

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE MESTRADO**

**AVALIAÇÃO MORFOMÉTRICA DE *Varroa destructor* E O IMPACTO DO  
VÍRUS DEFORMADOR DA ASA NA SIMETRIA DE *Melipona subnitida***

**FABRICIO CHAGAS SOBRINHO**

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA  
OUTUBRO - 2020**

**AVALIAÇÃO MORFOMÉTRICA DE *Varroa destructor* E O IMPACTO DO  
VÍRUS DEFORMADOR DA ASA NA SIMETRIA DE *Melipona subnitida***

**FABRICIO CHAGAS SOBRINHO**

Engenheiro Agrônomo

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2018

Dissertação apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito para a obtenção do Título de Mestre em Ciências Agrárias (Área de Concentração: Fitotecnia).

**Orientadora:** Profa. Dra. Fabiane de Lima Silva

**Coorientador:** Prof. Dr. Carlos Alfredo Lopes de Carvalho

**Coorientadora:** Profa. Dra. Lorena Andrade Nunes

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA**

**OUTUBRO - 2020**

## FICHA CATALOGRÁFICA

C443a Chagas Sobrinho, Fabricio.  
Avaliação morfométrica de *Varroa destructor* e o impacto do vírus deformador da asa na simetria de *Melipona subnitida* / Fabricio Chagas Sobrinho. \_ Cruz das Almas, BA, 2020. 69p.; il.

Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Fabiane de Lima Silva  
Co-Orientador: Prof. Dr. Carlos Alfredo Lopes de Carvalho  
Co-Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Lorena Andrade Nunes

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Mestrado em Ciências Agrárias.

1. Apicultura. 2. Meliponicultura 3. Saúde das Abelha.  
I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrária, Ambientais e Biológicas. II.Título.

CDD: 638.1

Ficha elaborada pela Biblioteca Universitária de Cruz das Almas - UFRB.  
Responsável pela Elaboração - Neubler Nilo Ribeiro da Cunha (*Bibliotecário - CRB5/1578*)  
(os dados para catalogação foram enviados pelo usuário via formulário eletrônico)

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE MESTRADO**

**AVALIAÇÃO MORFOMÉTRICA DE *Varroa destructor* E O IMPACTO DO  
VÍRUS DEFORMADOR DA ASA NA SIMETRIA DE *Melipona subnitida***

COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE  
FABRICIO CHAGAS SOBRINHO

Realizada em 16 de Outubro de 2020

---

Prof. Dra. Fabiane de Lima Silva  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB  
Examinadora Interna (Orientador)

---

Geni da Silva Sodré  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB  
Examinadora Interna

---

Marilene Fancelli  
Embrapa Mandioca e Fruticultura  
Examinadora externa

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus pela provação.

A todos os meus familiares, em especial a minha mãe Conceição e meu irmão Fernando, que me incentivaram nesse grande desafio.

A minha companheira Arlete Moura, por todo carinho e incentivo.

Aos meus orientadores, Fabiane, Carlos Alfredo e Lorena por todas as lições.

A Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, pela oportunidade.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo.

A todo o Grupo de Pesquisa INSECTA, por tudo que me proporcionou como pessoa e como profissional. Agradecimentos especiais a Cerilene e Irana por contribuírem diretamente com a realização desse trabalho. Muito obrigado pela carinho!

A Carine Mascena Peixoto e Flaviane Santos de Souza pelos conselhos e amostras cedidas.

Ao irmão que o Grupo me proporcionou, Roberto Sampaio.

A dona Gal, por todas as palavras de conforto e incentivo.

A todos aqueles que contribuíram com essa etapa, meu muito obrigado.

*“Medo é a ferramenta de um Diabo idealizado pelo homem. A fé inabalável em si mesmo é tanto a arma que derrota este Diabo quanto a ferramenta que o homem utiliza para construir uma vida de sucesso. E é mais do que isso. É uma conexão direta com as forças irresistíveis do universo que apoiam o homem que não acredita em fracassos e derrotas, senão como experiências meramente temporárias.”*

*Napoleon Hill*

## SUMÁRIO

Página

RESUMO

ABSTRACT

REFERENCIAL TEÓRICO .....1

ARTIGO 1

ANÁLISE POPULACIONAL DO ÁCARO *Varroa destructor* (ANDERSON E TRUEMAN, 2000) NO NORDESTE DO BRASIL.....23

ARTIGO 2

ASSIMETRIA GEOMÉTRICA EM *Melipona subnitida* INFECTADAS COM O VIRUS DEFORMADOR DA ASA (DWV).....49

CONSIDERAÇÕES FINAIS.....62

## **AVALIAÇÃO MORFOMÉTRICA DE *Varroa destructor* E O IMPACTO DO VÍRUS DEFORMADOR DA ASA NA SIMETRIA DE *Melipona subnitida***

Autor: Fabricio Chagas Sobrinho

Orientadora: Dra. Fabiane de Lima Silva

**RESUMO:** A criação da abelha *Apis mellifera* é de elevada importância no cenário agropecuário mundial, gerando renda para produtores e garantido a polinização de espécies agrícolas e silvestres. Entretanto, nos últimos anos o número de colônias perdidas foi expressivo, sendo que uma das prováveis causas são os parasitas, como o ácaro *Varroa destructor*, tanto pelos danos diretos de sugar a hemolinfa das abelhas, como pelo seu potencial de transmissão de vírus patogênicos. Alguns desses vírus também são encontrados em outras abelhas sociais, como *Melipona subnitida*. Este trabalho teve como objetivo verificar se há diferenças na forma e no tamanho do ácaro *V. destructor* proveniente de diferentes populações do Nordeste do Brasil e avaliar a presença de assimetria da forma e do tamanho das asas em função das variantes A e C do DWV. Para isso, foi utilizada a técnica de morfometria geométrica. Houve diferenças estatísticas entre as populações do ácaro quanto à forma ( $P < 0,05$ ), sendo que as populações que mais diferiram das demais foram as oriundas de Cândido Sales/BA - Rafael Jambeiro/BA (região ingnal) e Areial/PB – Barra/BA (região genitoventral) pela AVC e Validação Cruzada. Também foram encontradas diferenças entre os ácaros de diferentes populações com relação ao tamanho ( $P < 0,05$ ) pelo teste de *Kruskal Wallis*. Os menores indivíduos foram coletados em Maracás/BA e os maiores em Barra/BA, com base na região inguinal. Para a região genitoventral, os menores em Rafael Jambeiro/BA e os maiores foram encontrados no município de Areial/PB. Houve diferença estatística na avaliação da assimetria em *M. subnitida*, contudo não foi encontrada significância em função das variantes do vírus DWV.

