



POLITÉCNICO DE COIMBRA
ESCOLA SUPERIOR AGRÁRIA

**Influência da tipologia de núcleos de fecundação nos
parâmetros reprodutivos de rainhas de *Apis mellifera***

Pedro Manuel de Jesus Sarmiento

Relatório de Estágio Profissionalizante para a obtenção do Grau de
Mestre em Engenharia Agropecuária

Júri:

Presidente: Doutora, Isabel Viana de Andrade, Professora Coordenadora,
ESAC-IPC

Arguente: Doutora, Teresa Maria Pinto C. A. Vasconcelos, Professora Adjunta,
ESAC-IPC

Orientador: Doutor, Fernando José dos Santos Delgado, Professor
Coordenador, ESAC-IPC

Co-orientador: Doutor, Paulo António Russo Almeida, Professor Auxiliar,
Departamento de Zootecnia - UTAD

Coimbra, 2018



POLITÉCNICO DE COIMBRA
ESCOLA SUPERIOR AGRÁRIA

**Influência da tipologia de núcleos de fecundação nos
parâmetros reprodutivos de rainhas de *Apis mellifera***

Pedro Manuel de Jesus Sarmiento

Relatório de Estágio Profissionalizante para a obtenção do Grau de
Mestre em Engenharia Agropecuária

Orientador: Doutor, Fernando José dos Santos Delgado, Professor
Coordenador, ESAC-IPC

Co-orientador: Doutor, Paulo António Russo Almeida, Professor Auxiliar,
Departamento Zootecnia, UTAD

Tutor: João Manuel Teixeira Gomes, Responsável Técnico, APICANT

Coimbra, 2018

AGRADECIMENTOS

O resultado de um trabalho de natureza acadêmica e não só, não é apenas fruto de nós próprios, mas sim de um conjunto de pessoas e de fatores que de forma direta e indireta intervêm no processo de edificação e consolidação da obra. Para todos Vós que de alguma maneira contribuíram para a elaboração deste relatório, um grande “Bem Hajam”.

Aos colaboradores da APICANT pela total disponibilidade e pelo entusiasmo demonstrado em todas as tarefas apícolas inerentes ao meu trabalho e não só. Obrigado pelos momentos de verdadeiras “tertúlias apícolas” em torno do melhoramento da abelha melífera, pelo entusiasmo em descobrir novas técnicas e essencialmente pela amizade.

Ao meu Orientador, Professor Fernando Delgado, pelas aulas recebidas, pela transmissão do gosto pelo melhoramento animal, pela boa disposição e prestabilidade, mesmo em situação de “aluno não presente”.

Ao Professor Paulo Russo Almeida por ter aceitado ser meu Co-orientador, pela elaboração do meu plano de estágio, pela disponibilidade e celeridade no tratamento dos assuntos relacionados com a sua co-orientação. A sua ajuda foi fundamental.

A todos os meus Professores de mestrado, um agradecimento especial pela transmissão do conhecimento, pela sua disponibilidade e prontidão. Do pouco tempo que passei na ESAC, levo memórias e ensinamentos de cada um de Vós.

Ao Paulo Laranjeiro, por ter sido um grande impulsionador pelo gosto da estatística e por me fazer convencer de que os números não enganam. Obrigado também pelos momentos de partilha de conhecimento que me proporcionas-te. Muito provavelmente não será por aqui que me fico e com certeza iremos realizar mais e melhores momentos de partilha em torno da inferência estatística.

Ao Senhor Licínio Jorge o meu agradecimento pela pronta disponibilização do terreno para a instalação do apiário de fecundação.

Ao meu cunhado Mário pela partilha do gosto pela apicultura e por me ter ajudado em muitos momentos durante o meu estágio.

À minha esposa Maria João e aos meus filhos João Pedro e Guilherme por todo apoio e amor, por perdoarem os meus longos períodos de ausência e mesmo quando presente

por permitirem as horas de estudo e escrita deste trabalho. Obrigado por fazerem parte de mim e por preencherem os meus dias de forma autêntica e completa.

Aos meus Pais por todo o apoio recebido ao longo de toda a minha vida pessoal e académica, pelo entusiasmo demonstrado, pela enorme amizade, pelo amor e por ajudarem a tornar muitos dos meus objetivos possíveis. Estão sempre no meu coração. Sem Vocês certamente não seria a mesma coisa.

Aos meus amigos.

RESUMO

A produção de abelhas rainha envolve dois processos que são a criação propriamente dita e a sua fecundação. A fecundação de rainhas de *Apis mellifera* pode ser realizada recorrendo à fecundação natural ou à inseminação artificial. No método de fecundação natural torna-se necessário que as novas rainhas, uma vez introduzidas em colmeias ou núcleos de fecundação sejam aceites e posteriormente fecundadas. Neste estudo pretendeu-se avaliar a influência das tipologias de núcleos de fecundação Reversível de 5 quadros, Miniplus de 6 quadros e Miniplus de 4 quadros nos parâmetros reprodutivos das rainhas. Os parâmetros estudados foram a Aceitação de Rainhas Virgens, o sucesso da Fecundação e a Compacidade de Criação Operculada. Os dados obtidos foram tratados recorrendo ao teste Qui-quadrado e análise de variâncias de fator único (ANOVA). Concluiu-se que as tipologias em estudo não exerceram influências nos parâmetros estudados ao nível de significância de 5%.

PALAVRAS-CHAVE: Núcleo, *Apis mellifera*, Rainha, Fecundação, Criação, Apiário.

ABSTRACT

The production of queen bees comprises two processes that are the creation itself and its fertilization. Fertilization of *Apis mellifera* queens can be performed using natural fertilization or artificial insemination. For the natural fertilization method to take place it is necessary that the new queens are accepted and subsequently fertilized once introduced into hives or fertilization nuclei. The purpose of this study was to evaluate the influence on the reproductive parameters of the queens when using different fertilization nuclei topologies, namely the 5-frame Reversible, Miniplus of 6 frames and Miniplus of 4 frames. The parameters studied were Virgin Queen Acceptance, Fertilization success and Operated Creation Compaction. The data obtained were treated using the Chi-square test and analysis of single-factor variances (ANOVA). It was concluded that the topologies under study did not influence the parameters studied at a significance level of 5%.

KEYWORDS: Nuclei, *Apis mellifera*, Queen Bee, Fecundation, Brood, Apiary.

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS	II
RESUMO	IV
ABSTRACT	V
Lista de Tabelas	VIII
Lista de Figuras	IX
ABREVIATURAS	X
1 – INTRODUÇÃO	11
2 – OBJETIVOS	13
3 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
3.1 – A apicultura em Portugal.....	14
3.2 – A criação de Rainhas <i>Apis mellifera</i> e melhoramento genético.....	14
3.2.1 – Princípios da criação de rainhas	18
3.2.2 – Métodos de produção de rainhas	20
3.2.3 – Métodos de introdução de rainhas	24
4 – METODOLOGIA	27
4.1 – Preparação das colónias para produção de rainhas (colónias criadeiras).....	27
4.2 – Produção de rainhas virgens	28
4.3 – Preparação das colónias dadoras de quadros para povoamento dos núcleos	30
4.4 – Instalação do apiário de fecundação	31
4.5 – Povoamento dos núcleos de fecundação	32
4.6 – Assentamento dos núcleos no apiário de fecundação	35
4.7 – Estimação dos parâmetros	35
4.8 – Análise estatística	38

5 – RESULTADOS e ANÁLISE CRÍTICA	39
5.1 – Aceitação de rainhas virgens	39
5.2 – Fecundação de rainhas	42
5.3 –Compacidade de criação operculada	46
6 – CONCLUSÃO	51
7 – BIBLIOGRAFIA	52
ANEXOS	58
Anexo I: Caracterização do local de estágio	58
Anexo II: Distribuição das ilhas no apiário de fecundação	59
Anexo III: Sequências das tipologias de núcleos de fecundação nas ilhas	59
Anexo IV: Fluxograma das operações	60
Anexo V: Lista de aceitações nas tipologias de núcleos de fecundação, por tipologia	61
Anexo VI: Lista de fecundações nas tipologias de núcleos de fecundação, por tipologia	62
Anexo VII: Tabela de frequências nas tipologias	63

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Posicionamento dos vários quadros nas tipologias.....	34
Tabela 2 – Índices de aceitação de rainhas virgens nas tipologias de núcleos de fecundação	40
Tabela 3 – Índices de fecundação nas tipologias em estudo	43
Tabela 4 – Número de núcleos de fecundação em estudo para aferir o ICCO	46
Tabela 5 – Registo dos ICCO em cada um dos lados dos quadros das tipologias em estudo	40
Tabela 6 – Valores da média \pm desvio padrão e mediana do ICCO	48
Tabela 7 – Análise de variância (ANOVA) à compacidade de criação operculada obtida nas tipologias ($\alpha= 0,05$)	49

Lista de Figuras

Figura 1 – Ilustração dos tipos de alvéolos reais	19
Figura 2 - Método de Miller.....	21
Figura 3 – Transferência das larvas para as cúpulas – Translarve.....	21
Figura 4 - Tabuleiro de Cloake.....	22
Figura 5 – Pormenor da entrada no sobreninho.....	23
Figura 6 – Pormenor da incubadora de alvéolos reais com sistema PID SYSTEM.....	24
Figura 7 – Transporte em caixa envolvida por película com os quadros porta-cúpulas invertidos.....	29
Figura 8 – Alvéolos reais com proteção na incubadora onde nasceram as futuras rainhas	29
Figura 9 – Pesagem da rainha após o nascimento.....	30
Figura 10 –Imagem aérea do terreno para instalação do apiário de fecundação.....	32
Figura 11 - Ilustração das tipologias de núcleos de fecundação utilizadas no estudo - Reversível de 5 quadros, Miniplus de 6 quadros e Miniplus de 4 quadros respetivamente	33
Figura 12 – Povoamento dos núcleos de fecundação	34
Figura 13 - O posicionamento do ovo como indicador da sua idade	37
Figura 14 - Ilustração desde a postura até ao nascimento da abelha rainha	37
Figura 15 - Medição da compacidade de criação operculada	38
Figura 16 – Índices de aceitação nas diferentes tipologias	41
Figura 17 – Número de aceitações e não aceitações nas tipologias em estudo.....	42
Figura 18 – Índices de fecundação nas tipologias em estudo	44
Figura 19 – Tempo desde a introdução até à fecundação (em dias)	44
Figura 20 – Número de rainhas fecundadas em cada intervalo de tempo (desde a introdução, em dias).....	45
Figura 21 - Quadro em estudo para aferição do ICCO	47
Figura 22 - Índices de compacidade de criação operculada observados nas tipologias em estudo	49

ABREVIATURAS

% - Percentagem

α – Nível de significância

ANOVA – Análise de variância

CCO – Compacidade de criação operculada

CV – Coeficiente de variação

cm² – Centímetros quadrados

cm³ – Centímetros cúbicos

CO₂ – Dióxido de Carbono

FAO - Food and Agricultural Organization of the United Nations

IARV – Índice de aceitação de rainhas virgens

ICCO – Índice de compacidade de criação operculada

IFec – Índice de fecundação de rainhas

IPost – Tempo médio entre a introdução e o início de postura

M4 – Tipologia de núcleo de fecundação modelo Miniplus de 4 quadros

M6 – Tipologia de núcleo de fecundação modelo Miniplus de 6 quadros

P – Valor de prova

Rever – Tipologia de núcleo de fecundação modelo Reversível de 5 quadros

s – Desvio-padrão de uma amostra

1 – INTRODUÇÃO

A existência de abelhas remonta há cerca de 42 milhões de anos. Pesquisas arqueológicas mostram que as abelhas já produziam mel e o armazenavam há cerca de 20 milhões de anos. No Egito, segundo documentos dos historiadores, a apicultura já se praticava há 2000 anos a.C.

A partir de Aristóteles sucederam-se as maiores descobertas da apicultura, no entanto, só a partir do século XVII se deram os maiores avanços, nomeadamente ao nível das técnicas de manejo.

Com o surgimento do microscópio fizeram-se importantes descobertas sobre os aspetos biológicos das abelhas desvendando-se o género da abelha rainha através da dissecação. Até então pensava-se ser um rei e não uma rainha.

Um século depois Janscha (1771) descobre que a fecundação da rainha ocorre ao ar livre e Schirach (1771) prova que a rainha e a obreira originam-se do mesmo tipo de ovo. A diferença reside na alimentação da larva que se for alimentada com apenas geleia real origina uma rainha. No caso da obreira, a larva apenas é alimentada com geleia real nos três primeiros dias e os restantes com pão de abelha. Em 1845, através de Johannes Dzierzon descobre-se a partenogénese em abelhas, cruzando rainhas italianas com zângãos cárnicos. Os zângãos são indivíduos haplóides dado que têm origem em embriões que se desenvolvem a partir de ovócitos não fecundados (Carantón, 2012). As obreiras e as rainhas têm origem em embriões provenientes de um ovócito fecundado (Carantón, 2012).

Foi no século XIX que os métodos de manejo comercial conduziram a certas descobertas importantes, particularmente as colmeias de quadros móveis ou mobilismo. Surgiram três inventos de extrema importância na sequência da descrição do espaço de abelha por Lorenzo Lorain Langstroth em 1851. Foram eles, a cera moldada para favos por Johannes Mehring na Alemanha em 1857, o extrator pelo major Kruschka na Áustria em 1865 e o fumigador por Moses Quinby em 1875 (Hooper, 1986). Todas estas descobertas levaram à criação da colmeia Langstroth, considerada padrão e até hoje é a mais usada em todo o mundo. Foi a partir dela que se deu o maior avanço na apicultura devido à facilidade no manejo que ela proporciona. Em 1889 Gilbert Doolittle concebe uma técnica que se espalhou pelo mundo, agora designada na gíria apícola por “*translarve*” (Buchler, *et al.*, 2013).

Em Portugal os primeiros (?) estudos académicos e científicos sobre apicultura surgem no ano de 1879 com João Carlos Cysneiros e em 1893 com Adelino d`Almeida Dias a apresentarem a Dissertação Inaugural ao “Conselho Escolar do Instituto d`Agronomia e Veterinária”.

Quanto à apicultura prática, o século XX tem sido mais monótono comparado com a segunda metade do século XIX, estando a maior parte dos progressos relacionados com a colheita do mel das colmeias e na preparação do produto para o mercado.

Na atualidade, é desejável que a apicultura se desenvolva através de métodos altamente técnicos e científicos. Hoje, é sobejamente reconhecida a importância da apicultura para além dos seus fatores de produção (mel, pólen, cera, própolis, geleia real, enxames) através do vital papel de polinização contribuindo desta forma para o aumento das outras produções agrícolas, bem como para a preservação da biodiversidade de forma a manter a diversidade genética das plantas e um equilíbrio ecológico de todo o ecossistema. Dados da FAO (Food and Agricultural Organization) revelam que os polinizadores são responsáveis por 35% dos cultivos agrícolas e que o uso de agentes de polinização está a crescer, principalmente nos cultivos de frutas e verduras (Carantón, 2012).

