de todos os resultados obtidos, não foi possível tirar conclusões plausíveis acerca da banda de frequências audível pelas abelhas. De facto, após um tratamento estatístico adequado, foi demonstrado que teria sido necessário um número maior de repetições das experiências para cada frequência

Apesar dos resultados obtidos neste projeto não serem conclusivos, um estudo como este é de grande importância e os resultados poderiam ter várias aplicações práticas, tal como a construção de um equipamento que reproduzisse uma frequência audível pelas abelhas e que promovesse o seu afastamento. O potencial deste dispositivo seria elevado e de interesse para a população em geral, pois serviria como alternativa sustentável aos repelentes/fumigadores.

6.1. Propostas de trabalhos futuros

Em estudos futuros será necessária a realização de mais repetições de experiências de cada uma das frequências, para ser possível a obtenção de resultados suficientes para uma correta aplicação do tratamento estatístico. Seria também interessante, a aplicação de um método de condicionamento diferente (por exemplo, o condicionamento aversivo), sendo assim possível a comparação dos resultados com os diferentes métodos e qual o mais eficiente.

Referências bibliográficas

- A. Dietz; H. R. Stevenson. (1980). Influence of long term storage on the nutritional value of frozen pollen for brood rearing of honey bees. *Apidologie*, 11(2), 143–151.
- Abramson, C. I., Abramson, C. I., Singleton, J. B., Wilson, M. K., Wanderley, P. A., Ramalho, F. S., & Michaluk, L. M. (2006). The Effect of an Organic Pesticide on Mortality and Learning in Africanized Honey Bees (*Apis mellifera* L.) in Brasil. *American Journal of Environmental Sciences*, 2(1), 33–40.
- Alaux, C., Dantec, C., Parrinello, H., & Le Conte, Y. (2011). Nutrigenomics in honey bees: digital gene expression analysis of pollen's nutritive effects on healthy and varroa-parasitized bees. *BMC Genomics*, 12(1), 496.
- Alaux, C., Ducloz, F., Crauser, D., & Le Conte, Y. (2010). Diet effects on honeybee immunocompetence. *Biology Letters*, 6(4), 562–565.
- Altaye, S. Z., Pirk, C. W. W., Crewe, R. M., & Nicolson, S. W. (2010). Convergence of carbohydrate-biased intake targets in caged worker honeybees fed different protein sources. *Journal of Experimental Biology*, 213(19), 3311–3318.
- Barker, R. J., & Lehner, Y. (1974). Acceptance and sustenance value of naturally occurring sugars fed to newly emerged adult workers of honey bees (*Apis mellifera* L.). *Journal of Experimental Zoology*, 187(2), 277–285.
- Barker, R. J., & Lehner, Y. (1978). Laboratory comparison of high fructose corn syrup, grape syrup, honey, and sucrose syrup as maintenance food for caged honey bees. *Apidologie*, 9(2), 111–116.
- Brodtschneider, R., Crailsheim, K., Robert, B., & Karl, C. (2010). Nutrition and health in honey bees * - Review article. *Apidologie*, 41(3), 278–294.
- Carreck, N. L., Andree, M., Brent, C. S., Cox-foster, D., Dade, H. A., Ellis, J. D., & Hatjina, F. (2013). Standard methods for *Apis mellifera* anatomy and dissection. *Journal of Apicultural Research*, 52(4), 1–40.
- Chauzat, M.-P., Carpentier, P., Martel, A.-C., Bougeard, S., Cougoule, N., Porta, P., ... Cox-Foster, D. L. (2009). Influence of pesticide residues on honey bee (Hymenoptera: Apidae) colony health in France. *Environmental Entomology*, 38(3), 514–23.
- Collison, C. (2016). A closer look: sound generation and Hearing. Retrieved from:

- <http://www.beeculture.com/a-closer-look-sound-generation-and-hearing/> [08/2017]
- Crailsheim, K., Brodschneider, R., Aupinel, P., Behrens, D., Genersch, E., Vollmann, J., & Riessberger-Gallé, U. (2013). Standard methods for artificial rearing of *Apis mellifera* larvae. *Journal of Apicultural Research*, 52(1), 1–16.
- Crailsheim, K., Schneider, L. H. W., Hrassnigg, N., Bühlmann, G., Brosch, U., Gmeinbauer, R., & Schöffmann, B. (1992). Pollen consumption and utilization in worker honeybees (*Apis mellifera carnica*): Dependence on individual age and function. *Journal of Insect Physiology*, 38(6), 409–419.
- Crane, E. (1999). *The World History of Beekeeping and Honey Hunting*. Taylor & Francis. pp. 682.
- Cremonz, T. M., Jong, D. De, & Bitondi, M. M. G. (1998). Quantification of Hemolymph Proteins as a Fast Method for Testing Protein Diets for Honey Bees (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Economic Entomology*, 91(6), 1284–1289.
- Dreller, C., & Kirchner, W. H. (1993). Hearing in honeybees: localization of the auditory sense organ. *Journal of Comparative Physiology A*, 173(3), 275–279.
- Ellis, M. B., Nicolson, S. W., Crewe, R. M., & Dietemann, V. (2008). Hygropreference and brood care in the honeybee (*Apis mellifera*). *Journal of Insect Physiology*, 54(12), 1516–1521.
- Frost, E. H., Shutler, D., & Hillier, N. K. (2011). Effects of cold immobilization and recovery period on honeybee learning, memory, and responsiveness to sucrose. *Journal of Insect Physiology*, 57(10), 1385–1390.
- Genersch, E., von der Ohe, W., Kaatz, H., Schroeder, A., Otten, C., Büchler, R., ... Rosenkranz, P. (2010). The German bee monitoring project: a long term study to understand periodically high winter losses of honey bee colonies. *Apidologie*, 41(3), 332–352.
- Gilliam, M. (1979). Microbiology of pollen and bee bread: the genus *Bacillus*. *Apidologie*, 10(3), 269–274.
- Giurfa, M., & Sandoz, J.-C. (2012). Invertebrate learning and memory: Fifty years of olfactory conditioning of the proboscis extension response in honeybees. *Learning & Memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, 19(2), 54–66.
- Haydak, M. (1970). Honey Bee Nutrition. *Annual Reviews of Entomology*, 15, 143–156.
- Herbert, E. W., & Shimanuki, H. (1978). Chemical composition and nutritive value of bee-collected and bee-stored pollen. *Apidologie*, 9(1), 33–40.