**Palavras-chave:** Ácaro, Apicultura, Meliponicultura, Saúde das abelhas, Vírus.



## **MORPHOMETRIC EVALUATION OF *Varroa destructor* AND THE IMPACTS OF THE WING DEFORMER VIRUS ON THE MORPHOMETRY *Melipona subnitida***

Author: Fabricio Chagas Sobrinho

Adviser: Dra. Fabiane de Lima Silva

**ABSTRACT:** The creation of the *Apis mellifera* bee is of high importance in the world agricultural scenario, generating income for producers and guaranteeing the pollination of agricultural and wild species. However, in recent years, the number of colonies lost has been significant, one of the probable causes being parasites, such as the *Varroa destructor* mite, both due to the direct damage of sucking the bees' hemolymph, as well as its potential for transmitting pathogenic viruses. Some of these viruses are also found in other social bees, such as *Melipona subnitida*. This work aimed to determine the morphometric variations of *Varroa destructor* from different municipalities in the Northeast of Brazil and to investigate if there are changes in the symmetry of wings of *M. subnitida* infected with several variants of the wing deforming virus (DWV). There were statistical differences between the mite populations in terms of form ( $P < 0.05$ ), with the populations that most differed from the others being those from Cândido Sales/BA - Rafael Jambeiro/BA (ingnal region) and Areial/PB – Barra/BA (genitoventral region) AVC and Cross Validation. Differences were also found between the mites of different populations in relation to size ( $P < 0.05$ ) by the Kruskal Wallis test. The smallest individuals were collected in Maracas/BA and the largest in Barra/BA, based on the inguinal region. For the genitoventral region, the smallest in Rafael Jambeiro/BA and the largest were found in the municipality of Areial/PB. There was a statistical difference in the evaluation of asymmetry in *M. subnitida*, however, no significance was found due to the variants of the DWV virus.

**Keywords:** Bee Health, Beekeeping, Meliponiculture, Mite, Virus.

## REFERENCIAL TEÓRICO

As abelhas desempenham funções estratégicas no ecossistema, sendo consideradas um dos mais importantes agentes polinizadores. Além disso, esses insetos ainda são responsáveis pela produção de mel, própolis, pólen, cera, geleia real, dentre outros produtos (MICHENER, 2007).

A estreita relação ecológica das plantas com os polinizadores é do tipo mutualista e essa interação pode ser considerada umas das mais importantes, onde as plantas fornecem o alimento e os polinizadores transportam o pólen de uma planta para outra, auxiliando na reprodução destas (OLLERTON; WINFREE; TARRANT, 2011; MENZ et al., 2011; CARDINAL; BUCHMANN; RUSSELL, 2018). Durante o forrageamento, os grãos de pólen ficam aderidos ao corpo das abelhas e são transportados de uma flor para outra (IMPERATRIZ-FONSECA; NUNES-SILVA, 2010) promovendo a polinização.

Estudos sobre essa relação comprovaram que 80% das culturas agrícolas dependem da polinização realizada por esses organismos (GIANNINI et al., 2017). Esse serviço ecossistêmico gera aumento na produção e melhoria na qualidade dos frutos e grãos e conseqüentemente aumentam os ganhos agrícolas, mundiais, em aproximadamente 180,52 bilhões de dólares por ano (GALLAI et al., 2009).

Determinar o valor econômico da polinização e outros serviços ecossistêmicos é difícil devido à dificuldade de avaliar todos os efeitos do serviço (MAJEWSKI, 2018). Este autor ressalta que a contribuição da polinização representa apenas 0,4% dos serviços ecossistêmicos, ainda assim, proporcionam bilhões de dólares em ganhos a nível global.

No Brasil, estudos realizados com 141 culturas, provaram que destas, aproximadamente 60% dependem diretamente do polinizador. Além disso, foi percebido aumento na produção agrícola nas últimas décadas, resultando também no crescimento da demanda por agentes polinizadores. Assim, esses agentes carecem de grande atenção, uma vez que, os valores econômicos gerados pelos serviços de polinização no Brasil estão em torno de 12 bilhões de dólares anuais, o que equivalem a 30% do valor da produção agrícola (GIANNINI et al., 2015).

A produção de mel, também, gera uma excelente fonte de renda para os produtores. O Brasil tem lugar de destaque no cenário internacional, ocupando a 9ª posição do *ranking* mundial dos exportadores no ano de 2016, chegando a pouco mais de 92 milhões de dólares (ABEMEL, 2019). Desse montante, a região Nordeste é responsável por aproximadamente 27,45% da produção, além de 23,70% do número de estabelecimentos agropecuários em que são desenvolvidas atividades com apicultura no país (IBGE, 2017).

A região Nordeste também possui um dos maiores potenciais apícolas do mundo para produção de própolis, pólen, geleia real, apitoxina e cera, sendo que estes produtos podem atingir preços superiores ao mel. A região ainda apresenta potencial para produzir produtos orgânicos em quantidade e de elevado valor comercial internacional (DE QUEIROGA et al., 2015). Estes produtos podem ser obtidos pela criação de abelhas sociais com ferrão (Apini) e sem ferrão (Meliponini).

### ***Apis mellifera* Linnaeus, 1758**

As localidades estão diretamente relacionadas com as características morfológicas e comportamentais específicas dessa abelha (TOFILSKI, 2008). *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) tem ampla distribuição mundial e possui vinte e duas subespécies conhecidas, as quais podem ser encontradas entre a Europa, África e Ásia (ALATTAL et al., 2014).