É consensual que as características (fenotípicas e genotípicas) das colónias são condicionadas pela qualidade da rainha, levando os apicultores a procurarem e/ou a produzirem rainhas para reposição de efetivos e aumentos das suas produções. Na apicultura atual, a seleção de abelhas, a escolha dos melhores reprodutores e o sucesso da fecundação é objeto de estudo constante por parte de universidades, politécnicos e associações de apicultores. O melhoramento das técnicas de manejo, dos testes de seleção de rainhas e de zângãos, a qualidade da rainha, o seu pedigree, a sua progénie, os métodos de fecundação e até qual o melhor núcleo de fecundação são curiosidades e assuntos de interesse para o apicultor dos dias de hoje. Nesse sentido surgiu o interesse pela realização deste estágio e deste trabalho, na tentativa da contribuição na construção do “edifício do conhecimento apícola”.

2 – OBJETIVOS

O objetivo deste estágio foi estudar a influência das tipologias de núcleos de fecundação nos parâmetros reprodutivos de rainhas de *Apis mellifera*. Pretendeu-se assim, aferir em cada tipologia a Aceitação de Rainhas Virgens, o Sucesso da Fecundação e a Compacidade de Criação Operculada nos quadros. As tipologias de núcleos de fecundação estudadas foram as tipologias Reversível de 5 quadros (Rever), Miniplus de 6 quadros (M6) e Miniplus de 4 quadros (M4).

3 - REVISÃO DA LITERATURA

3.1 – A apicultura em Portugal

Segundo o Plano Apícola Nacional 2017-2019, em Portugal a apicultura é tradicionalmente associada a um complemento da atividade agrícola. Contudo, começa a surgir uma minoria de apicultores em que a apicultura é a base dos seus rendimentos, existindo até alguns que se dedicam a esta prática em regime de total exclusividade. Em Portugal existem cerca de 11 mil apicultores registados, perfazendo um universo de 33 mil apiários e 626 mil colmeias. Relativamente à distribuição regional dos apicultores pelo território nacional, verifica-se que o Norte é a região onde se situam o maior número de apicultores, cerca de 34% do total. O Algarve é a região do continente com menor número de apicultores, mas onde se localizam os de maior dimensão média. A Madeira e os Açores são as regiões com menor número de apicultores, bem como de apiários e colmeias.

Uma vez que a apicultura não é a atividade principal na maioria das explorações, esta está muito pouco orientada para o planeamento estratégico e para o mercado, apresentando efetivos com baixa produtividade, ausência de mão-de-obra duradoura e especializada, carências ao nível do manejo sanitário e técnico, tais como, escasso recurso à alimentação artificial, insuficiente substituição de rainhas, falta de controlo da enxameação, pouco recurso à transumância e inadequada instalação de apiários (Programa Apícola Nacional 2017 - 2019). Dado isto, surgem em Portugal algumas entidades representativas do setor com o objetivo de uma nova dinâmica da prática apícola ao nível da produção através de assistência e apoio técnico e ao nível da comercialização através da definição de novas cadeias de escoamento dos produtos da colmeia. Paralelamente, a criação de zonas controladas veio ajudar a controlar através de vigilância e prevenção as doenças das abelhas de declaração obrigatória. Existem em Portugal 18 zonas controladas, representando cerca de 270.000 colmeias num total de 89 concelhos.

3.2 – A criação de rainhas de *Apis mellifera* e o melhoramento genético

Em produção animal, a ação da componente genética e do ambiente interferem no fenótipo dos indivíduos, resultando em alterações nas produções e/ou desempenhos. Na apicultura, para se obterem níveis de produção desejáveis (maiores e/ou melhores), o apicultor deve apostar em melhorar a componente genética das suas colónias e fornecer-lhe o ambiente mais adequado (tipologia de colmeia, localização do apiário,

humidade do solo, etc) de forma à interação abelhas/meio ser o mais profícua possível, levando assim a uma otimização desejada da produção (mel, própolis, pólen, abelhas, etc) (Carantón, 2012).

É hoje comumente aceite que trocar rainhas anualmente ou de dois em dois anos (Teixeira, 2017) é um fator importante num programa de melhoramento genético produtivo (Carantón, 2012), resultando numa monitorização mais precisa e numa mais rápida resposta à seleção. Rainhas velhas com baixos índices de postura e de baixa qualidade genética originam baixas produtividades, maiores exigências de mão-de-obra e aumento dos custos de produção e, conseqüentemente, aumento dos preços dos produtos produzidos. Por esta razão é aconselhável substituir rainhas não desejáveis por outras de melhor qualidade, provenientes de programas de melhoramento genético adequados e sanidade comprovada (Teixeira, 2017) de forma a manter colónias fortes e homogéneas com rainhas jovens e vigorosas.

A primeira criação de abelhas rainhas foi praticada na Antiga-Grécia, onde os apicultores colocavam larvas jovens em colónias órfãs a fim de obter células de emergência. Contudo, era muito reduzido o conhecimento acerca da biologia das abelhas (Buchler, *et al.*, 2013). Em 1565, Jacob Nickel descreve como as abelhas podem obter rainhas através de ovos ou larvas jovens (Buchler, *et al.*, 2013). Segundo Pellet (1938) citado por Buchler, *et al.* (2013), desde 1886 que se enviam rainhas pelo correio, havendo pouca mortalidade neste processo, resultando em grandes benefícios para os apicultores.

O verdadeiro desenvolvimento de criação de rainhas começou no século XIX, através de Gilbert Doolittle (1889). O seu método de “enxertia”, que se descreve adiante, ainda hoje serve de base à criação de rainhas atual (Padilha, Campano, & Flores, 2012).

A enxameação, processo natural de multiplicação de colónias de abelhas, é um fator cada vez mais evitado pelos apicultores devido ao risco de perda de enxames e falta de controlo genético das colónias. Na tentativa de evitar este fenómeno, os apicultores usam técnicas de desdobramento de colónias com necessidade de posterior introdução de rainhas.

Com a intensificação do setor agropecuário, e a apicultura não é exceção, procuram-se cada vez mais colónias mais produtivas e mais saudáveis e, neste contexto, a substituição de rainhas é fundamental. Kostarelou-Damiamidou, Thrasyvoulou, & Bladenopoulos (1995) referem que não encontraram diferenças significativas nas produções de mel em colónias com rainhas de idades de um a três anos e que a partir dessa idade a produção de mel baixava significativamente. Por outro lado, Simeunovic,

et al. (2014), refere que as colónias com rainhas de um ano de idade têm demonstrado ser mais eficazes em função do povoamento das colónias e da produção de mel em comparação a colónias com rainhas com mais idade.

As colónias de abelhas são constituídas por indivíduos haploides que são machos (16 cromossomas) e diploides que são fêmeas (32 cromossomas). Como foi dito anteriormente, o facto de uma abelha se desenvolver com aptidão reprodutiva depende apenas do tipo de alimentação que recebe durante o seu desenvolvimento, com larvas alimentados unicamente com geleia real a darem origem a princesas, futuras rainhas aquando do processo de fecundação.

As relações de parentesco dentro da própria colónia diferem da maioria dos animais domésticos tais como hábitos de acasalamento, estrutura e relação social e a genética dos próprios zângãos influencia diretamente esta relação (Carantón, 2012). Uma colónia de abelhas pode ser considerada um superorganismo ou uma superfamília (Carantón, 2012) em que existe uma rainha-mãe e vários zângãos-pais e abelhas obreiras e zângãos filhos provenientes destes cruzamentos. Numa colónia existem obreiras que são consideradas de “super-irmãs” dado que compartilham 75% dos seus genes por descendência, “meias-irmãs” que compartilham 25% dos seus genes por serem fruto do acasalamento da sua rainha-mãe com zângãos diferentes e por fim as “irmãs completas” filhas de zângãos irmãos e compartilham 50% dos seus genes. Isto é bastante importante para a sobrevivência da espécie, uma vez que, desta forma existe uma enorme variabilidade genética nas colónias de abelhas, tendo estas uma grande capacidade de adaptação a novos ambientes.

O facto de a rainha copular com vários zângãos, a cópula ocorrer no ar, a substituição natural de rainhas e a própria enxameação sempre dificultaram os métodos de seleção em abelhas. Talvez por essa razão os apicultores sempre sentiram dificuldades em controlar os acasalamentos, levando alguns a praticar o isolamento em ilhas, grandes altitudes ou regiões isoladas, por exemplo, grandes vales. A inseminação artificial em rainhas parece fornecer um melhor controlo nos cruzamentos reprodutivos (Cobey, 2007), contudo, parece não haver consenso nos seus totais benefícios, no que respeita ao desempenho das rainhas inseminadas em comparação com as fecundadas naturalmente. Souza (2009) encontrou diferenças significativas na área de postura com rainhas fecundadas naturalmente a apresentarem médias superiores.

O tipo de seleção mais utilizado em apicultura é a seleção massal, onde posteriormente são aplicados os métodos de seleção em tandem, os índices de seleção e a seleção baseada no BLUP – Modelo Animal. A seleção massal, é um tipo de seleção indicado

para aplicar em populações que não sofreram nenhum método de seleção nem ações de melhoramento (Rodrigues, 2015), resultando em bons ganhos iniciais (Manrique & Soares, 2002). Consiste na seleção de 10% das colónias mais produtivas, independente das suas relações familiares, para a produção de rainhas e de zângãos. Este tipo de seleção deve ser adotado por cooperativas e associações de apicultores como ponto de partida para um processo de melhoramento, sendo recomendável um grande número de colónias (Carantón, 2012). Para acelerar o processo de seleção, Vencovsky & Kerr (1982) aconselham o uso de rainhas de colónias selecionadas, uso de zângãos de colónias selecionadas ou o uso de rainhas e zângãos de colónias selecionadas. No uso de rainhas de colónias selecionadas, procede-se à substituição de rainhas a 25% das piores colónias, por rainhas provenientes de 25% das melhores colónias. Estima-se que o progresso esperado (potencial de seleção) é de 20% por geração. No uso de zângãos de colónias selecionadas, procede-se à introdução de quadros de zângãos em 25% das melhores colónias. O progresso esperado, se forem trocados 50% dos zângãos na “nuvem de machos”, é de 10%. No uso de rainhas e zângãos de colónias selecionadas, procede-se à substituição de rainhas em 25% das piores colónias por rainhas provenientes das 25% melhores e introduz-se quadros de zângãos nas 25% melhores. O progresso esperado por esta seleção é de 30% (20% pela parte da substituição de rainhas e 10% pela parte da substituição de zângãos), supondo que se substituem 50% de zângãos na “nuvem de machos”. Segundo Carantón (2012), a implementação deste sistema nem sempre é posta completamente em prática e é muito pouco acessível ao pequeno apicultor pelo facto de selecionar 25% das suas colónias para a produção de rainhas. Também este sistema de seleção e melhoramento carece de um acompanhamento técnico especializado e em simbiose perfeita com apicultores ou associações de apicultores, que juntando às dificuldades de seleção próprias do determinismo da espécie *Apis mellifera* é de alguma forma convidativo à adoção de outros métodos de seleção, alguns mais acessíveis até aos pequenos apicultores.

No método de seleção em tandem, o apicultor seleciona uma característica até chegar aos níveis desejados para um determinado progresso genético, passando de seguida a selecionar para outra característica. Conseguídos os níveis da segunda característica, passa-se a selecionar para uma terceira ou voltar a selecionar para a primeira, conforme os objetivos da seleção. Este tipo de seleção também se revela limitativo, uma vez que para a maioria das características existem relações entre si, não se mantendo as outras características constantes ao longo do processo de melhoramento. O método dos índices de seleção consiste em selecionar mais do que uma característica em simultâneo, com base em fontes de informação produtiva, podendo ser do próprio

indivíduo ou da própria família (Carolino, *et al.*, 2017). Bienefeld, Ehrhardt, & Reinhardt (2007) consideram que a seleção através dos índices está ultrapassada por não ter em conta os efeitos ambientais e as diferenças genéticas ao nível dos acasalamentos, propondo como método de seleção o BLUP – Modelo Animal, adaptado às abelhas (Rodrigues, 2015). O método BLUP (*Best Linear Unbiased Predictor*) permite a avaliação simultânea de reprodutores, da sua progénie, dos efeitos do ambiente e genéticos. Este modelo utiliza todas as informações disponíveis, permitindo a inclusão de informação completa da família por meio de matrizes de parentesco (Santos, 2013).

3.2.1 – Princípios da criação de rainhas

As abelhas só criam rainhas quando ficam órfãs, quando querem enxamear e quando querem substituir a sua própria rainha. Assim sendo, para o apicultor obter alvéolos reais é necessário que este lhes proporcione alguma das situações descritas anteriormente. Dependendo das condições em que as colónias se encontram para a produção de alvéolos reais, a sua qualidade pode variar.

Quando uma colónia se sente inesperadamente sem rainha e escolhe algumas larvas disponíveis para iniciar o desenvolvimento de uma nova rainha, dá origem a alvéolos de emergência (Fernandinho, 2003, Neto, 2009). Segundo vários autores, estes alvéolos são de evitar devido às condições em que são processados que não são as melhores. Geralmente são pequenos e por vezes mal formados devido à alimentação deficitária, originando rainhas de baixa qualidade que normalmente são substituídas à primeira oportunidade.

Quando a colónia produz um número considerável de alvéolos reais para se reproduzir naturalmente dá origem a alvéolos reais de enxameação. Estes são produzidos em épocas de bastantes recursos alimentares e abelhas jovens em abundância, facto que proporciona uma nutrição bastante abundante em geleia real. Deve ter-se especial atenção a estes alvéolos uma vez que apesar de se apresentarem grandes e bem formados (devido à nutrição que receberam enquanto larvas), são geralmente provenientes de colónias com tendência para enxamear.

Quando as colónias sentem necessidade de substituir a sua atual rainha originam alvéolos reais de substituição. Estes alvéolos são geralmente poucos e grandes, fruto da excelente nutrição promovida pelas abelhas jovens às larvas. São os alvéolos de substituição aqueles que dão origem a melhores rainhas, uma vez que são atempadamente escolhidas células para o efeito e com boas provisões de geleia real.

Isto porque, existe uma quantidade de abelhas jovens disponíveis e uma fonte proteica bem presente. Estas condições são fundamentais para que uma colónia “decida” fazer uma substituição (Neto, 2009), contudo, a imprevisibilidade da sua génese não permite, na prática o seu uso.



Figura 1 – Ilustração dos tipos de alvéolos reais (adaptado de <https://abelhasabeira.com>).

Uma das condições para se proceder à criação de rainhas é selecionar as colónias genearcas. Estas devem apresentar características desejáveis ao apicultor tais como boa produtividade (mel, pólen, própolis, geleia real), bom comportamento higiénico (pode estar associado a resistência contra doenças), baixa tendência para enxamear e/ou baixa agressividade.

Brother Adam no livro *Breeding the Honeybee A Contribution to the Science of Beebreeding*, 1987, refere outras características, consideradas por si, elementares para a criação sustentável de rainhas tais como a “Fecundidade”, “Apetência para a colheita” e resistência às doenças. Relativamente à “Fecundidade”, o autor refere que esta

característica isolada não será importante, mas aliada a outras desejáveis é um pré-requisito essencial.