- Hersch, M. I., Crewe, R. M., Hepburn, H. R., Thompson, P. R., & Savage, N. (1978). Sequential development of glycolytic competence in the muscles of worker honeybees. *Comparative Biochemistry and Physiology -- Part B: Biochemistry and*, *61*(3), 427–431.
- Higes, M., Martín-Hernández, R., Garrido-Bailón, E., García-Palencia, P., & Meana, A. (2008). Detection of infective *Nosema ceranae* (Microsporidia) spores in corbicular pollen of forager honeybees. *Journal of Invertebrate Pathology*, *97*(1), 76–78.
- Human, H., Nicolson, S. W., & Dietemann, V. (2006). Do honeybees, *Apis mellifera* scutellata, regulate humidity in their nest? *Naturwissenschaften*, *93*(8), 397–401.
- Hunt, J. H., & Richard, F.-J. (2013). Intracolony vibroacoustic communication in social insects. *Insectes Sociaux*, (60), 403–417.
- Johnson, R. M., Mao, W., Pollock, H. S., Niu, G., Schuler, M. A., & Berenbaum, M. R. (2012). Ecologically appropriate xenobiotics induce cytochrome P450s in *Apis Mellifera*. *PLoS ONE*, *7*(2), 1–9.
- Kirchner, W. H., Dreller, C., & Towne, W. F. (1991). Hearing in honeybees: operant conditioning and spontaneous reactions to airborne sound. *Journal of Comparative Physiology A*, *168*(1), 85–89.
- Medrzycki, P., & Tosi, S. (2012). Nutricional status and other parameters influence results of toxicological tests on bees. *Proceeding of the COLOSS WG3 Workshop "Honey Bee Nutrition,"* 19.
- Menzel, R. (2012). The honeybee as a model for understanding the basis of cognition. *Nature Reviews Neuroscience*, *13*(11), 758–768.
- Menzel, R., & Greggers, U. (1985). Natural phototaxis and its relationship to colour vision in honeybees. *Journal of Comparative Physiology A*, *157*(3), 311–321.
- Moore, D. (2001). Honey bee circadian clocks: Behavioral control from individual workers to whole colony rhythms. *Journal of Insect Physiology*, *47*, 843–857.
- Neumann, P., & Carreck, N. L. (2010). Honey bee colony losses. *Journal of Apicultural Research*, *49*(1), 1–6.
- Pernal, S. F., & Currie, R. W. (2000). Pollen quality of fresh and 1-year-old single pollen diets for worker honey bees (*Apis mellifera* L.). *Apidologie*, *31*(3), 387–409.
- Scheiner, R., Abramson, C. I., Brodschneider, R., Crailsheim, K., Farina, W. M., Fuchs, S., ... Thenius, R. (2013). Standard methods for behavioural studies of *Apis mellifera*. *Journal of Apicultural Research*, *52*(4), 1–58.

- Schmidt, J. O., Thoenes, S. C., & Levin, M. D. (1987). Survival of honey-bees, *Apis mellifera* (Hymenoptera, Apidae), fed various pollen sources. *Annals of the Entomological Society of America*, 80(2), 176–183.
- Southwick, E. E., & Moritz, R. F. A. (1987). Social control of air ventilation in colonies of honey bees, *Apis mellifera*. *Journal of Insect Physiology*, 33(9), 623–626.
- Srinivasan, M. V. (2010). Honey bees as a model for vision, perception, and cognition. *Annual Review of Entomology*, 55, 267–284.
- 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).
- Takeda, K. (1961). Classical conditioned response in the honey bee. *Journal of Insect Physiology*, 6(3), 168–179.
- Towne, W. F., & Kirchner, W. H. (1989). Hearing in Honey Bees : Detection of Air-Particle Oscillations Author (s): William F . Towne and Wolfgang H . Kirchner Published by : American Association for the Advancement of Science Stable URL : <http://www.jstor.org/stable/1703349> REFERENCES Linked. *American Association for the Advancement of Science*, 244(4905), 686–688.
- Webster, T. C. (1994). Fumagillin affects *Nosema apis* and honey bees (Hymenoptera: Apidae) . *Journal of Economic Entomology*, 87(3), 601–604.
- Williams, G. R., Alaux, C., Costa, C., Csáki, T., Doublet, V., Eisenhardt, D., ... Brodschneider, R. (2013). Standard methods for maintaining adult *Apis mellifera* in cages under in vitro laboratory conditions. *Journal of Apicultural Research*, 52(1), 1–36.