No Brasil, *A. mellifera* é um polihíbrido resultante do cruzamento de quatro subespécies europeias (*A. m. ligustica*, *A. m. carnica*, *A. m. caucasica*, *A. m. mellifera*), com uma espécie africana (*A. m. scutellata*), que é conhecido como abelha africanizada (COFFEY, 2007; RANGEL et al., 2016).

Apesar de ser formada pelo cruzamento de espécies europeias e africana, existe o predomínio das características da abelha africana, como ciclo de vida curto, crescimento populacional acelerado, grande tendência à enxameação, grande defensividade e resistência a doenças (DE JONG, 1996). Além de *A. mellifera*, na região Nordeste do Brasil são exploradas comercialmente abelhas sociais sem ferrão, das quais se destaca *Melipona subnitida*, como a mais criada em todo o sertão (FONSECA; KOEDAM; HRNCIER, 2017).

### ***Melipona subnitida* Ducke, 1910**

A ocorrência de *Melipona subnitida* (Hymenoptera: Meliponini) é registrada em todos estados da região Nordeste do Brasil, que apresentam o clima semiárido (FONSECA, KOEDAM, HRNCIER, 2017), porém em estudos mais recentes, Correia-Oliveira et al. (2018), afirmaram que esta espécie não ocorre no estado de Sergipe.

A espécie *M. subnitida*, popularmente conhecida como jandaíra, é um polinizador essencial para a vegetação do bioma caatinga, sendo assim, elemento crucial para a preservação desse ambiente (BONATTI et al., 2014). Além da polinização, a produção de mel é uma excelente alternativa para complementação de renda dos agricultores familiares, uma vez que, a atividade apresenta baixo custo e facilidade de manejo das colônias (SILVA et al., 2019).

O mel de jandaíra possui grande aceitação no mercado, dadas as suas características organolépticas, em especial, a suavidade do sabor e coloração frequentemente clara, garantindo boa rentabilidade ao produtor (FONSECA, KOEDAM, HRNCIER, 2017).

A meliponicultura, criação racional de abelhas sociais sem ferrão, portanto é uma excelente opção para a preservação da espécie e fator preponderante para mitigar os impactos causados por ações antrópicas, em especial o desmatamento e uso de agrotóxicos, os quais diminuem a ocorrência de ninhos naturais (SILVA et al., 2019).

Outro fator importante a ser observado são os aspectos relacionados à sanidade dessa espécie, principalmente após a detecção do vírus deformador da asa (DWV) realizado por Souza et al. (2019), que relataram a presença da variante A e C do vírus em todas as amostras de *M. subnitida* analisadas.

### **Sanidade das abelhas**

Todo organismo vivo, entre eles as abelhas, pode desenvolver algum tipo de patologia seja pelo contato com microrganismos ou em decorrência de parasitismo, podendo com isso, comprometer o desenvolvimento de toda a

colônia, e as vezes até dizimá-la (REYBROECK et al., 2012). Para Dietemann et al. (2012), entre esses agentes estão os fungos, bactérias, vírus e ácaros.

As abelhas africanizadas são mais resistentes às bactérias da cria pútrida americana e da cria pútrida europeia, ao fungo da cria giz e, também, ao ácaro *Varroa destructor* (OLINTO et al., 2015).

Um dos mecanismos naturais de defesa das abelhas é o comportamento higiênico que é caracterizado pela capacidade de detecção e remoção de crias mortas e/ou doentes dentro da colmeia (BIGIO; SCHÜRCH; RATNIEHS, 2013; OLINTO et al., 2015). Boutin et al. (2015) mostram que o comportamento higiênico depende de um conjunto limitado de genes, dos diferentes padrões de regulação (nível de expressão e processos biológicos) que podem explicar diferenças entre os comportamentos (higiênicos e não higiênicos).

Pesquisas com sanidade apícola trazem informações importantes de diversos patógenos, parasitos e predadores que estão sendo associados ao distúrbio do colapso das colônias (CCD). O fenômeno conhecido por CCD teve seus primeiros registros nos Estados Unidos nos anos de 2006-2007 (VANENGELSDORP et al., 2007; 2008). Na Europa, resultou em grandes prejuízos, uma vez que muitos agricultores dependem do serviço de polinização realizados por esses insetos (BENJAMIN; MCCALLUM, 2009). No Brasil, os principais e primeiros relatos foram registrados principalmente na região Sudeste, com perda de colônias com sintomas semelhantes ao CCD (TEIXEIRA et al., 2008).

O CCD é caracterizado pela morte abrupta da colônia, sem sinais de abelhas mortas, dentro da colônia ou no chão próximo à entrada da colmeia. Além disso, é observada a presença de alimento dentro da colmeia (SPIVAK et al., 2011). As perdas levam a danos econômicos para os apicultores que dependem diretamente das abelhas. Pesquisa de Regan (2017) relataram perdas de 44 % das colônias em relação ao ano anterior, sendo a segunda maior perda registrada por apicultores na última década nos EUA.

Dentre os fatores que podem estar associado a essas perdas elevadas de colônias estão o cultivo de plantas geneticamente modificadas e parasitismo pelo ácaro *V. destructor* (DE MIRANDA; CORDONI; BUDGE, 2010).

***Varroa destructor*** (Anderson & Trueman, 2000).

Os ácaros *Varroa* estão classificados dentro do Filo Artrópoda, Classe Aracnidea, Subclasse Acari, Superordem Parasitiformes, Ordem Mesostigmata, Família Varroidea e Gênero *Varroa* (LINDQUIST; KRANTZ; WALTER, 2009). Quatro espécies de *Varroa* são conhecidas: *V. jacobsoni* (OUDEMANS, 1904), *V. underwoodi* (DELFINADO-BAKER; AGGARWAL, 1987), *V. rindereri* (DE GUZMAN; DELFINADO-BAKER, 1996) e *V. destructor* (ANDERSON; TRUEMAN, 2000).