3.2.2 – Métodos de criação de rainhas

São vários os sistemas de criação de rainhas que se têm utilizado ao longo da história da apicultura. Atualmente, todos os métodos assentam na indução do sentido de orfandade, na presença de abelhas jovens, na seleção de colónias genearcas com características desejáveis e na disponibilidade alimentar.

A escolha do método a utilizar deve ser baseada, no número de rainhas que o apicultor pretende produzir por ano (Fert, 2013). Segundo este autor e Teixeira (2017), um apicultor que pretenda produzir até 20 rainhas por ano pode optar pela orfandade simples eliminando ou retirando a rainha da colónia. Desta forma, passados 6 dias obterá vários alvéolos reais, às vezes mais de vinte (Fert, 2013). Ao 10º dia, o apicultor, deixa um ou dois e translada os restantes para novas colónias orfanadas previamente.

Outro método idêntico é o chamado método de Bentley. Neste caso não é necessário eliminar a rainha ou pré-orfanar uma colónia para a aceitação da “rainha-mãe”. Este método consiste em colocar um corpo por baixo da colónia constituído por 4 ou 5 quadros com criação das várias idades (oriundos de várias colónias), 1 quadro com mel e outro com pólen em cada lado da cria (Fert, 2013). Os dois corpos devem estar separados por uma placa que impossibilite a passagem das abelhas de baixo para cima e vice-versa, bem como estarem com a abertura para a mesma direção. Desta forma, as abelhas “campeiras” ao entrarem na entrada de baixo não conseguem passar para o corpo superior. Segundo Fert (2013), passados 12 dias, retira-se o corpo inferior e coloca-se noutra suporte. Este deverá conter vários alvéolos reais que estão prontos para serem recolhidos e distribuídos para as colónias recetoras (orfanadas previamente).

O método de Miller é interessante para quem, segundo (Fert, 2013), deseja produzir entre 20 a 200 rainhas por ano. Este método consiste em colocar um quadro com cera laminada e cortada em forma de “zigzag” numa colónia com boas características produtivas. Passado uma semana, a lâmina de cera estará puxada e com postura de ovos e larvas jovens. De seguida coloca-se o quadro numa colónia orfanada, mas com muita população de abelhas jovens, onde as mesmas construirão alvéolos reais. Ao 10º dia os alvéolos reais estão prontos para serem colocados nas novas colónias onde se pretendem introduzir.

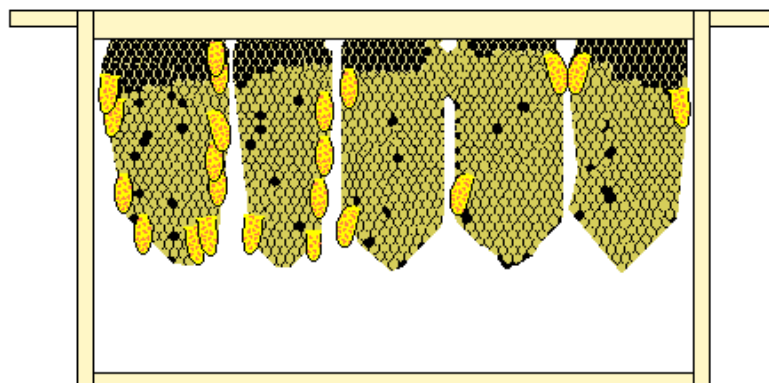


Figura 2 - Método de Miller. Fonte: (<http://malijo-apicultura.blogspot.pt>).

O mesmo autor considera que para se produzir mais de 200 rainhas por ano, o método indicado é o método de Doolittle. Perez-Sato & Ratnieks (2006) referem que é o método de eleição dos apicultores que praticam uma apicultura mais profissional, sendo prático, económico e permite a criação de rainhas de forma sistemática e em massa. Consiste basicamente na transferência de larvas jovens para cúpulas artificiais que posteriormente serão colocados numa colmeia orfanada denominada iniciadora. Posteriormente os alvéolos reais serão colocados numa colmeia finalizadora.



Figura 3 – Transferência das larvas para as cúpulas – Translarve.

Para que as larvas transferidas para as cúpulas tenham uma boa aceitação por parte das abelhas da colmeia iniciadora, é conveniente proceder previamente à familiarização dos quadros porta-cúpulas. Segundo Fert (2013), esta operação aumenta consideravelmente a aceitação das cúpulas. Para esse efeito deve-se introduzir na colmeia iniciadora o quadro porta-cúpulas pelo menos 2 a três horas antes da realização do translarve (Fert, 2013).

A produção de rainhas para este trabalho foi realizada segundo o método de Cloake com uma ligeira adaptação pela empresa que será descrito mais adiante. Este método

tem a particularidade da colmeia utilizada ser iniciadora e também finalizadora, eliminando assim a necessidade de transferir os quadros porta-cúpulas com as cúpulas já aceites para outra colmeia (finalizadora), economizando tempo e alguma agitação/vibração prejudicial ao desenvolvimento das novas células reais. Para a aplicação do método de Cloake é necessário o recurso ao tabuleiro com o mesmo nome (Figura 4) que consiste numa grade excludora com a particularidade de se poder inserir um separador.

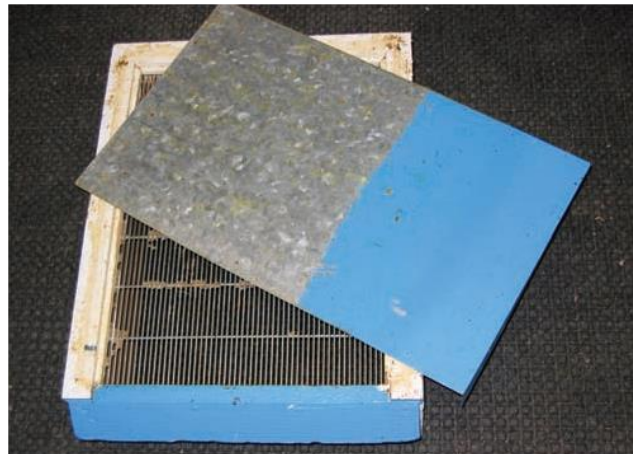


Figura 4 - Tabuleiro de Cloake. (Coobey, 2005).

Na ausência do tabuleiro de Cloake pode-se optar por utilizar uma grade excludora e uma prancheta. Esta substituirá o separador de Cloake. O sobreninho deverá ter uma entrada para as abelhas como mostra a Figura 5. Na APICANT é este o método utilizado nas colónias criadeiras, designando-se internamente e também designado neste relatório como método APICANT.

Para a preparação da colmeia criadeira, deverá assegurar-se a presença da rainha no ninho e colocar-se o tabuleiro de Cloake sem o separador entre o ninho e o sobreninho. Sete dias antes da transferência das larvas (Teixeira, 2017) deve-se girar o ninho 180° e fechar a entrada do mesmo. As abelhas são assim, obrigadas a entrar através da entrada do tabuleiro que está virado para a oposição inicial.

Dois ou três dias antes, devem-se colocar os quadros de criação aberta para o sobreninho de forma a “convidar” abelhas jovens. No dia antes da transferência das larvas, coloca-se o separador de Cloake. Deve-se fazer também uma inspeção ao sobreninho de forma a eliminar eventuais taças (início de alvéolos reais) que possam ter surgido devido à movimentação de quadros de criação aberta. Colocam-se os quadros porta-cúpulas para sua aceitação e abre-se a entrada do ninho que agora está

voltada para trás (posição oposta à entrada do tabuleiro de Cloake). Com esta separação fica assim definido um processo de orfanação do sobreninho.



Figura 5 – Pormenor da entrada no sobreninho.

No dia da transferência das larvas retiram-se os quadros porta-cúpulas e seleciona-se um quadro com larvas jovens da colmeia genearca (selecionada para obter princesas filhas da rainha existente naquela colónia) e executa-se o translarve para as cúpulas. De seguida coloca-se novamente os quadros porta-cúpulas nas colmeias criadeiras (iniciadoras). No dia seguinte retira-se o separador do tabuleiro de Cloake. Tem-se agora uma colónia a trabalhar como finalizadora e em regime de semi-orfandade.

Deve-se ter em consideração a abundância alimentar para executar estas operações. Alguns autores recomendam mesmo em épocas de abundância alimentar recorrer à alimentação/ suplementação artificial (Fert, 2013); (Teixeira, 2017). Fert (2013) no seu livro *Apicultura - Cría de Rainhas* salienta que a iniciadora-finalizadora Cloake e os demais sistemas de criação de rainhas, recebem em cada intervenção uma alimentação estimulante 50/50 (1 litro de água com 1 Kg de açúcar) para simular uma melada, favorecendo os aportes de pólen e sobretudo aumentar os níveis de humidade, fator desencadeante da criação.

Ao final de 4 ou 5 dias as células reais estão operculadas podendo ser retiradas para uma incubadora apropriada para o efeito (Figura 6). Se o apicultor não pretender dar início a outro ciclo de criação de rainhas pode deixar ficar os quadros porta-cúpulas e

retirar os alvéolos reais ao 10º ou 11º dia, podendo terminar o seu ciclo na incubadora. Ao 15º ou 16º dia, o apicultor terá princesas nascidas prontas para introduzir. Teixeira (2017) refere que obteve melhores resultados nos nascimentos das princesas com a recolha dos alvéolos reais ao 6º dia do que entre o 9º e o 11º dia, tendo concluído que isso se devia ao fato de neste último caso, os mesmos serem manuseados numa altura crítica do seu desenvolvimento.

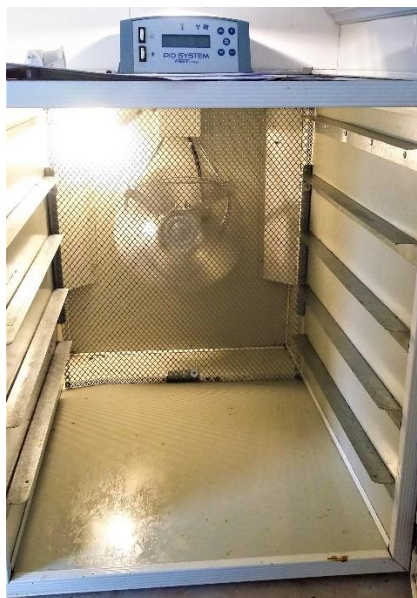


Figura 6 – Pormenor da incubadora de alvéolos reais com sistema PID SYSTEM.

3.2.3 – Métodos de introdução de rainhas

A substituição das rainhas ocorre por natureza no próprio enxame sem ser necessária a intervenção do apicultor. Contudo, deve-se evitar esperar que o enxame faça a sua própria substituição (altura em que os níveis de postura das rainhas já estão diminuídos), devendo o apicultor agir antecipadamente de forma a evitar diminuir os níveis de produção das colónias e sobretudo controlar a qualidade das rainhas introduzidas tentando desta forma selecionar características desejáveis. Torna-se assim necessário proceder à introdução de uma nova rainha substituindo a já existente.

Para além da situação descrita, existem outras necessidades de introdução de rainhas tais como em situações de desdobramento de colónias ou povoamento de núcleos de fecundação. A introdução de alvéolos reais pode também ser uma alternativa e desta forma a nova rainha nasce já no interior da colónia. Contudo é uma prática que não é aconselhada uma vez que as rainhas não podem ser selecionadas e avaliadas pelas características fenotípicas desejáveis, tais como cor, morfologia e peso, para posterior

introdução (Perez-Sato & Ratnieks, 2006). A marcação de rainhas antes da introdução também se tem mostrado vantajosa uma vez que facilita a identificação na colónia, evitando perdas de tempo na procura da mesma bem como o controlo de eventuais substituições naturais.

Vários são os métodos utilizados para se proceder à introdução de rainhas. Talvez o método mais usual seja a introdução com gaiola e revela-se mais compensatória com aceitação superiores em comparação com alvéolos reais (Perez-Sato, Karcher, Hughes, & Ratnieks, 2008). Neste método pode-se proceder à introdução após um período de orfandade pré-estabelecido que pode ir dos 1 aos 6 dias (Perez-Sato, Karcher, Hughes, & Ratnieks, 2008) ou até mais. No entanto, existem apicultores que procedem à sua introdução sem as colónias passarem por períodos de orfandade. Quando se trata de substituir rainhas, alguns apicultores matam a rainha velha esfregando-a na gaiola de introdução para que as suas feromonas se misturem com a rainha nova a ser introduzida (Heep & Cella, 2016).

A introdução direta também pode ser uma alternativa e com a utilização de fumo pode chegar aos 100% de aceitação (Perez-Sato, Karcher, Hughes, & Ratnieks, 2008). Outro método intermédio pode ser usado, realizando a introdução no momento dos desdobramentos ou da substituição que consiste em introduzir a gaiola de introdução com a rainha em regime de clausura durante três dias e posteriormente o apicultor parte a patilha para que as obreiras tenham acesso ao cândi.

O tempo de orfandade também é um fator com grande influência. Este estudo refere que a introdução direta tem 100% de aceitação com orfandades entre 5 e 6 dias, no entanto desce para 85% com orfandades de 2, 3 ou 4 dias. Estes autores também referem que as colónias precisam de mais tempo de orfandade para aceitação de rainhas virgens do que rainhas fecundadas.

Num outro estudo, Pérez-Sato & Ratnieks (2006) verificaram que a aceitação com a introdução com rainhas de 1 dia, libertadas 3 dias após a introdução era de 75% e que essa percentagem descia para os 65% com o mesmo método, mas com a rainha mantida 3 dias a temperatura constante de 20°C.

A tipologia de núcleo de fecundação também poderá afetar o sucesso da introdução e por conseguinte outros fatores dependentes desta. Silva, *et al.*, (s.d.) (in www.apacame.org.pt – acedido a 10 de setembro de 2018) referem que Mirza de Dagan (1967) observou maior percentagem de fecundação em pequenos núcleos do que em núcleos grandes e mais rainhas fecundados por quilo de abelhas em núcleos pequenos. Estes concluíram que os núcleos pequenos foram 48% mais eficientes do

que os grandes. No mesmo documento, os autores referem que Skrobal (1968) comparou “micronúcleos” com núcleos grandes e estes deram melhores resultados e que núcleos com menos de 100 gramas de abelhas não demonstraram resultado positivo. Os dados bibliográficos relativos à influência da tipologia de núcleos/ colmeias nos parâmetros reprodutivos são muito escassos.

Outros fatores podem influenciar o sucesso da introdução tais como a idade das abelhas com taxas de aceitação mais elevadas em abelhas jovens, a presença de quadros com criação de várias idades também influencia positivamente a aceitação.

4 – METODOLOGIA

Este estudo decorreu de novembro de 2016 a agosto do 2018 e teve lugar nas instalações e nos apiários da empresa APICANT, no concelho de Cantanhede.

A realização deste estudo envolveu as seguintes etapas:

4.1 – Preparação das colónias para produção de rainhas virgens;

4.2 – Produção de rainhas virgens;

4.3 – Preparação das colónias dadoras de quadros para povoamento dos núcleos de fecundação;

4.4 – Instalação do apiário de fecundação;

4.5 – Povoamentos dos núcleos de fecundação;

4.6 – Assentamento dos núcleos no apiário de fecundação;

4.7 – Estimação dos parâmetros:

Aceitação de rainhas virgens;

Sucesso de fecundação;

Compacidade de criação operculada;

4.8 – Análise estatística.