*V. destructor* é um ectoparasita obrigatório que ocorre em abelhas africanizadas (*A. mellifera*) (ANDERSON; TRUEMAN, 2000) causador da doença Varroatose. O parasito se alimenta da hemolinfa de abelhas adultas e de pupas. Essa perda de hemolinfa durante o desenvolvimento ontogenético diminui o peso da abelha (DE JONG; MORSE; EICKWORT, 1982) e a depender do nível de infestação, os zangões parasitados podem perder de 11-19% de seu peso corporal e isso leva a uma diminuição no desempenho de seu voo (DUAY; DE JONG; ENGELS, 2002; DUAY; DE JONG; ENGELS, 2003). Além disso, a longevidade das operárias parasitadas durante seu estágio de desenvolvimento é reduzida de forma significativa (DE JONG; MORSE; EICKWORT, 1982; AMDAM et al., 2004).

O varroa é vetor dos três principais vírus que afetam abelhas africanizadas: vírus da paralisia aguda (ABPV), o vírus Kashmir (KBV) e vírus deformador da asa (DWV), todos relacionados com perdas de colônias (GENERSCH; AUBERT, 2010; FRANCIS; NIELSEN; KRYGER, 2013). Infestações por *V. destructor* em *A. mellifera* tem sido descritas em todo o mundo. Estudos relatam a ocorrência do ácaro em abelhas na Europa (GAJIC et al., 2013), na África (RASOLOFOARIVAO et al., 2013; MORTENSEN et al., 2016), na Ásia (NAVAJAS et al., 2010; BUAWANGPONG et al., 2015), na América do Norte (MEDINA-FLORES et al., 2014) e no Brasil (MOREIRA et al., 2017; CORREIA-OLIVEIRA et al., 2018).

No Nordeste, estudos realizados em cinco das sete mesorregiões existentes na Bahia, identificaram a presença do ácaro em todos os locais de coleta (CORREIA-OLIVEIRA et al., 2018), demonstrando a ampla distribuição

desse parasito no Estado. Contudo não há estudos sobre as populações desse ácaro, particularmente com o uso de ferramentas morfométricas, o que pode contribuir para entender a plasticidade fenotípica desses indivíduos.

### **Morfometria Geométrica**

De acordo com Bookstein (1982), a morfometria é resultante da interação entre a geometria e a biologia, que mediante informações de localização geométrica e homologia biológica permite comparar as estruturas por intermédio da quantificação da forma.

Para a obtenção de dados morfométricos eram utilizadas medidas baseadas em distâncias, índices ou ângulos. Esses métodos tradicionais, raramente preservavam as informações de forma da estrutura estudada, o que dificultava a visualização das mudanças geométricas. Além disso, era necessária a padronização das variáveis devido às limitações quanto ao efeito de escala/tamanho (BENÍTEZ; PUSCHEL, 2014).

Na década de 80 surgiu a morfometria geométrica (MG) que foi amplamente utilizada no início dos anos 90, por apresentar análises robustas e ferramentas gráficas que quantificam e permitem a visualização da variação morfológica (ADAMS; ROHLF; SLICE et al., 2004). Esta abordagem facilita a descrição e localização das regiões de mudanças no formato de modo mais claro e preciso, distinguindo-se da morfometria tradicional (UTKUALP; ERCAN, 2015).

A escolha da técnica morfométrica adequada (geométrica ou tradicional) vai depender da pergunta ou do objetivo proposto da pesquisa (FORNEL; CORDEIRO-ESTRELA, 2012). Esta técnica está em constante transformação e o uso pode ser empregado em inúmeras áreas, que abordam aspectos morfológicos, sendo uma importante ferramenta para morfologistas (TORO; MANRIQUEZ; SUAZO, 2010). A MG gera resultados quantitativos de forma e tamanho que são interpretados independentemente (ROHLF; MARCUS, 1993; SIĞIRLI; ERCAN, 2013).

A morfometria geométrica é definida como um conjunto de métodos de aquisição, processamento e análise das variáveis da forma, de modo que

informação geométrica dos dados originais e as informações de covariação entre os marcos anatômicos são mantidas (ROHLF; MARCUS, 1993; SLICE, 2007).

A técnica utiliza marcos anatômicos cujos pontos seguem as regras da homologia e que têm definições anatômicas confiáveis (SNEATH; SOKAL, 1973; BOOKSTEIN et al., 1985). Essa homologia entre os marcos é importante para assegurar uma interpretação biológica dos resultados. As variáveis são analisadas a partir da sobreposição de Procrustes (ROHLF, 1999), que transforma a configuração dos marcos anatômicos por meio de translação, proporcionalização e de rotação, a fim de que a soma dos quadrados das distâncias entre os pontos correspondentes seja a menor possível (MONTEIRO; REIS, 1999; BOOKSTEIN, 1991; ADAMS; ROHLF; SLICE et al., 2004).

Diferenças no formato de uma determinada estrutura podem indicar diferentes papéis funcionais que são desempenhados como diferentes respostas em relação à uma mesma pressão seletiva, ou diferenças nos processos de crescimento e morfogênese. Estudar o formato permite compreender as causas de variação e transformação morfológica (ADAMS; ROHLF; SLICE et al., 2004; ZELDITCH et al., 2004).

Com o avanço dos computadores e a disponibilidade de *softwares*, muitos deles gratuitos e cada vez mais completos, a morfometria geométrica tem se mostrado extremamente promissora, revelando a sua capacidade de reconhecer diferenças morfológicas (KLINGENBERG et al., 2003).

Devido à ampla aplicabilidade, seu uso já foi empregado para avaliar estudos populacionais em abelhas sociais (SULTAN, 2015; LIMA et al., 2016; PRADO-SILVA et al., 2016; Souza et al., 2018; SOUZA et al., 2019) e solitárias (NEVES et al., 2011; GRASSI-SELLA; GARÓFALO; FRANCOY, 2018).

Em cinco estados brasileiro Souza et al., (2019) avaliaram diferenças em cabeça de *M. subnitida* por morfometria geométrica utilizando marcos anatômicos e encontraram diferenças na forma e tamanho da cabeça. Estes autores ainda alertam para o fato de que o isolamento pode levar à perda de diversidade.

Avaliando a estrutura morfométrica da asa anterior em interpopulação de *M. mandacaia* (PRADO-SILVA et al., 2016), tanto o tamanho quanto à forma foi correlacionado com a distância geográfica. Em estudo com *M. subnitida* Lima et al., (2016) avaliaram a asa anterior (tamanho e forma) e que foram influenciadas



pela distância geográfica e pela altitude. A morfometria geométrica em asa de *A. mellifera* foi utilizada para estudar o efeito das condições ambientais em duas províncias do Iraque, por ser um método barato comparado com os moleculares (SULTAN, 2015).

Estudos com morfometria da asa em abelhas solitárias demonstraram a sua eficácia. Em *Centris tarsata*, Souza et al. (2018) observaram o dimorfismo sexual pela diferença do tamanho e forma da asa, constatando que estas variáveis foram influenciadas por condições ambientais. O padrão morfométrico da *Tetrapedia diversipes* em ninhos artificiais localizados em pomares de acerola e seu entorno (outras frutas) pode ter sido influenciado pelos recursos alimentares utilizados por esta espécie (NEVES et al., 2011). Pesquisa com *Euglossa annectans* e *Euglossa truncata* em áreas diferentes (GRASSI-SELLA; GARÓFALO; FRANCOY, 2018) relatam ausência de estrutura populacional e semelhança entre as amostras dos diferentes locais, que podem ser explicado pela plasticidade fenotípica.

Outros insetos como *Orphulella punctata* (Orthoptera) também pode ter suas populações direnciadas, de acordo com a forma e tamanho apresentados, conforme os diferentes biomas habitados (SILVA et al., 2018). As análises das asas de *Speyeria diana* (Lepidoptera) permitiram a diferenciação entre machos e fêmeas, em localidades (ocidente e oriente), em função da altitude, acima e abaixo de 300m (WELLS; MUNN; WOODWORTH, 2018). Em besouros (Coleoptera), Ren et al. (2017) concluíram que é possível a classificação a nível de subtribo usando as asas posteriores.

Embora o uso da MG seja aplicado no estudo de diversas espécies, os estudos com o ácaro *Varroa* são escassos. Pesquisas realizadas na Argentina com a morfometria teve o primeiro registro associado à plasticidade fenotípica das populações de diferentes regiões geográficas do país (MAGGI et al., 2009). Em Benim (África) foram encontradas diferenças significativas entre as populações dos ácaros, a partir da morfometria tradicional, nas cidades e em zonas climáticas distintas, além de diferenças intrapopulacional (AUDE et al., 2016).

A interação entre hospedeiro e o parasita também pode ser uma das possíveis causas entre as diferenças populacionais. No Uruguai os diferentes

morfotipos do ácaro possuem relação com os diferentes morfotipos de abelhas (GIMÉNEZ MARTÍNEZ et al., 2017).

### **Assimetria Flutuante (AF)**

A assimetria flutuante (AF) é uma das formas de assimetria, que parte do pressuposto de que há simetria em condições ideais de desenvolvimento. A AF permite medir os desvios nas estruturas através de análise comparativa entre indivíduos ideais e aqueles que apresentam alterações em suas estruturas (TOMKINS; KOTIAHO, 2001).

Os indivíduos que apresentam simetria bilateral, por se desenvolverem em função de um mesmo genótipo, espera-se que possuam medidas semelhantes em ambos os lados em ambientes com as mesmas condições. Os desvios aleatórios nessa assimetria são tidos como reflexos da incapacidade dos indivíduos de amortizarem as influências do ambiente, sendo a AF importante parâmetro para avaliar a instabilidade no desenvolvimento dos indivíduos (PALMER, 1994).

Os impactos na assimetria dos indivíduos podem ser causados por perturbações naturais ou antrópicas. Foram encontradas assimetrias em *Melipona quadrifasciata anthidioides* devido ao contato com plantas contaminadas com agrotóxicos (PRADO-SILVA et al., 2018) e em *M. scutellaris*, pelo estresse do transporte de colônias (ANDRADE et al., 2020). Além disso, diferenças na assimetria causada podem ser causadas por agentes estressores resultantes de diferentes manejos, criação em cortiços ou em caixas racionais (LIMA et al., 2016).

Estudo de assimetria flutuante na forma das asas de *A. mellifera* foram realizadas por Nunes et al. (2015) e observados que as colônias coletadas em áreas com alto nível de antropização exibem maior assimetria em comparação com as coletadas em ambientes com baixa antropização.

Os estudos morfológicos exercem um importante papel na compreensão biológica dos indivíduos, uma vez que, alterações na forma e tamanho podem ser resultados de diversos fatores biológicos, além de possibilidade de inferir

perturbações antropogênicas, pressões seletivas além dos efeitos associados à patologias (ZELDITCH et al., 2004).

Neste contexto, este estudo teve por objetivo avaliar a variação morfométrica do ácaro *Varroa destructor* associado à *Apis mellifera* provenientes de diferentes municípios do Nordeste do Brasil. Além disso, verificar o impacto causado nas asas de *Melipona subnitida* portadoras do vírus deformador da asa (DWV) por meio da morfometria geométrica. Desta forma, o trabalho foi subdividido nos seguintes artigos:

ARTIGO 1: Análise populacional do ácaro *Varroa destructor* (Anderson e Trueman, 2000) no Nordeste do Brasil;

ARTIGO 2: Assimetria geométrica em *Melipona subnitida* infectados com o vírus deformador da asa (DWV).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEMEL. **Relatórios atuais: dados das exportações de mel**. Disponível em: <https://brazilletsbee.com.br/INTELIG%C3%8ANCIA%20COMERCIAL%20ABEMEL%20-%20JANEIRO2018.pdf/>. Acesso em: 02 fev. 2019.

ADAMS, D. C.; ROHLF, F.J.; SLICE, DE. Geometric morphometric: ten years of progress following the 'revolution'. **Italian Journal of Zoology**, v. 71, n.1, p. 5-16, 2004.

ALATTAL, Y.; ALSHARHI, M.; ALGHAMDI, A.; ALFAIFY, S.; MIGDADI, H.; ANSARI, M. Characterization of the native honey bee subspecies in Saudi Arabia using the mtDNA COI-COII intergenic region and morphometric characteristics. **Bulletin of Insectology**, v. 67, n. 1, p. 31-37, 2014.