4.1 – Preparação das colónias para produção de rainhas virgens (colónias criadeiras)

Selecionaram-se no apiário cinco colónias com os critérios definidos por Delaphane, Steen, & Guzman-Novoa (2013), nomeadamente a quantidade de pólen e néctar, quantidade de criação e número de quadros com abelhas. Foram preparadas com o sistema Cloake e no sobreninho foram colocados quadros com mel e pólen de forma a estimular a postura da rainha para o processo seguinte e colocaram-se quadros com criação operculada para promover o aumento rápido de indivíduos na colónia. Administrou-se também alimentação artificial à base de xarope de sacarose com Promotor L® para reforço da estimulação.

4.2 – Produção de rainhas virgens

Para produzir as rainhas, selecionou-se uma colônia genearca com características desejadas pela empresa e quatro dias antes do translarve, introduziu-se um quadro com cera puxada para “convidar” a rainha a colocar ovos no mesmo, de forma a facilitar o processo de transferência larvar para as cúpulas. Apenas se obtiveram rainhas filhas dessa colônia genearca.

Três dias antes da transferência das larvas, efetuou-se a rotação dos ninhos das criadeiras 180° e fecharam-se as entradas dos mesmos. As abelhas “campeiras” passaram a utilizar a entrada do sobreninho de forma a maximizar o número de indivíduos no mesmo (local onde ocorre a aceitação das larvas transferidas).

No dia anterior à transferência larvar, introduziram-se os quadros porta-cúpulas de forma a promover o seu reconhecimento e aceitação e colocaram-se as pranchetas do método APICANT (o mesmo princípio da placa Cloake descrito anteriormente) de forma a orfanar o sobreninho. Abriram-se as entradas dos ninhos. As colmeias criadeiras passaram a partir desse momento a trabalhar como colônias distintas, estando as abelhas presentes no sobreninho em orfandade total.

No dia da transferência larvar, retiraram-se os quadros porta-cúpulas, efetuou-se o translarve e posterior reintrodução nas colônias criadeiras. Esta técnica consiste na extração de larvas do dia dos alvéolos de um quadro da colônia genearca e posterior colocação nas cúpulas do quadro porta-cúpulas. A idade da larva influencia a qualidade da rainha (Fert, 2013), sendo recomendável que a mesma tenha menos de 24 horas. As larvas com menos de 24 horas apresentam-se transparentes e retas, ao contrário das larvas com mais idade (Teixeira, 2017).

Para garantir boas condições aquando da transferência das larvas e uma vez que a colônia genearca não se situava perto do laboratório da empresa, recorreu-se à transferência dentro da carrinha de apicultura, impedindo desta forma a entrada de abelhas e da luz solar direta. Esta operação deve ocorrer com uma temperatura entre os 25°C e os 30°C e humidade relativa a rondar os 75% (Teixeira, 2017).

No dia seguinte à transferência larvar, retiraram-se as pranchetas do método Apicant, passando as criadeiras a funcionar em regime de semi-orfandade.

Seis dias após a transferência larvar para as cúpulas, retiraram-se os quadros porta-cúpulas das criadeiras e transferiram-se os alvéolos reais já operculados para a incubadora. Para prevenir uma taxa de nascimentos em incubadora relativamente baixa como descreve (Teixeira, 2017) e tendo-se também verificado em transferências

anteriores que os alvéolos reais ao serem transportados entre o 9º e o 11º dia diminuía a taxa de nascimentos, optou-se por realizar a transferência ao 6º dia, mas com a particularidade de, o transporte dos alvéolos reais (Figura 7) ocorrer com a sua posição invertida (para cima). Desta forma as pupas durante o transporte teriam um amortecimento de impactos por ação da geleia real na base dos alvéolos, tendo-se bastante sucesso com os nascimentos.



Figura 7 – Transporte em caixa envolvida por película com os quadros porta-cúpulas invertidos

Os alvéolos reais foram posteriormente colocados na sua posição inicial na incubadora, protegidos com uma proteção apropriada para o efeito, com uma temperatura de 34°C e uma humidade de 70%.



Figura 8 – Alvéolos reais com proteção na incubadora onde nasceram as rainhas virgens.

O nascimento das rainhas ocorre 16 dias após a postura do ovo, 6 dias após a introdução na incubadora.

Após o nascimento, as rainhas foram pesadas e marcadas com marcador numérico para sua identificação e posterior introdução em gaiolas de introdução com as respectivas abelhas amas e com pasta de cãndi.



Figura 9 – Pesagem da rainha após o nascimento

4.3 – Preparação das colónias dadoras de quadros para povoamento dos núcleos de fecundação

Para preparação das colónias dadoras de quadros, selecionaram-se as colónias que apresentavam maior população e melhor comportamento sanitário. Esta seleção ocorreu num apiário de colmeias de modelo Reversível e noutra em núcleos do tipo Miniplus de 6 quadros.

Procedeu-se à aplicação de bandas para controlo da varroa com o princípio ativo amitraz, de denominação comercial Apivar® nos dois apiários.

Como estratégia estimuladora para o rápido crescimento das colónias nestes apiários foi administrada alimentação estimulante líquida à base de sacarose com Promotor L®. Uma vez que nestas colónias a rainha aumentará a sua postura diária e o número de larvas a alimentar é claramente superior, foi administrada uma pasta multivitamínica proteica (Hibee®) para colmatar algum défice de proteínas, lípidos, aminoácidos,

minerais e vitaminas. A deficiência de qualquer nutriente compromete o desenvolvimento, manutenção, provoca *stress* interno e até uma predisposição para o aparecimento de doenças (Sereia, 2009).

4.4 – Instalação do apiário de fecundação

A escolha do local para instalação do apiário de fecundação é de extrema importância, pois terá de proporcionar um acesso fácil de um veículo, estar resguardado dos ventos dominantes (Fert, 2013), existência de fontes de néctar e pólen, possuir marcadores naturais como árvores, arbustos, pedras ou outros objetos instalados para prevenir a deriva e a perda de rainhas. De preferência não deveriam estar instalados apiários com colónias não controladas pelo próprio apicultor num raio de pelo menos 6 km. Segundo (Fert, 2013), a situação ideal seria trocar as rainhas de todas as colónias num raio de 8 a 10 Km.

A presença de zângãos é fundamental para que o sucesso da fecundação seja conseguido. É necessário uma colónia dadora de zângãos por cada 25 rainhas (Buchler, *et al.*, 2013). Estas colónias dadoras de zângãos devem possuir uma rainha com as características desejáveis de forma a controlar com a melhor precisão possível as fecundações das novas rainhas, praticando desta forma um processo de melhoramento genético a favor dos objetivos do apicultor. Segundo Buchler, *et al.* (2013), devem ser introduzidos dois quadros com placas de cera de zângão o mais tardar dois meses antes do início dos acasalamentos de forma a garantir no local zângãos maduros não comprometendo desta forma o sucesso da fecundação.

A vida reprodutiva de uma rainha inicia com o voo nupcial para fecundação, que ocorre sensivelmente a partir do 5º dia depois do seu nascimento. A fecundação ocorre em áreas onde se podem encontrar inúmeros zângãos (zonas de congregação de zângãos), geralmente próximas do apiário.

Neste estudo procedeu-se à instalação num terreno situado na aldeia do Zambujal no concelho de Cantanhede com as seguintes coordenadas GPS 40.289704, -8.614581.



Figura 10 - Imagem aérea do terreno para instalação do apiário de fecundação. Fonte: www.google.pt/maps/preview.

Procedeu-se à limpeza do terreno tendo a preocupação de preservar árvores e arbustos, tendo estes a função de marcadores naturais para minimizar o fenómeno da deriva (Delaphane, Steen, & Guzman-Novoa, 2013). Delimitou-se também através de uma vedação todo o perímetro. Foram colocadas três filas de paletes equidistantes para instalação das ilhas de fecundação, contendo cada uma 8 paletes (Anexo II).

4.5 – Povoamento dos núcleos de fecundação

Na preparação de todo o processo experimental inicial, a intenção era de testar 4 tipologias de núcleos (Killer, Reversível de 5 quadros, Miniplus de 6 quadros e Miniplus de 4 quadros). Obteve-se uma enorme dificuldade em conseguir manter as colónias de abelhas na tipologia Killer. Na tentativa de se conseguir manter as abelhas nesta tipologia efetuaram-se várias alternativas, tais como pulverização dos núcleos com água, açúcar e mel e assentamento dos núcleos em local sombreado. Foram feitos vários ensaios e nenhum foi conseguido com o sucesso necessário ao estudo. Como a tipologia Killer, única com uma ficha técnica e na perspetiva de homogeneizar os processos de povoamento nas 4 tipologias, optou-se por efetuar pacotes de abelhas para os referidos povoamentos. Numa fase experimental de todo o processo de povoamento, ensaiou-se a realização de pacotes de abelhas através de caixas de transporte. Erradamente, introduziram-se demasiadas abelhas e com as temperaturas quentes, a juntar à administração elevada de CO₂ ocorreu demasiada mortalidade.

Optou-se então pela anulação da tipologia Killer, tendo-se novamente a necessidade de “engordar” algumas colônias dadoras de quadros para se proceder ao povoamento através da reposição de quadros. Desta forma, as tipologias de núcleos de fecundação utilizadas no estudo foram Reversível de 5 quadros, Miniplus de 6 quadros e Miniplus de 4 quadros. Como a APICANT possui colônias nestes três tipos de núcleos, optou-se por testar apenas estes modelos e estimar parâmetros que possam influenciar a qualidade das rainhas neles introduzidas e posteriormente fecundadas.



Figura 11 – Ilustração das tipologias de núcleos de fecundação utilizadas no estudo – Reversível 5 de quadros, Miniplus de 6 quadros e Miniplus de 4 quadros, respectivamente.

O núcleo de fecundação do modelo Reversível de 5 quadros, apresenta 39 centímetros de comprimento, 24 centímetros de altura e 19,5 centímetros de largura, perfazendo um volume total de 18252 cm³. O quadro reversível apresenta 34 centímetros de comprimento e 20,5 de altura, com uma área de 697 cm².

O núcleo de fecundação do modelo Miniplus de 6 quadros, apresenta 23,5 centímetros de comprimento, 17 centímetros de altura e 23,5 centímetros de largura, com um volume aproximado de 9388 cm³. O núcleo de fecundação do modelo Miniplus de 4 quadros, apresenta 23,5 centímetros de comprimento, 17 centímetros de altura e 15 centímetros de largura, com um volume aproximado de 5993 cm³. O quadro Miniplus apresenta 18,5 centímetros de comprimento e 13,5 centímetros de altura, com uma área de 250 cm².

Para o primeiro ensaio, prepararam-se 24 núcleos de cada tipologia com quadros, retirados das colmeias dadoras de quadros, bem povoados com abelhas (Figura 12) e tendo em atenção a uniformidade quanto ao número de abelhas, quadros com reservas (mel e pólen), quadros com criação operculada e quadros vazios como descrito na Tabela 1. No segundo ensaio apenas se utilizaram 12 núcleos para cada tipologia, de

forma a facilitar todas as atividades inerentes ao manuseio de preparação e utilização dos núcleos, dado que para uma amostra maior, as necessidades de mão-de-obra eram claramente muito superiores.

Tabela 1 - Posicionamento dos vários quadros nas tipologias.

Tipologia de núcleo	Sequência de quadros
Reversível	M C C V M
Miniplus 6	M C C C V M
Miniplus 4	M C C V

M (reservas – mel e pólen); C (criação operculada); V (quadro de cera “puxada”, mas parcialmente ou totalmente vazio)

Posteriormente, logo após o povoamento, foram introduzidas as rainhas nas respectivas gaiolas, nos núcleos de fecundação.

De seguida, os núcleos foram mantidos fechados numa sala escura durante 2 dias. Pretendeu-se com este procedimento que as abelhas obreiras adquirissem o conceito de “colónia de abelhas” e evitar a deriva das mesmas (Delaphane, Steen, & Guzman-Novoa, 2013) e/ou abandono no núcleo.



A



B

Figura 12 - Povoamento dos núcleos de fecundação, **A**- retirada de quadros da colónia dadora; **B** - colocação de quadro no núcleo de fecundação.

Procedeu-se de igual forma para o segundo ensaio, mas com a introdução da gaiola com a patilha por partir, ficando desta forma a futura rainha em regime de clausura durante os dois dias em sala escura. A abertura da patilha ocorreu apenas no final do dia em que se efetuou o assentamento dos núcleos no apiário de fecundação.

4.6 – Assentamento dos núcleos no apiário de fecundação

Para distribuir aleatoriamente os núcleos de fecundação pelo apiário e pelos pontos cardeais em cada ilha procedeu-se ao cálculo do arranjo dos 4 pontos cardeais pelas 3 tipologias através da seguinte fórmula:

$${}^nA_p = \frac{n!}{(n-p)!} ,$$

sendo n o número de pontos cardeais e p o número de tipologias a testar. Sortearam-se aleatoriamente as combinações pelas 24 ilhas. Com este procedimento, as saídas dos núcleos ficaram orientadas para os pontos cardeais (Anexo II).

4.7 – Estimação dos parâmetros

O anexo IV apresenta o fluxograma que serviu de base para as operações a efetuar durante todo o procedimento experimental. De acordo com o mesmo, os passos foram os seguintes:

- No Dia 1, procedeu-se ao povoamento e introdução de rainha virgem.
- No Dia 3, efetuou-se o assentamento dos núcleos no apiário de fecundação.
- No Dia 5, realizou-se a 1ª verificação da aceitação. Nos núcleos onde não houve aceitação procedeu-se a uma reintrodução de rainha virgem com o objetivo de aumentar o tamanho da amostra para a estimação dos parâmetros (fecundação e compacidade de criação operculada). A aceitação foi considerada no caso de a rainha virgem estar libertada pelas obreiras e a circular pelos quadros sem problemas de eventuais ataques. Nas situações em que a rainha virgem se encontrava morta, foi considerada não aceitação. Nas colónias onde a rainha virgem não foi vista, no dia 12 voltou-se a inspecionar as mesmas com o intuito da verificação deste parâmetro.
- No Dia 12, realizou-se a 1ª verificação da fecundação, através da visualização da postura de ovos. Caso tenha ocorrido postura, calculou-se o número de dias em que a rainha estava a realizar a mesma pela inclinação do ovo ou estado da larva (Figura 13).

Estimou-se a idade dos ovos ou larvas mais antigos e a partir dessa determinação, verificou-se a compacidade de criação operculada passados 14 dias após o início de postura. Se a fecundação ainda não tivesse ocorrido, realizou-se uma visita passados 5 dias.

Nos núcleos onde decorreram as reintroduções de rainhas virgens efetuou-se a 2ª verificação de aceitação e a 1ª verificação da fecundação.

- No Dia 17, realizou-se uma 2ª inspeção aos núcleos que ainda não apresentaram rainha fecundada na visita anterior.

Nos núcleos onde se verificou a presença de ovos ou larvas, determinou-se a idade dos mais antigo(a)s e procedeu-se a uma inspeção para verificação da compacidade de criação operculada 14 dias após a rainha ter efetuado o início da postura. Nos núcleos onde não se verificou o início de postura, realizou-se uma visita passados 5 dias.

- No Dia 22, procedeu-se à 3ª inspeção aos núcleos em que ainda não apresentavam rainha em postura. Nos casos positivos, procedeu-se da mesma forma que se procedeu para os núcleos com postura nas visitas anteriores. Em caso negativo, realizou-se uma visita passados 3 dias.

Também se verificou a compacidade de criação operculada, nos núcleos onde no dia 12 se manifestou sinais de postura.

A operculação do alvéolo ocorre no 9º dia após a postura (Figura 14). Dado isto, se a visita ocorrer 14 após o início da postura, já estarão operculados alvéolos com pupas de várias idades e já se pode tirar uma conclusão acerca da sua compacidade.

- No Dia 25, inspecionaram-se os núcleos que ainda não evidenciavam rainha em postura. Os núcleos onde se continuou a verificar a ausência de sinais de postura, consideraram-se com rainha não fecundada.

Neste dia efetuou-se o cálculo do índice de fecundação em todas as tipologias de núcleos (ponto 5.2 – Fecundação de rainhas).

No caso de a rainha estar fecundada e a efetuar postura, o estudo prosseguiu nos moldes anteriores efetuando-se uma visita passados 14 dias do início da postura para verificação da compacidade de criação operculada.

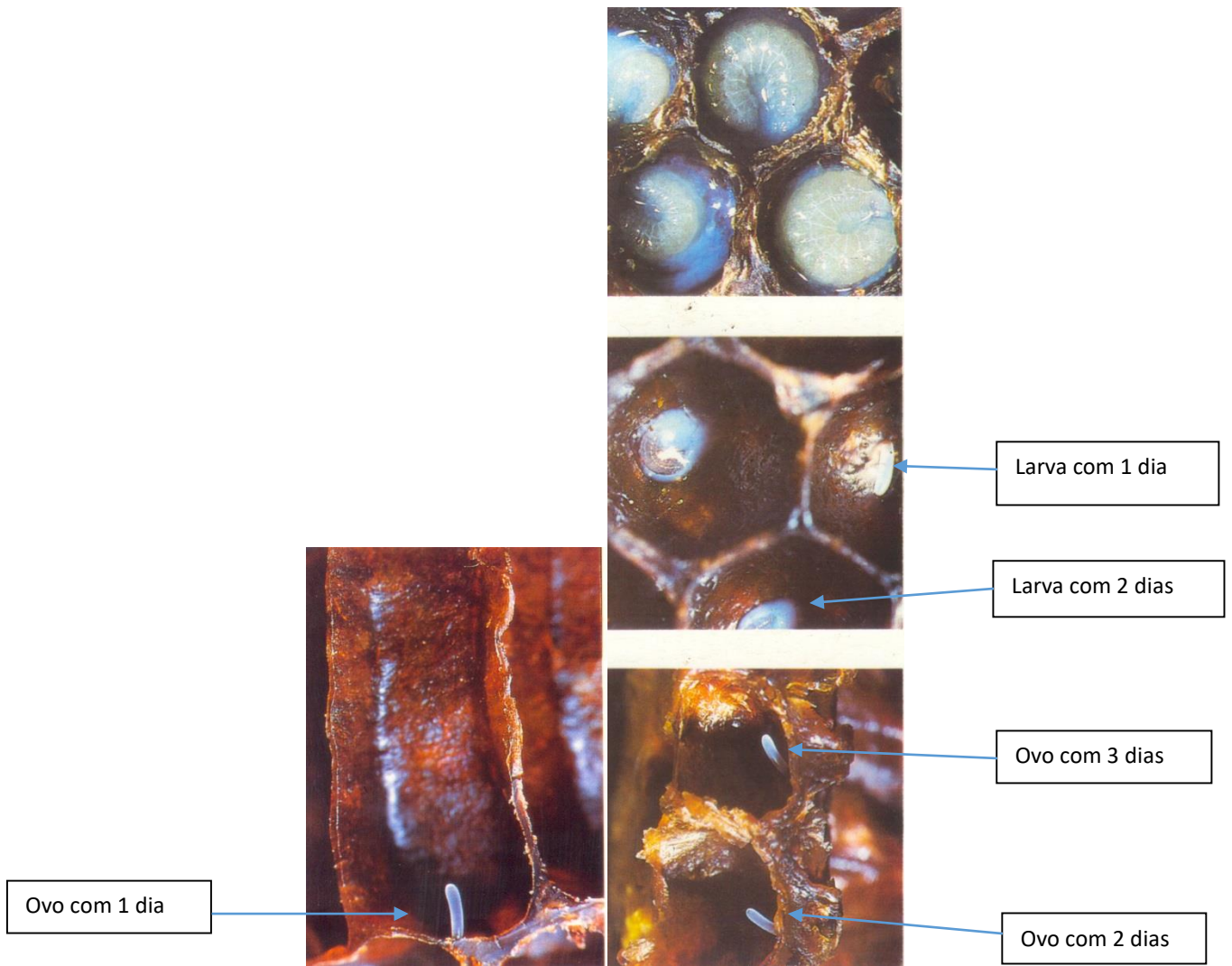


Figura 13 - O posicionamento do ovo como indicador da sua idade. (Adaptado de Godinho, (2006)).

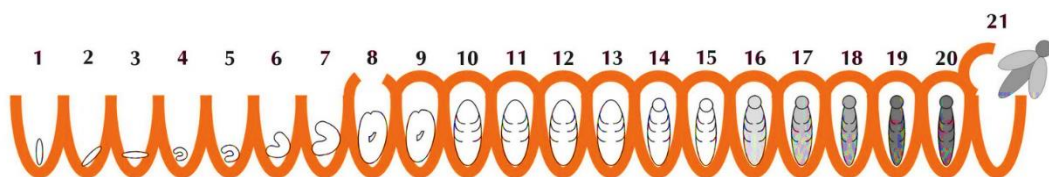


Figura 14 - Ilustração desde a postura até ao nascimento da abelha obreira. Adaptado de: <http://montedome1.blogspot.com>.

- A partir do Dia 25, efetuaram-se sempre verificações da compacidade de criação operculada após 14 dias do início de postura (Figura 15).

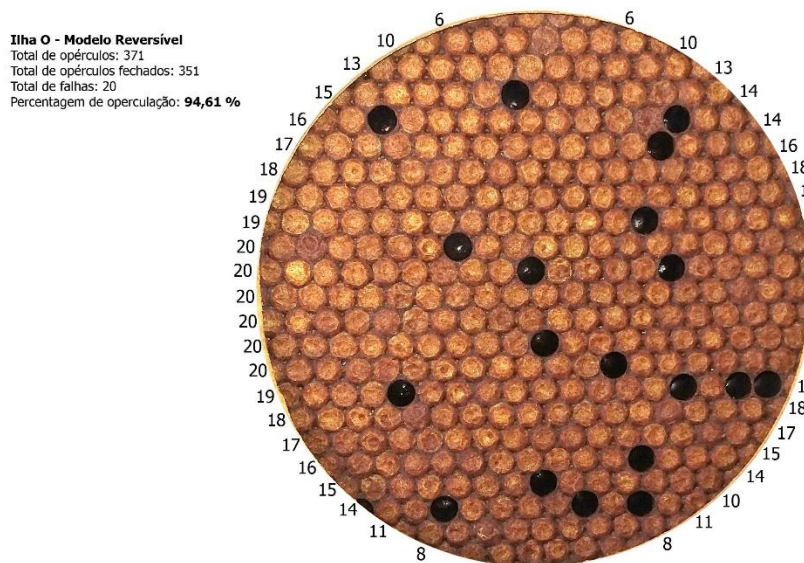


Figura 15 - Medição da capacidade de criação operculada.

No segundo ensaio, os quadros onde a rainha iniciou postura foram fotografados após 14 dias, sobrepondo uma placa com uma circunferência de 10 cm de diâmetro, correspondendo a uma área de 78,54 cm². Posteriormente as fotografias foram analisadas no computador e registaram-se o número de alvéolos totais e o número de alvéolos com criação operculada. As Figuras 15 e 21 evidenciam a área do quadro a estudar com a placa a delimitar a circunferência a analisar.

Apenas foram objeto de estudo para a aferição de capacidade de criação operculada, os núcleos do 2º ensaio que apresentaram rainha fecundada, uma vez que a metodologia de medição da capacidade no 1º ensaio foi considerada pouco precisa em relação à do 2º ensaio. Esta técnica ainda tem de ser melhorada devido ao facto do número de alvéolos naquela área não ser suficientemente homogêneo.

4.8 – Análise estatística

Os resultados obtidos através da metodologia anteriormente indicada foram organizados numa folha de cálculo do programa Excel (Microsoft Office XP). Os dados foram posteriormente analisados estatisticamente com o programa IBM SPSS Statistics 23.

5 – RESULTADOS e ANÁLISE CRÍTICA

Para a estimação de alguns parâmetros em estudo dever-se-ia efetuar um maior número de ensaios para potenciar a precisão das análises. Tal dificuldade em repetir ensaios deveu-se ao facto de:

- Como a dimensão da amostra inicial (n=24x3) era considerável, havia uma permanente necessidade de trabalho em equipa, o que comprometia por vezes o normal funcionamento das tarefas de maneo apícola na cadeia de produção de rainhas da empresa APICANT;

- Uma invasão de formigas no apiário de fecundação comprometeu a viabilidade de alguns núcleos;

- O flagelo dos incêndios florestais também levou a uma quebra considerável de efetivo apícola da empresa, o que comprometeu e muito os ensaios posteriores, havendo a necessidade de “parar” o estudo para reposição do efetivo e com isto alguma dificuldade em conseguir “engordar” e multiplicar colónias em modeloV Reversíveis e Miniplus de forma a garantir o povoamento dos núcleos para o estudo;

- A presença da *Vespa Velutina* também comprometeu as atividades de maneo uma vez que a mão-de-obra era dissipada para atividades de combate à mesma e também pondo em causa o normal funcionamento das colónias de abelhas.

5.1 – Aceitação de rainhas virgens

No primeiro ensaio utilizaram-se 24 núcleos de fecundação de cada tipologia. O método de introdução utilizado foi o método de introdução direta em gaiola com patilha aberta (sem clausura). Como se pode verificar na Tabela 2, a aceitação teve valores muito baixos. Na tipologia Rever apenas foram aceites metade das rainhas, na tipologia M6 o índice de aceitação foi de 0,667 e a tipologia M4 foi de apenas 0,458. A fórmula de cálculo para a estimação do Índice de Aceitação foi a seguinte:

$$IARV = \frac{\text{número de aceitações}}{\text{número de introduções}}$$

No segundo ensaio utilizaram-se 12 núcleos de fecundação de cada tipologia. Aquando do povoamento, o método de introdução utilizado foi o de introdução direta em gaiola em regime de clausura. A abertura da patinha efetuou-se no dia do assentamento dos núcleos no apiário de fecundação. A alteração do método de introdução deveu-se ao

facto de no primeiro ensaio se obterem aceitação muito pouco aceitáveis. Neste 2º ensaio, o índice de aceitação foi de 0,917; 0,750 e 0,917 para as tipologias Rever, M6 e M4 respetivamente.

Tabela 2 – Índices de aceitação de rainhas virgens nas tipologias de núcleos de fecundação.

Índice aceitação	Reversível	Miniplus 6	Miniplus 4	Núcleos/ tipologia
1º Ensaio	0,500	0,667	0,458	24
2º Ensaio	0,917	0,750	0,917	12
Média ±desvio padrão	0,709±0,295	0,709±0,059	0,688±0,325	
CV	0,416	0,083	0,472	

Os valores baixos de aceitação podem eventualmente ser justificados pelo facto das colónias não terem passado por um período de orfandade propriamente dito. Segundo Perez-Sato, Karcher, Hughes, & Ratnieks (2008) a aceitação de rainhas virgens e fecundadas aumenta com a partir do segundo dia de orfandade. Também Perez-Sato & Ratnieks (2006) referem que a aceitação com introdução de rainha em gaiola na presença da rainha “velha” baixa para 42%. Visto isto, o método de introdução utilizado foi muito próximo ao método de Pérez-Sato & Ratnieks (2006). Estará talvez desta forma explicada a baixa aceitação do 1º ensaio.

No 2º ensaio, obtiveram-se valores de aceitação superiores aos encontrados por Perez-Sato & Ratnieks (2006), nomeadamente nas tipologias Reversível e M4. Na tipologia M6, o valor foi igual ao encontrado pelos mesmos autores.

Analisando os dois ensaios e comparando os métodos de introdução, o segundo método parece ser verdadeiramente mais eficaz no que respeita à aceitação de rainhas virgens.

O índice médio de aceitação na tipologia Rever foi de $0,709 \pm 0,295$, na tipologia M6 foi de $0,709 \pm 0,059$ e na tipologia M4 foi de $0,688 \pm 0,325$ (Tabela 2).

No total dos dois ensaios foram aceites 23, 25 e 22 rainhas virgens nas tipologias Rever, M6 e M4 respetivamente, perfazendo 36 núcleos em estudo por tipologia (Anexo V).

Pela análise da Tabela 2, não parece haver influência da tipologia sobre o parâmetro aceitação de rainhas virgens. No 1º ensaio o índice de aceitação máximo foi de 0,667 na tipologia M6 e no 2º ensaio a mesma tipologia teve um índice de aceitação de 0,750, correspondendo ao mínimo obtido nas três tipologias. Com base na média e no desvio padrão, também não parece haver alguma influência da tipologia uma vez que as médias de cada uma são muito idênticas. No entanto a tipologia que demonstrou sofrer menos flutuações/ desvios foi a tipologia M6 uma vez que apresenta um desvio-padrão reduzido e menor amplitude inter-quartil (Figura 16).

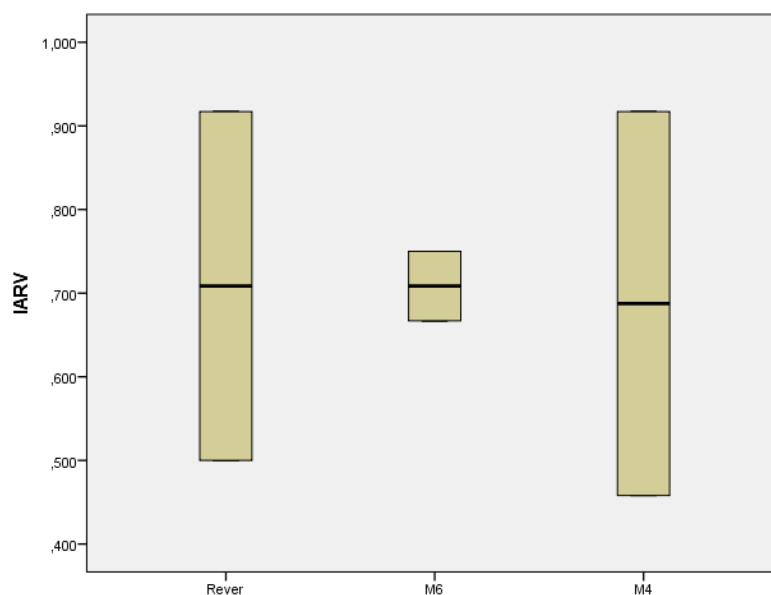


Figura 16 – Índices de aceitação nas diferentes tipologias estudadas.