AMDAM, G. V.; HARTFELDER, K.; NORBEG, K.; HAGEN, A.; OMHOLT, S. W. Altered physiology in worker honey bees (Hymenoptera: Apidae) infested with the mite *Varroa destructor* (Acari: Varroidae): a factor in colony loss during overwintering? **Journal of Economic Entomology**, v. 97, n. 3, p. 741-747, 2004.

ANDERSON, D. L.; TRUEMAN, J. W. H. *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. **Experimental and Applied Acarology**, v. 24, n. 3, p. 165-189, 2000.

ANDRADE, B.R.; SANTOS, E.B.; NUNES, L.A.; NACIMENTO, A.S.; CARVALHO, C.A.L. Fluctuating Asymmetry in *Melipona scutellaris* (L.) 1811 (Hymenoptera: Apidae) Associated to Stress due to Transportation of Colonies. **Sociobiology**, v.67, n. 3, p. 417-424, 2020.

AUDE, K. E.; ARMAND, P.; FRANCOIS, A.; CHARLEMAGNE, G.; GEORG, G.; MANUELLE, T.; LAMINE, B. M. Morphometric Characterization of Parasite *Varroa* sp. of Bee *Apis mellifera* L. in Benin. **European Scientific Journal**, v. 12, n. 33, p. 221, 2016.

BENÍTEZ, H. A.; PÜSCHEL, T. A. Modelando la varianza de la forma: morfometría geométrica aplicaciones en biología evolutiva. **International Journal of Morphology**, v. 32, n. 3, p. 998-1008, 2014.

BENJAMIN, A.; McCALLUM, B. **A world without bees**. New York, NY: Pegasus Books LLC. 2009. 298 p.

BIGIO, G.; SCHÜRCH, R.; RATNIEKS, F. L. W. Hygienic behavior in honey bees (Hymenoptera: Apidae): effects of brood, food, and time of the year. **Journal of Economic Entomology**, v. 106, n. 6, p. 2280-2285, 2013.

BONATTI, V.; SIMÕES, Z. L. P.; FRANCO, F. F.; FRANCOY, T. M. Evidence of at least two evolutionary lineages in *Melipona subnitida* (Apidae, Meliponini) suggested by mtDNA variability and geometric morphometrics of forewings. **Naturwissenschaften**, v. 101, n. 1, p. 17-24, 2014.

BOOKSTEIN, F. L. Foundations of morphometrics. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 13, n. 1, p. 451-470, 1982.

BOOKSTEIN, F. L.; CHERNOFF, B.; ELDER, R. L.; HUMPHRIES, J. M. JR.; SMITH, G. R.; STRAUSS, R. E. **Morphometrics in evolutionary biology**. Philadelphia: Academy of Natural Sciences Press. 1985. 277 p.

BOOKSTEIN, F. L. **Morphometrics tools for landmark data: geometry and biology**. New York: Cambridge University Press, 1991. 435 p.

BOUTIN, S.; ALBURAKI, M, MERCIER, P.; GIOVENAZZO, P.; DEROME, N. Differential gene expression between hygienic and non-hygienic honeybee (*Apis mellifera* L.) hives. **Genomics**, v. 16, n. 500, p. 1-13, 2015.

BUAWANGPONG, N.; GUZMAN, L. I.; KHONGPHINITBUNJONG, K.; FRAKE, A. M.; BURGETT, M.; CHANTAWANNAKUL, P. Prevalence and reproduction of *Tropilaelaps mercedesae* and *Varroa destructor* in concurrently infested *Apis mellifera* colonies. **Apidologie**, v. 46, n. 6, p. 779-786, 2015.

CARDINAL, S.; BUCHMANN, S. L.; RUSSELL, A. L. The evolution of floral sonication, a pollen foraging behavior used by bees (Anthophila). **Evolution**, v. 72, n. 3, p. 590-600, 2018.

COFFEY, M. F. **Parasites of the Honeybee**. Irlanda: Teagasc. 2007. 77 p.

CORREIA-OLIVEIRA, M. E.; MERCÊS, C. D. C.; MENDES, R. B.; DAS NEVES, V. S.; SILVA, F. D. L.; DE CARVALHO, C. A. Can the environment influence varroosis infestation in africanized honey bees in a Neotropical Region? **Florida Entomologist**, v. 101, n. 3, p. 464-469, 2018.

DADGOSTAR, S.; NOZARI, J. Classical and geometric morphometric methods reveal differences between specimens of *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae) from seven provinces of Iran. **Persian Journal of Acarology**, v. 7, n. 1, p. 51-60, 2018.

DE GUZMAN, L. I.; DELFINADO-BAKER, M. A new species of *Varroa* (Acari: Varroidae) associated with *Apis koschevnikovi* (Apidae: Hymenoptera) in Borneo, **International Journal of Acarology**, v. 22, n. 1, p. 23-27, 1996.

DE JONG, D. Africanized honey bees in Brazil, forty years of adaptation and success, **Bee World**, v. 77, n. 2, p. 67-70, 1996.

DE JONG, D.; MORSE, R. A.; EICKWORT, G. C. Mite pests of honey bees, **Annual Review of Entomology**, v. 27, n. 1, p. 229-252, 1982.

DE MIRANDA, J. R.; CORDONI, G.; BUDGE, G. The acute bee paralysis virus-Kashmir bee virus-Israeli acute paralysis virus complex. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 103, n. Suppl 1, p. S30-47, 2010.

DE SOUZA, D.; WANG, Y.; KAFTANOGLU, O.; De JONG, D.; V. AMDAM, G.; GONÇALVES, L. S. ; M. FRANCOY, T. M. Morphometric identification of queens, workers and intermediates in vitro reared honey bees (*Apis mellifera*). **Plos One**, v. 10, p. e0123663, 2015.

DE QUEIROGA, C. F. M. A.; LEITE FILHO, F. G.; MACHADO, A. V.; COSTA, R. de O. Cadeia produtiva do mel de abelhas: fonte alternativa de geração de renda para pequenos produtores e qualidade físico-química do mel. **Revista Brasileira de Agrotecnologia**, v.5, n.1, p. 24-30, 2015.

DELFINADO-BAKER, M.; AGGARWAL, K. A new *Varroa* (Acari: Varroidae) from the nest of *Apis cerana* (Apidae), **International Journal of Acarology**, v. 13, n. 4, p. 233-237. 1987.

DIETEMANN, V.; PFLUGFELDER, J.; ANDERSON, D.; CHARRIÈRE, J. D.; CHEJANOVSKY, N.; DAINAT, B.; MIRANDA, J. de; DELAPLANE K.; DILLIER, F. X.; STEFAN FUCH, S.; GALLMANN, P.; GAUTHIER, L.; ANTON IMDORF, A. KOENIGER, N.; KRALJ, J.; MEIKLE, W.; PETTIS, J.; ROSENKRANZ, P.; SAMMATARO, D.; SMITH, D.; YAÑEZ, O.; NEUMANN, P. *Varroa destructor*: research avenues towards sustainable control. **Journal of Apicultural Research**, v. 51, n. 1, p. 125-132, 2012.

DUAY, P.; DE JONG, D.; ENGELS, W. Decreased flight performance and sperm production in drones of the honey bee (*Apis mellifera*) slightly infested by *Varroa destructor* mites during pupal development. **Genetics and Molecular Research**, v. 1, n. 3, p. 227-232, 2002.

DUAY, P.; DE JONG, D.; ENGELS, W. Weight loss in drone pupae (*Apis mellifera*) multiply infested by *Varroa destructor* mites. **Apidologie**, v. 34, n. 1, p. 61-65, 2003.

FONSECA, V. L. I.; KOEDAM, D.; HRNCIER, M. **A abelha Jandaíra no passado, no presente e no futuro**. 1 ed. Mossoró-RN: EdUFERSA, 2017. 254 p.

FORNEL, R.; CORDEIRO-ESTRELA, P. **Morfometria geométrica e a quantificação da forma dos organismos**. In: MARINHO, J. R.; HEPP, L. U.; FORNEL, R. (eds.). Temas em Biologia: Edição comemorativa aos 20 anos do Curso de Ciências Biológicas e aos 5 anos do PPG-Ecologia da URI Campus de Erechim. Erechim-RS: EDIFAPES, p. 101-120. 2012.

FRANCIS, R. M.; NIELSEN, S. L.; KRYGER, P. *Varroa*-virus interaction in collapsing honey bee colonies. **PLoS One**, v. 8, n. 3, p. e57540, 2013.

GAJIC, B.; RADULOVIC, Z.; STEVANOVIC, J.; KULISIC, Z.; VUCICEVIC, M.; SIMEUNOVIC, P.; STANIMIROVIC, Z. Variability of the honey bee mite *Varroa destructor* in Serbia, based on mtDNA analysis. **Experimental and Applied Acarology**, v. 61, n. 1, p. 97-105, 2013.

GALLAI, N.; SALLES, J. M.; SETTELE, J.; VAISSIÈRE, B. E. Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. **Ecological Economics**, v. 68, n. 3, p. 810-821, 2009.

GENERSCH, E.; AUBERT, M. Emerging and re-emerging viruses of the honey bee (*Apis mellifera* L.). **Veterinary research**, v. 41, n. 6, p. 54, 2010.

GIANNINI, T. C.; CORDEIRO, G. D.; FREITAS, B. M.; SARAIVA, A. M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. The dependence of crops for pollinators and the economic value of pollination in Brazil. **Journal of Economic Entomology**, v. 108, n. 3, p. 849-857, 2015.

GIANNINI, T. C.; GIULIETTI, A. M.; HARLEY, R. M.; VIANA, P. L.; JAFFE, R.; ALVES, R.; PINTO, C. E. L.; MOTA, N. F. O.; CALDEIRA, C. F.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; FURTINI, A. E.; SIQUEIRA, J. O. Selecting plant species for practical restoration of degraded lands using a multiple-trait approach. **Austral Ecology**, v. 42, n. 5, p. 510-521, 2017.



GIMÉNEZ MARTÍNEZ, P.; MENDOZA, Y.; INVENIZZI, C.; FUSELLI, S.; ALONSO SALCES, R.; FERNÁNDEZ IRIARTE, P.; MAGGI, M. Morphometric correlation between *Apis mellifera* morphotypes (Hymenoptera) and *Varroa destructor* (Acari) from Uruguay. **Journal of Apicultural Research**, v. 56, n. 2, p. 122-129, 2017.

GRASSI-SELLA, M. L.; GARÓFALO, C. A.; FRANCOY, T. M. Morphological similarity of widely separated populations of two Euglossini (Hymenoptera; Apidae) species based on geometric morphometrics of wings. **Apidologie**, v. 49, n. 2, p. 151-161, 2018.

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; NUNES-SILVA, P. As abelhas, os serviços ecossistêmicos e o Código Florestal Brasileiro. **Biota Neotropica**, v. 10, n. 4, p. 59-62, 2010.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. Pesquisa pecuária municipal. IBGE. 2017. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/Tabela/6622>. Acesso em: 13 mar. 2019.

KLINGENBERG, C. P.; MEBUS, K.; AUFRAY, J. C. Developmental integration in a complex morphological structure: how distinct are the modules in the mouse mandible? **Evolution & Development**. v.5, n. 5, p. 522-531, 2003.

LIMA, C. B. S.; NUNES, L. A.; CARVALHO, C. A. L.; RIBEIRO, M. F.; SOUZA, B. A.; SILVA, C. S. B. Morphometric differences and fluctuating asymmetry in *Melipona subnitida* Ducke 1910 (Hymenoptera: Apidae) in different types of housing. **Brazilian Journal of Biology** (Online), v. 76, n. 4, p. 845-850, 2016.

LINDQUIST, E. E.; KRANTZ, G. W.; WALTER, D. E. 3. ed. Order Mesostigmata. In KRANTZ, G. W.; WALTER, D. E. (eds). **A manual of acarology**. USA: Texas Tech University Press, 2009. 807 p.

MAGGI, M. D.; SARDELLA, N. H.; RUFFINENGO, S. R.; EGUARAS, M. J. Morphotypes of *Varroa destructor* collected in *Apis mellifera* colonies from different geographic locations of Argentina. **Parasitology Research**, v. 105, n. 6, p. 1629-1636, 2009.