A Figura 17 parece não evidenciar diferenças ao nível da aceitação, mostrando bastante homogeneidade nas três tipologias.

Pela análise dos dados através do teste de independência Qui-quadrado ($\chi^2 = 0,568$; $P = 0,753$) não existe associação entre as tipologias Rever, M6 e M4 e o parâmetro aceitação ao nível de significância de 5%.

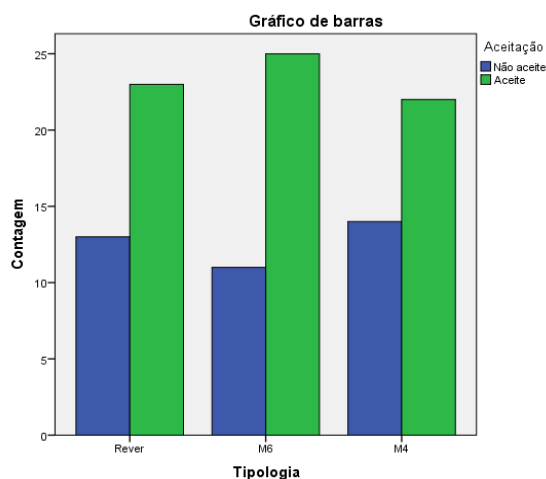


Figura 17 – Número de aceitações e não aceitações nas tipologias.

As diferenças observadas nos dois ensaios ao nível da aceitação foram devidas essencialmente aos diferentes métodos de introdução de rainhas ou outro fator que não a tipologia, tais como temperatura e humidade ou outro. Contudo, Carantón (2012) encontrou diferenças na aceitação, em colmeias com duas divisões e três quadros em cada compartimento, em relação a outras por si estudadas, com aceitações a serem maiores a 90%.

5.2 – Fecundação de rainhas

A fecundação foi aferida nos núcleos onde a rainha foi aceite, através da observação do início da sua postura. Nos núcleos onde não se verificou aceitação, optou-se por reintroduzir uma nova rainha virgem para desta forma aumentar o tamanho da amostra. Os dados para a estimação do Índice de Fecundação foram os recolhidos até ao dia 25 (inclusive) do fluxograma dos procedimentos (anexo IV), através da seguinte fórmula:

$$\text{IFec} = \frac{\text{número de fecundações}}{\text{número de aceitações}}$$

Como se pode verificar na Tabela 3, os valores do índice de fecundação no 1º ensaio foram de 0,500; 0,700 e 0,632 para as tipologias Rever, M6 e M4 respetivamente. No 2º ensaio o índice de fecundação foi de 0,909; 0,818 e 0,833 para as mesmas tipologias. O índice de fecundação médio na tipologia Rever foi de $0,705 \pm 0,289$, na tipologia M6 foi de $0,759 \pm 0,083$ e na tipologia M4 foi de $0,720 \pm 0,160$.

No total dos dois ensaios, o número de rainhas fecundadas observados foi de 21 na tipologia Rever, de 23 na tipologia M6 e 22 na tipologia M4. O número de núcleos em

estudo para a estimação do parâmetro fecundação foi de 33 para Reversível e 31 para Miniplus 6 e Miniplus 4, perfazendo um total de 95 núcleos de fecundação (Anexo VI).

Tabela 3 – Índices de fecundação nas tipologias em estudo. (N) representa o número de núcleos em estudo de cada tipologia.

Índice de fecundação	Rever	N	M6	N	M4	N
1º Ensaio	0,500	22	0,700	20	0,632	19
2º Ensaio	0,909	11	0,818	11	0,833	12
Média ± desvio padrão	0,705 ± 0,289		0,759 ± 0,083		0,720 ± 0,160	
CV	0,401		0,109		0,222	

Com base nos valores da média e do desvio-padrão (Tabela 3) e do diagrama de extremos e quartis (Figura 18), parece não haver influência significativa do fator tipologia no índice de fecundação, uma vez que as medianas de cada uma são muito idênticas. A tipologia que evidenciou menores flutuações/ desvios foi a tipologia M6, dado que apresenta um valor de desvio-padrão mais baixo ($s = 0,083$).

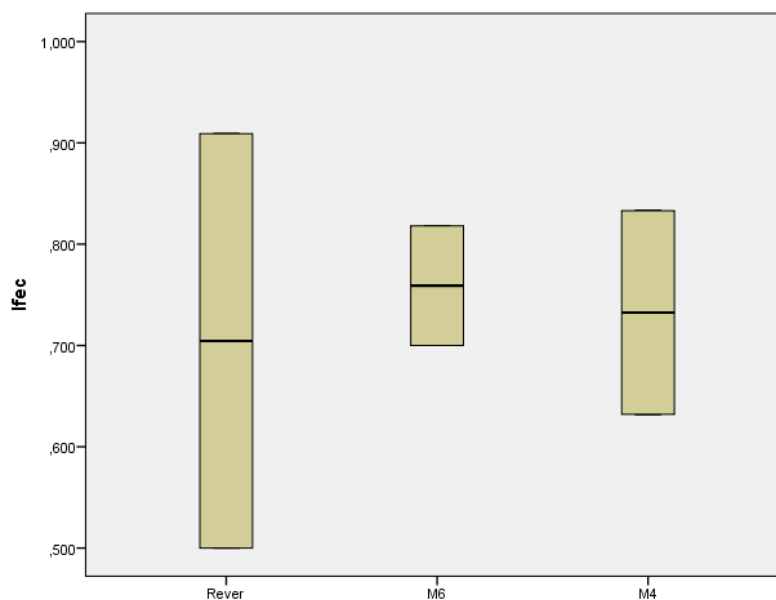


Figura 18 – Índices de fecundação nas tipologias em estudo.

No 1º ensaio o índice de fecundação máximo foi de 0,700 na tipologia M6 e no 2º ensaio foi de 0,909 na tipologia Rever.

Após análise dos dados da fecundação através do teste de independência Qui-quadrado ($\chi^2 = 0,888$; $P = 0,641$) verificou-se que não existe associação entre as tipologias em estudo e a fecundação de rainhas ao nível de significância de 5%. Assim o sucesso/ insucesso da fecundação poderá estar dependente de outros fatores tais como a quantidade de zângãos existentes para as cópulas, as condições de humidade e temperatura e a presença de predadores. Outras tipologias de núcleos podem influenciar a fecundação. Carantón (2012) refere que obteve percentagens de fecundação em colmeias com duas divisórias e três quadros em cada compartimento com valores superiores a 90%. A percentagem de fecundação em todo o apiário no 1º ensaio foi de 61% e no 2º ensaio foi de 85%, verificando-se uma permutação dos valores máximos e mínimos entre as três tipologias de núcleos de fecundação. Desta forma, fatores externos terão maior influência no processo de fecundação. Os resultados obtidos não diferem dos encontrados por Pereira & Maracaja (2013) com 80% de sucesso na fecundação e os resultados do 2º ensaio foram idênticas aos obtidos por Perez-Sato & Ratnieks (2006).

Na tipologia Rever o tempo médio entre a introdução e a fecundação foi de $10,95 \pm 4,873$ dias. Nas tipologias M6 e M4 foi de $13,30 \pm 5,103$ dias e $13,50 \pm 4,126$ dias respetivamente. Como se pode verificar na Figura 19, existe, à primeira vista uma homogeneidade na amplitude interquartil nas tipologias M6 e M 4. A tipologia Rever parece mais precoce no processo de fecundação, apresentando um *outlier* moderado.

A Figura 20 mostra o número de rainhas fecundadas nos núcleos nos seguintes intervalos de tempo (em dias): [5; 10],]10; 15],]15; 20] e]20; 25]. Note-se que os núcleos que continham rainha virgem ao dia 25, foram considerados com rainha não fecundada (a mesma poderia fecundar posteriormente, mas não entrou nos cálculos da fecundação).

Com base nos valores da média, a tipologia que apresentou maior “precocidade” no processo de fecundação foi a tipologia Rever ($10,95 \pm 4,873$ dias). O valor da mediana (Figura 19) é ligeiramente mais baixo (9 dias) em relação à tipologia M6 (12 dias) e M4 (13 dias). A Figura 20 também revela um maior número de rainhas fecundadas entre o 5º e o 10º dia na tipologia Reversível ($n = 12$).

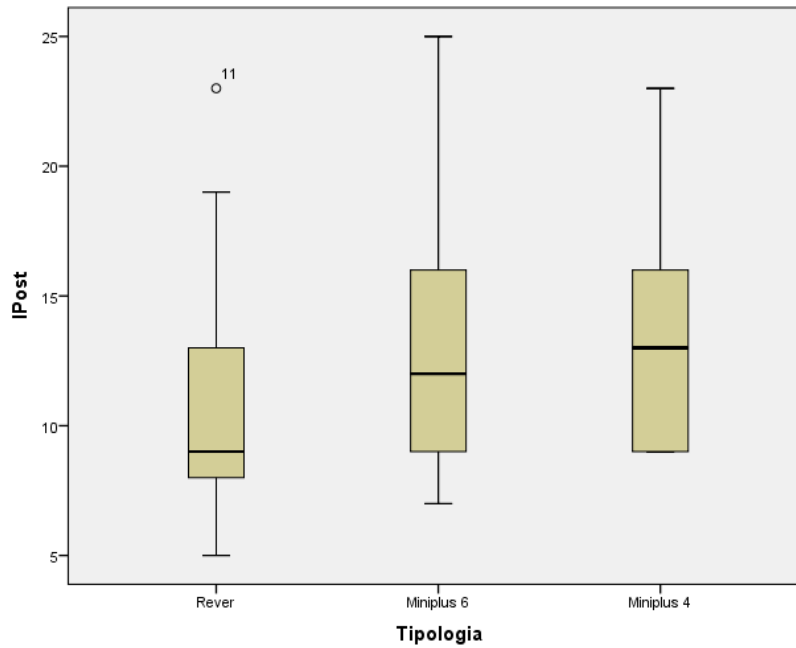


Figura 19 – Tempo desde a introdução até à fecundação (em dias).

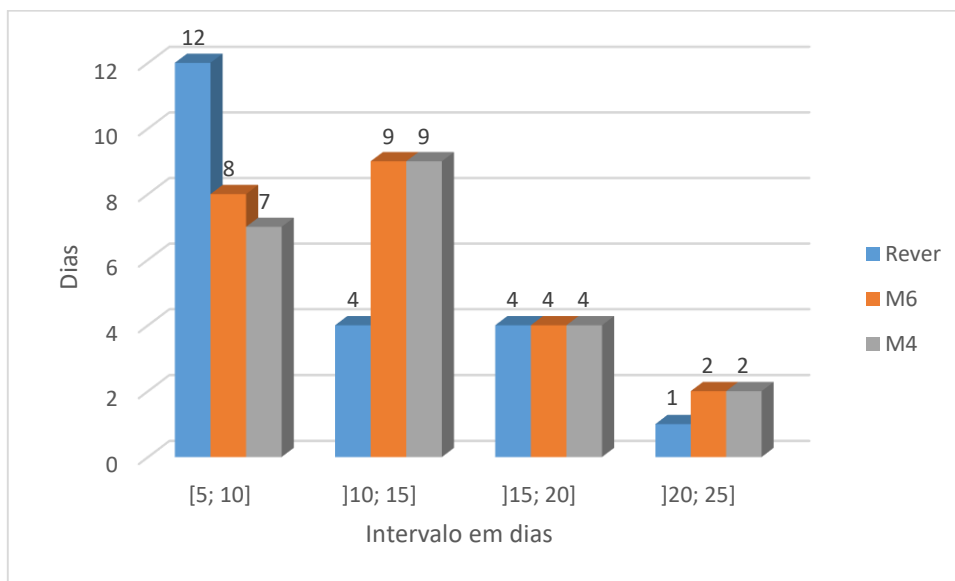


Figura 20 - Número de rainhas fecundadas em cada intervalo de tempo (desde a introdução, em dias).

Tendo em consideração que as rainhas foram introduzidas em gaiolas com o máximo de 2 dias de idade, estes resultados parecem estar de acordo com os encontrados por Lensy e Demter (1985) citado por Padilha, Campano, & Flores (2012), tendo verificado que as rainhas iniciam a sua postura entre os 7 e os 12 dias de idade, também Teixeira (1993) citado por Souza (2009) verificou que as rainhas iniciavam postura com $12,22 \pm$

1,44 dias de idade. Padilha, Campano, & Flores (2012) obtiveram valores entre 16 e 18 dias de idade para o início de postura. Silva, *et al.*, (s.d.) afirmam que aparentemente não existe nenhum núcleo de fecundação que condicione o parâmetro de fecundação.

Através dos resultados obtidos neste estudo e os dos autores referidos, parece não haver influência das tipologias Rever, M6 e M4 no início de postura da rainha. Fatores como a qualidade genética dos zângãos e das rainhas, a idade, as condições de temperatura, humidade e luminosidade podem eventualmente condicionar a fecundação e o início de postura (Heidinger, *et al.*, 2014), (Padilha, Campano, & Flores, 2012), (Perez-Sato & Ratnieks, 2006), (Souza, 2009).

5.3 – Compacidade de Criação Operculada

Para a aferição do Índice de Compacidade de Criação Operculada nas três tipologias, os dados foram obtidos dos núcleos que continham rainhas fecundadas apenas do 2º ensaio, como ilustra a Tabela 4.

Tabela 4 - Número de núcleos de fecundação em estudo para aferir o ICCO

Tipologia	Núcleos
Rever	8
M6	9
M4	10
Total	27

Os quadros onde a rainha iniciou postura foram fotografados 14 dias após o início da mesma, sobrepondo uma placa com uma circunferência de 10 cm de diâmetro, correspondendo a uma área de 78,54 cm². Posteriormente as fotografias foram analisadas no computador e registou-se o número de alvéolos totais e o número de alvéolos com criação operculada. A Figura 21 evidencia a área do quadro em estudo com a placa a delimitar a circunferência a estudar.



Figura 21 – Quadro em estudo para aferição do ICCO.

Tabela 5 – Registo dos ICCO em cada um dos lados dos quadros das tipologias em estudo (apenas nos quadros onde a rainha iniciou postura)

Ilha	M4 lado A	M4 lado B	M6 lado A	M6 lado B	Rever lado A	Rever lado B
A	-	-	219/369 = 0,593	221/352 = 0,630	-	-
C	-	-	-	-	192/371 = 0,518	205/357 = 0,574
E	293/377 = 0,777	274/356 = 0,770	275/349 = 0,788	311/366 = 0,850	356/374 = 0,952	319/370 = 0,862
F	326/366 = 0,891	309/371 = 0,833	274/357 = 0,768	274/358 = 0,765	246/378 = 0,651	252/387 = 0,651
J	308/359 = 0,858	316/366 = 0,863	270/366 = 0,738	220/352 = 0,625	320/366 = 0,874	320/366 = 0,874
L	307/367 = 0,837	303/356 = 0,851	319/376 = 0,848	317/358 = 0,885	-	-
M	303/371 = 0,817	306/363 = 0,843	-	-	198/358 = 0,553	185/367 = 0,504
N	152/358 = 0,425	145/366 = 0,396	200/350 = 0,571	283/362 = 0,782	340/389 = 0,874	323/367 = 0,880
O	263/354 = 0,743	269/373 = 0,721	-	-	344/364 = 0,945	344/364 = 0,945

P	318/374 = 0,850	302/366 = 0,825	292/373 = 0,800	290/368 = 0,788	-	-
T	303/364 = 0,832	309/365 = 0,847	236/350 = 0,674	264/352 = 0,750	110/368 = 0,299	166/360 = 0,461
W	211/355 = 0,594	222/348 = 0,638	84/364 = 0,231	75/356 = 0,211	-	-
Média ±	0,762 ±	0,759 ±	0,668 ±	0,698 ±	0,708 ±	0,719 ±
Desvio padrão	0,145	0,146	0,189	0,202	0,239	0,193

A fórmula de cálculo para a estimação do índice de compacidade de criação operculada (ICCO) foi a seguinte:

$$\text{ICCO} = \frac{\text{Número total de alvéolos operculados}}{\text{Número total de alvéolos}}$$

Como na tabela anterior, a estimação dos índices está tratada nos dois lados de cada quadro, interessa aferir a média do ICCO e o seu desvio-padrão pelo fator tipologia. Para tal, efetuaram-se os cálculos estatísticos juntando os dados dos dois lados de cada quadro na mesma amostra como mostra a Tabela 6.

Tabela 6 – Valores da média ± desvio-padrão e mediana do ICCO

	Rever	M6	M4
Média ± desvio padrão	0,714 ± 0,210	0,683 ± 0,190	0,761 ± 0,142
Mediana	0,757	0,756	0,829

As medianas evidenciam-se muito idênticas nas três tipologias (Figura 22 e Tabela 6). Existem diferenças na amplitude inter-quartil, nomeadamente na tipologia Rever, apresentando as tipologias M6 e M4 dois *outliers* moderados.

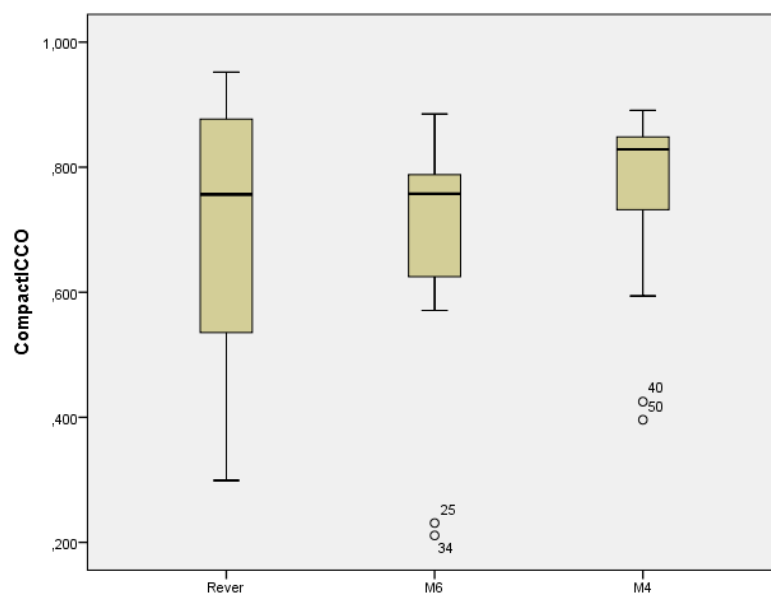


Figura 22 – Índices de compacidade de criação operculada observados nas tipologias em estudo.

Os *outliers* podem ser explicados pelas elevadas temperaturas nalguns dias do mês de agosto, tendo as colónias muitas dificuldades no arejamento dos núcleos, levando até a algumas baixas no efetivo causadas pelo calor excessivo. Outro fator a ter em conta para estes *outliers* foi o reduzido número de indivíduos constituintes de algumas colónias, devido a um deficiente povoamento ou até alguma deriva e/ ou fuga aquando do transporte dos núcleos. Isto contribui para uma deficiente alimentação das larvas no início do seu desenvolvimento colocando em causa nalguns casos a sua viabilidade.

Tabela 7 – Análise de variância (ANOVA) à compacidade de criação operculada obtida nas tipologias ($\alpha = 0,05$)

Fonte de variação	Soma dos Quadrados	Gl	Quadrado Médio	F	Valor-P
Entre Grupos	0,029	2	0,014	0,434	0,653
Erro	0,8	24	0,033		
Total	0,829	26			

Pela análise de variância (Tabela 7), pode afirmar-se que, para um nível de significância de 5%, não existe influência das tipologias Rever, M6 e M4 na compacidade de criação operculada ($P= 0,653$).

Outros fatores devem estar associados à compacidade da criação operculada tais como a entrada de néctar, administração de alimentação estimulante e a qualidade genética da própria rainha.

6 – CONCLUSÃO

Após análise dos dados obtidos concluiu-se que os núcleos de fecundação dos modelos Reversível de 5 quadros, Miniplus de 6 quadros e Miniplus de 4 quadros não exercem influência na aceitação de rainhas virgens ($P > 0,05$). O método de introdução parece exercer influência na aceitação, com a introdução de rainha em gaiola em regime de clausura a mostrar índices de aceitação mais aceitáveis.

Relativamente ao sucesso da fecundação, as tipologias Reversível de 5 quadros, Miniplus de 6 quadros e Miniplus de 4 quadros não revelaram influência na mesma ($P > 0,05$). Fatores como a idade da rainha (Padilha, Campano, & Flores, 2012), (Souza, 2009), o número de zângãos nas zonas de congregação e as condições de temperatura, humidade e luminosidade terão mais influência no parâmetro estudado.

A compacidade de criação operculada não sofre influência das tipologias de núcleos estudados ($P > 0,05$). Fatores como a qualidade genética da rainha e das suas obreiras podem influenciar mais positivamente no parâmetro estudado.

A opção por uma tipologia estudada poderá ter por base o modelo de colmeias que o apicultor utiliza e o seu aproveitamento ao nível da biomassa, dado que quanto menor é o núcleo, maior é o número de núcleos de fecundação formado. A qualidade genética das rainhas parece ser um fator mais influente nos parâmetros aceitação, fecundação e compacidade de criação operculada em comparação com as tipologias estudadas.

Uma questão que se levanta e pode servir de objeto de futuros estudos é o comportamento das rainhas fecundadas nestas tipologias em colónias de produção propriamente ditas.

Este trabalho servirá de base, para estudos futuros, por parte de empresas do setor ou associações de apicultores, politécnicos e universidades, de forma a adequarem os tamanhos da amostra para uma obtenção de dados estatisticamente mais robustos e melhoria das metodologias adotadas.

7 - BIBLIOGRAFIA

- Adam, B. (1987). *Breeding the Honeybee, A Contribution to the Science of Beebreeding*. Northern Bee Books
- Barros, A., Costa, M., & Nunes, F. (2009). *Manual de Boas Práticas na produção de Cera de Abelha*. Lisboa: Federação Nacional dos Apicultores de Portugal
- Belas, A., Almeida, C., Epifânio, A. F., Carrapiço, B., Vaz, Y., & Braz, B. S. (2014). *Qualidade do mel nacional*. Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias , 112-119
- Bienefeld, K., Ehrhardt, K., & Reinhardt, F. (2007). *Genetic evaluation in the honey bee considering queen and worker effects - A BLUP - Animal Model approach*. Apidologie 38, pp. 77-85. doi:10.1051/apido:2006050
- Bogdanov, S. (2016). *Beeswax: Production, properties*. Em beeswax book, Chapter 1, Bee Product Science
- Buchler, R., Andonov, S., Bienefeld, K., Costa, C., Hatjina, F., Kezic, N., . . . Wilde, J. (2013). *Standard methods for rearing and selection of Apis mellifera queens*. Journal of Apicultural Research 52(1) DOI 10.3896/IBRA.1.52.1.07. IBRA 2013.
- Carantón, O. (2012). *Melhoramento genético e seleção de colmeias para aumento da produção de própolis verde na apicultura comercial*. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo. Obtido em 9 de setembro de 2018, de [ile:///C:/Users/user/Downloads/DoutoradoOmarArveyCarantonMartinez%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/user/Downloads/DoutoradoOmarArveyCarantonMartinez%20(1).pdf)
- Carolino, N., Vicente, A., Guerrero, M., Silva, F., Neto, R., & Carolino, M. (2017). *A genética ao serviço da produção animal*. Em R. Santos (Ed.), *Comunicações da Jornada de Transferência do Conhecimento Científico e Tecnológico*. Coleção C3i nº9, p. 100. Instituto Politécnico de Portalegre. doi:ISBN: 978-989-8806-20-8
- Casaca, J. (2010). *Manual de produção de pólen e própolis*. Lisboa: Federação Nacional dos Apicultores de Portugal.
- Cobey, Susan. (2005). *Cloake board method of queen rearing and use of cloak board for banking purposes*. Ohio State University. Obtido de www.delta-business.com a 15 de agosto de 2018.

- Cobey, Susan. (2007). *Comparison studies of instrumentally inseminated and naturally mated honey bee queens and factors affecting their performance*. *Apidologie* 38 pag. 390-410. DOI: 101051/apido: 2007029.
- Decreto-lei nº 214/2003. (18 de setembro de 2003). *Diário da República - I Série A*.
- Delaphane, K., Steen, J., & Guzman-Novoa, E. (2013). *Standard methods for estimating strength parameters os Apis mellifera colonies*. *Journal os Apicultural research* 52 (1).
- El- Aidy, W., Ebeid, A. A., Sallam, A. E.-R., Muhammad, I., Abbas, A., Kamal, M., & Sohrab, S. (2015). *Evaluation of propolis, honey, and royal jelly in amelioration of peripheral blood leukocytes and lung inflammation in mouse conalbumin-induced asthma model*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 22, 780-788.
- Fernandinho, J. (2003). *Tratado prático de apicultura*. Litexa Editora.
- Fert, G. (2013). *Apicultura - Cría de reinas*. ISBN: 978-2-7466-3735-1.
- Genc, C., Emsen, B., & Dodologlu, A. (2005). *Effects of Rearing Period and Grafting Method*, *Journal of Applied Animal Research*, 27:1, pp. 45-48. doi:10.1080/09712119.2005.9706535
- Godinho, J. (2006). *I Curso Livre de Apicultura da Escola Superior Arária de Santarém. Apresentação em CD - Powerpoint*. Santarém. Obtido em 8 de setembro de 2018
- Heep, K., & Cella, I. (2016). *Substituição de rainhas em colmeias de Apis mellifera*. Florianópolis: Epagri/DEMC.
- Heidinger, I., Meixner, M., Berg, S., & Buchler, R. (2014). *Observation of the Mating Behavior of Honey Bee (Apis mellifera L.) Queens Using Radio-Frequency Identification (RFID): Factors Influencing the Duration and Frequency of Nuptial Flights*. *Insects* (5), pp. 513-527. doi:doi:10.3390/insects5030513
- Kostarelou-Damiamidou, M., Thrasylvoulou, A., & Bladenopoulos, K. (1995). *Brood and honey production of honeybee colonies requeened at various frequencies*. *Journal of Apicultural Research*, 34, pp. 9-14.
- Lopes, C. (2014). *Otimização das condições de produção da Geleia Real e avaliação de parâmetros da qualidade do produto final*. Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária de Bragança para obtenção do Grau de Mestre em Tecnologia da Ciência Animal, Instituto Politécnico de Bragança, Escola Superior Agrária, Bragança.

- Manrique, A., & Soares, A. (2002). *Início de um programa de seleção de abelhas africanizadas para a melhoria na produção de propolis e seu efeito na produção de mel*. Obtido em 11 de outubro de 2018, de Redalyc: <http://www.redalyc.org/html/339/33906907/>
- Marcucci, M. (1995). *Chemical composition, biological properties and therapeutic activity*. Em *Apidologie* (Ed.), 26(2), pp. 83-89. Springer Verlage. doi:<hal-00891249>
- Mattos, I. M. (2016). *Estudo do melhoramento genético no sistema produtivo de pólen apícola e suas implicações na saúde das abelhas Apis mellifera L.* Universidade de São Paulo, Departamento de Medicina de Ribeirão Preto. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo. Obtido em 9 de setembro de 2018, de <file:///C:/Users/user/Downloads/IGORMEDICIDEMATTOSOrig.pdf>
- Morse, R., & Hooper, T. (1986). *Enciclopedia Ilustrada de Apicultura* (Vol. Coleção Euroagro). Publicações Europa-América.
- Neto, J. (2009). *Manual de criação de rainhas autoctones em Portugal*. Lisboa: FNAP - Federação Nacional dos Apicultores de Portugal.
- Neto, J. (sd). *Workshop de criação de rainhas*. APILEGRE. Consultado a 18 de agosto, em http://fnap.pt/web/wp-content/uploads/documento_cnt_projectos_41.pdf
- Nogué, S., Long, P., Eycott, A., de Nascimento, L., Fernández-Palacios, J., Petrokofsky, G., . . . Willis, K. (2016). *Pollination service delivery for European crops: Challenges and opportunities*. *Ecological Economics*, 128, pp. 1-7.
- Padilha, F., Campano, F., & Flores, J. (2012). Effect of age on survival and fertility of honeybee queens (*Apis mellifera iberiensis*). *Actas Iberoamericanas de Conservación Animal* (pp. 175-179). Departamento de Zoología. Universidad de Cordoba. Campus Universitario de Rabanales.
- Pereira, D., & Maracaja, P. (2013). *Produção de rainhas (Apis mellifera) e taxa de fecundação natural em quatro municípios do nordeste brasileiro*. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*. Obtido em 15 de agosto de 2018, de <https://www.researchgate.net/publication/263766602>
- Perez-Sato, J., & Ratnieks, F. L. (2006). *Comparing alternative methods of introducing virgin queens (Apis mellifera) into mating nucleus hives*. *Apidologie* 37, pp. 571-576.

- Perez-Sato, J., Karcher, M. H., Hughes, W. O., & Ratnieks, F. L. (2008). *Direct introduction of mated and virgin queens using smoke: a method that gives almost 100% acceptance when hives have been queenless for 2 days or more*. Journal of Apicultural Research and Bee World 47 (4) (pp. 243-250). IBRA 2008.
- Plano Apícola Nacional - Triénio 2017-2019. Gabinete de planeamento, políticas e administração geral. Obtido em 4 de setembro de 2018, em http://www.gpp.pt/images/Programas_e_Apoios/Apoios_de_Mercado/PAN/PAN_2017-2019.pdf
- Rodrigues, M. C. (2015). *Estimativas de heritabilidade e correlação genética para características morfométricas de zangãos Apis mellifera L. afracanizados*. Dissertação de Mestrado em Engenharia Zootécnica, Universidade de Évora, Departamento de Zootecnia, Évora.
- Santos, A. (28 de fevereiro de 2013). Métodos de seleção. Obtido em 8 de agosto de 2018, de docs.google.com/viewer?a=v&pid=sites&srcid=ZGVmYXVsdGRvbWFpbnxhbGV4YW5kcmVsZXRldXJ8Z3g6NzRlZTI2OWU5YjI0NGM1Mg
- Sereia, M. (2009). *Suplementos priteicos para abelhas africanizadas submetidas à produção de geleia real*. Maringá - Estado do Paraná.
- Shahzad, Q., Mehmood, M., Khan, H., ul Husna, A., Qadeer, S., Azam, A., . . . Ahmad, M. (2016). *Royal jelly supplementation in semen extender enhances post-thaw quality and fertility of Nili-Ravi buffalo bull sperm*. Animal Reproduction Science, 167, pp. 83-88.
- Silva, E., Netto, J., Silva, R., Moreti, A., Alves, M., & Otsuk, I. (s.d.). Apacame. Obtido em 10 de setembro de 2018, de Tecnologia Apícola: www.apacame.org.br/mensagemdoce/43/tecno.htm
- Simeunovic, P., Stevanovic, J., Cirkovic, D., Radojivic, S., Lakic, N., Stanistic, L., & Staminirovic, Z. (2014). *Nosema ceranae and queen age influence the reproduction and productivity of the honey bee colony*. Journal of Apicultural Research, 53(5), pp. 545-554. doi: DOI: 10.3896/IBRA.1.53.5.09
- Souza, D. A. (2009). *Aspectos reprodutivos de rainhas africanizadas (Apis mellifera L.)*. Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da USP, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciências Área Entomologia, Universidade de São Paulo, Departamento de

Biologia, Ribeirão Preto - SP. Obtido de <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/59/59131/tde-23042010-154811/pt-br.php>

Teixeira, J. (2017). *Estudo da suplementação alimentar na criação e performance de abelhas rainhas apis mellifera*. Vila Real. Dissertação de mestrado em engenharia agrônoma, Universidade de Trás-os-montes e Alto Douro.

Teixeira, J., Rangel-Figueiredo, T., & Almeida, P. (2015). *O Efeito da Suplementação alimentar na criação e desempenho de abelhas rainhas Apis Mellifera*. Em Laboratório apícola - *LabApis* UTAD (Ed.), *IV Congresso Ibérico de Apicultura*.

Toledo, V., & Mouro, G. (2005). *Produção de Geléia Real com Abelhas Africanizadas Seleccionadas e Cárnicas Híbridas*. *Revista Brasileira de Zootecnia* , 34, pp. 2085-2092.

Vencovsky, R., & Kerr, W. (1982). *Melhoramento Genético em Abelhas II. Teoria e avaliação de alguns parâmetros de seleção*. *Rev. Brasil. genet.* V, 3, pp. 493-502. Obtido em 12 de outubro de 2018, de <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/48154/1/Melhoramento-genetico-3.pdf>

ENDEREÇO ELETRÔNICO:

<https://abelhasabeira.com/alveolos-reais-como-os-interpretar/> . Consultado a 10-7-2018.

<https://abelhasabeira.com/avaliacao-das-rainhas-o-caso-de-rainhas-de-qualidade/> . Consultado a 24-8-2018.

<https://abelhasabeira.com/avaliacao-de-rainhas-o-caso-de-rainhas-duvidosas/> . Consultado a 24-8-2018.

www.apacame.org.br/mensagemdoce/43/tecno.htm. Consultado a 10-9-2018.

www.google.pt/maps/preview. Consultado a 10-9-2018.

<https://lousamel.pt/>. Consultado a 15-8-2018.

<http://malijo-apicultura.blogspot.pt/2012/01/explicacao-do-metodo-de-miller.html>.
Consultado a 5 de dezembro de 2017.

<http://montedomel.blogspot.com/2009/02/desdobramentos-de-colmeias-os-casos.html> .
Consultado a 10 de setembro de 2018.

<http://threeriversbeekeepers.com/documents/CloakeBoardMethod.pdf> . Consultado a
10-01-2018.

<https://www.youtube.com/watch?v=-Rz42U-izfk> . Consultado a 08-08-2018.

ANEXOS

ANEXO I

CARACTERIZAÇÃO DO LOCAL DE ESTÁGIO

A “APICANT Queen Bees” é a designação comercial de uma empresa em nome individual, formalmente constituída em 2012, com sede no município de Cantanhede.

Atuando no setor da apicultura, desde a sua génese que se especializou no desenvolvimento de processos de produção, criação e seleção de Abelhas Rainhas *Apis mellifera* e enxames. Está equipada com Unidade de Produção Primária e Laboratório de Produção de Rainhas, possui apiários de produção e fecundação localizados nas sub-regiões da Bairrada e Gândara, frações integrantes do concelho de Cantanhede. Esta região possui elevada aptidão para a produção de insetos, a que as manchas de floresta nativa contribuem para um peculiar microclima que proporciona a criação e fecundação de rainhas durante todo o ano.

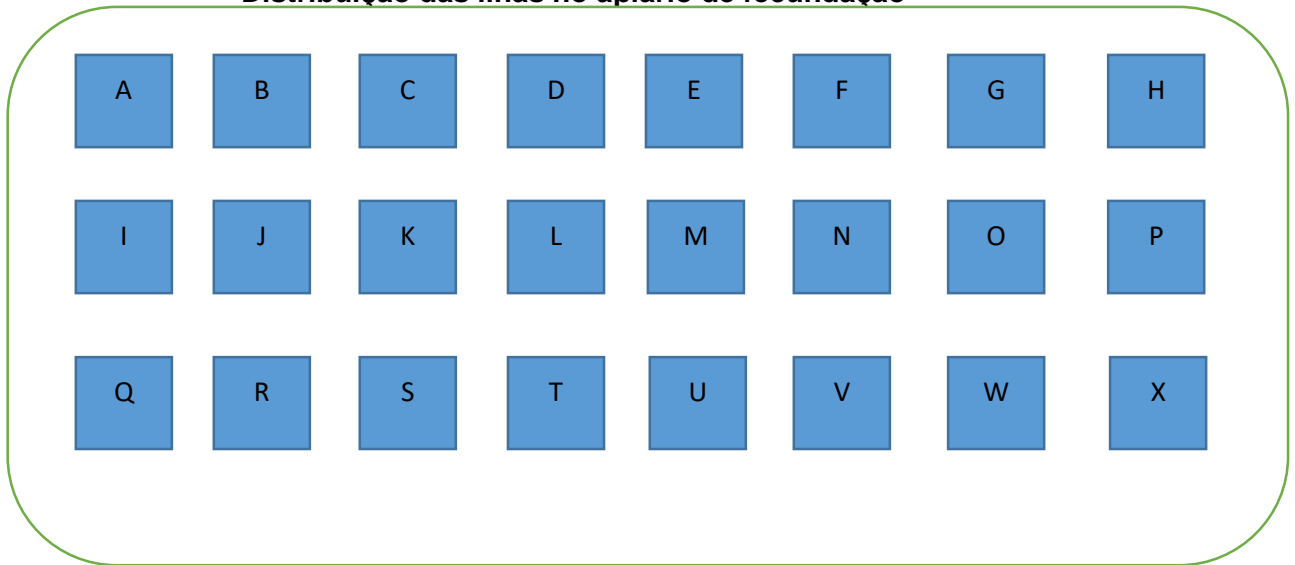
A exploração apícola está dimensionada para 400 colmeias e algumas centenas de núcleos de fecundação de múltiplos modelos, o que se traduz numa capacidade potencial produtiva anual de 2000 rainhas fecundadas, 23.400 rainhas virgens e 600 enxames.

Em 2015 a APICANT celebrou um protocolo de cooperação com a Universidade de Trás-os-montes e Alto Douro, ação que fortaleceu o permanente desígnio de maximizar os aspetos qualitativos dos fatores de produção nas Rainhas *Apis mellifera*.

Conscientes da relevância do relacionamento entre o setor empresarial e a investigação científica, esta empresa mantém-se em permanente disponibilidade para colaborar em processos práticos de investigação relacionados com a apicultura, entomologia e agronomia, criando para o efeito as condições necessárias à realização de estágios curriculares.

ANEXO II

Distribuição das ilhas no apiário de fecundação



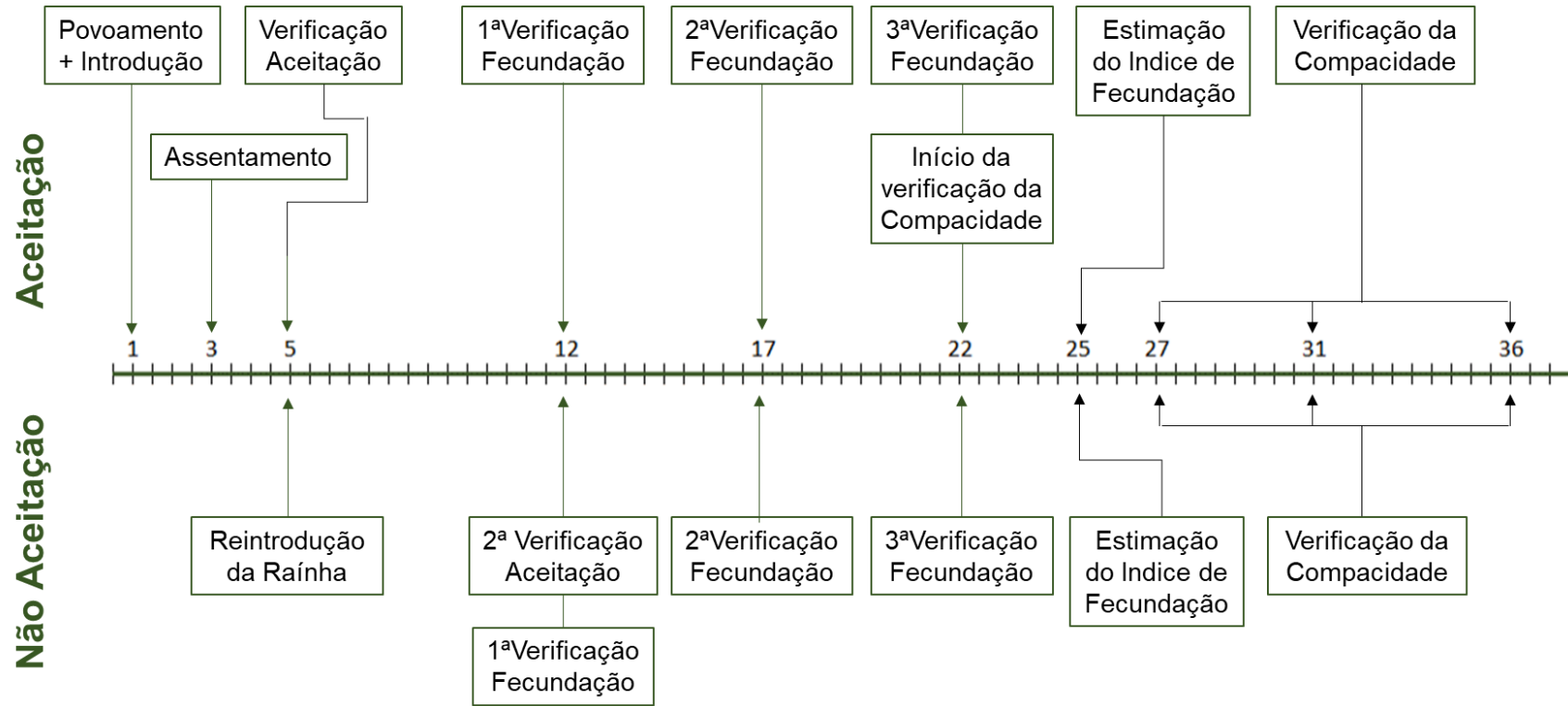
ANEXO III

Sequências das tipologias de núcleos de fecundação nas ilhas

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
(BCA)	(BCA)	(ACB)	(ACB)	(BAC)	(ABC)	(CBA)	(BAC)	(ACB)	(CBA)
K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T
(BAC)	(ABC)	(ACB)	(ABC)	(CBA)	(BAC)	(BCA)	(ABC)	(CAB)	(CBA)
U	V	W	X	-	-	-	-	-	-
(CAB)	(BCA)	(CAB)	(CAB)	-	-	-	-	-	-

Legenda: A – Rever; B – M6; C – M4

ANEXO IV - Fluxograma das operações



ANEXO V

Lista de aceitações nas tipologias de núcleos de fecundação, por tipologia

		Aceitação		Total
		Não aceite	Aceite	
Tipologia Rever	Número	13	23	36
	% em Tipologia	36,1%	63,9%	100,0%
	% em Aceitação	34,2%	32,9%	33,3%
	% do Total	12,0%	21,3%	33,3%
M6	Número	11	25	36
	% em Tipologia	30,6%	69,4%	100,0%
	% em Aceitação	28,9%	35,7%	33,3%
	% do Total	10,2%	23,1%	33,3%
M4	Número	14	22	36
	% em Tipologia	38,9%	61,1%	100,0%
	% em Aceitação	36,8%	31,4%	33,3%
	% do Total	13,0%	20,4%	33,3%
Total	Número	38	70	108
	% em Tipologia	35,2%	64,8%	100,0%
	% em Aceitação	100,0%	100,0%	100,0%
	% do Total	35,2%	64,8%	100,0%

34,2% da não aceitação, ocorreu na tipologia Reversível

A tipologia Rever teve 36,1% de não aceitação

Ocorreu 64,8% de aceitação em todo o apiário

ANEXO VI

Lista de fecundações nas tipologias de núcleos de fecundação, por tipologia

			Fecundação		Total
			Não Fecunda	Fecunda	
Tipologia Rever	Número	12	21	33	
	% em Tipologia	36,4%	63,6%	100,0%	
	% em Fecundação	41,4%	31,8%	34,7%	
	% do Total	12,6%	22,1%	34,7%	
M6	Número	8	23	31	
	% em Tipologia	25,8%	74,2%	100,0%	
	% em Fecundação	27,6%	34,8%	32,6%	
	% do Total	8,4%	24,2%	32,6%	
M4	Número	9	22	31	
	% em Tipologia	29,0%	71,0%	100,0%	
	% em Fecundação	31,0%	33,3%	32,6%	
	% do Total	9,5%	23,2%	32,6%	
Total	Número	29	66	95	
	% em Tipologia	30,5%	69,5%	100,0%	
	% em Fecundação	100,0%	100,0%	100,0%	
	% do Total	30,5%	69,5%	100,0%	

ANEXO VII

Tabelas de frequências nas tipologias

Tabela de frequências para a tipologia reversível

Classe	ni	fi	Ni	Fi
[5; 10]	12	0,57	12	0,57
]10; 15]	4	0,19	16	0,76
]15; 20]	4	0,19	20	0,95
]20; 25]	2	0,05	21	1
	21	1		

Número de rainhas fecundadas ao fim de 25 dias

Tabela de frequências para a tipologia Miniplus 6

Classe	ni	fi	Ni	Fi
[5; 10]	8	0,35	8	0,35
]10; 15]	9	0,39	17	0,74
]15; 20]	4	0,17	21	0,91
]20; 25]	2	0,09	23	1
	23	1		

Número de rainhas fecundadas ao fim de 25 dias

Tabela de frequências para a tipologia Miniplus 4

Classe	ni	fi	Ni	Fi
[5; 10]	7	0,32	7	0,32
]10; 15]	9	0,41	16	0,73
]15; 20]	4	0,18	20	0,91
]20; 25]	2	0,09	22	1
	22	1		

Número de rainhas fecundadas ao fim de 25 dias