MAJEWSKI, J. Pollination value as an ecosystem service. **Ekonomia I Środowisko**. v. 1, n. 64, p. 208-219, 2018.

MEDINA-FLORES, C. A.; GUZMÁN-NOVOA, E.; HAMIDUZZAMAN, M. M.; ARÉCHIGA-FLORES, C. F.; LÓPEZ-CARLOS, M. A. Africanized honey bees (*Apis mellifera*) have low infestation levels of the mite *Varroa destructor* in different ecological regions in Mexico. **Genetics and Molecular Research**, v. 13, n. 3, p. 7282-7293, 2014.

MENZ M. H. M; PHILLIPS R. D.; WINFREE R.; KREMEN, C.; AIZEN, M. A.; JOHNSON, S. D.; DIXON, K. W. Reconnecting plants and pollinators: challenges in the restoration of pollination mutualisms. **Trends Plant Science**, v. 16, n. 1, p. 4-12, 2011.

MICHENER, C. D. **The Bees of the World**. 2. ed. Baltimore: The Johns Hopkins University Press, 2007, 953 p.

MONTEIRO, L. R.; REIS, S. F. **Princípios de morfometria geométrica**. Ribeirao Preto: Holos. 1999. 188 p.

MOREIRA, S. B. L. C.; QUEIROZ, G. S.; CASTRO, H. A.; SOUZA, E. A. de; PEREIRA, D. S.; HOLANDA NETO, J. P. de. Infestação do ácaro *Varroa destructor* em colônias de abelhas africanizadas (*Apis mellífera* L.) no Semiárido potiguar, Nordeste do Brasil. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 12, n. 1, p. 143-149, 2017.

MORTENSEN, A. N.; SCHMEHL, D. R.; ALLSOPP, M.; BUSTAMANTE, T. A.; KIMMEL, C. B.; DYKES, M. E.; ELLIS, J. D. Differences in *Varroa destructor* infestation rates of two indigenous subspecies of *Apis mellifera* in the Republic of South Africa. **Experimental and Applied Acarology**, v. 68, n. 4, p. 509-515, 2016.

NAVAJAS, M.; ANDERSON, D. L.; GUZMAN, L. I.; HUANG, Z. Y.; CLEMENT, J.; ZHOU, T.; CONTE, Y. L. New Asian types of *Varroa destructor* - a potential new threat for world apiculture. **Apidologie**, v. 41, n. 2, p. 181-193, 2010.

NEVES, C. M. L.; CARVALHO, C. A. L.; SOUZA, A. V.; LIMA JÚNIOR, C. A. de. Caracterização morfométrica de uma população de *Tetrapedia diversipes* em áreas restritas na Bahia, Brasil (Hymenoptera: Apidae), **Sociobiology**, v. 59, n. 3, p.767-782. 2011.

NUNES, L. A.; ARAUJO, E. D.; MARCHINI, L. C. Asimetria fluctuante em *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) como bioindicador de ambientes antropogénicos. **Revista de Biologia Tropical**, v. 63, p. 673-682, 2015.

OLINTO, F. A.; DA SILVEIRA, D. C.; LIMA, D. C.; MARACAJÁ, P. B. Comportamento higiênico em colmeias de *Apis mellifera* L. africanizadas no Sertão da Paraíba. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 10, n. 3, p. 08-12, 2015.

OLLERTON, J.; WINFREE, R.; TARRANT, S. How many flowering plants are pollinated by animals? **Oikos**, v. 120, n. 3, p. 321-326, 2011.

OUDEMANS, A. C. On a new genus and species of parasitic Acari. **Notes from the Leyden Museum**, v. 24, p. 216-222, 1904.

PRADO-SILVA, A.; NUNES, L. A.; DOS SANTOS, J. M.; DE MELLO AFFONSO, P. R. A.; WALDSCHMIDT, A. M. Morphogenetic Alterations in *Melipona quadrifasciata anthidioides* (Hymenoptera: Apidae) Associated with Pesticides. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 74, n. 4, p. 627-632, 2018.

PRADO-SILVA, A.; NUNES, L. A.; ALVES, R. M. de O.; CARNEIRO, P. L. S.; WALDSCHMIDT, A. M. Variation of fore wing shape in *Melipona mandacaia* Smith, 1863 (Hymenoptera, Meliponini) along its geographic range. **Journal of Hymenoptera Research**, v. 48, p. 85-94, 2016.

RANGEL, J.; GIRESI, M.; PINTO, M. A.; BAUM, K. A.; RUBINK, W. L.; COULSON, R. N.; JOHNSTON, J. S. Africanization of a feral honey bee (*Apis mellifera*) population in South Texas: does a decade make a difference? **Ecology and Evolution**, v. 6, n. 7, p. 2158-2169, 2016.

RASOLOFOARIVAO, H.; CLÉMENCET, J.; RAVAOMANARIVO, L. H. R.; RAZAFINDRAZAKA, D.; REYNAUD, B.; DELATTE, H. Spread and strain determination of *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in Madagascar since its first report in 2010. **Experimental and Applied Acarology**, v. 60, n. 4, p. 521-531, 2013.

REGAN, S. How Capitalism Saved the Bees. **Winter**, v. 36, n. 2, 2017.

REN, J.; BAI, M.; YANG, X. K.; ZHANG, R. Z.; GE, S. Q. Geometric morphometrics analysis of the hind wing of leaf beetles: proximal and distal parts are separate modules. **ZooKeys**, n. 685, p. 131-149, 2017.

REYBROECK, W.; DAESELEIRE, E.; DE BRABANDER, H. F.; HERMAN, L. Antimicrobials in beekeeping. **Veterinary Microbiology**, v. 158, n. 1-2, p. 1-11, 2012.

ROHLF, F. J. Shape statistics: Procrustes superimpositions and tangent spaces. **Journal of Classification**, v. 16, n. 2, p. 197-223, 1999.

ROHLF, F.J.; MARCUS, L. F. A revolution in morphometrics. **Trends in Ecology and Evolution**, v.8, n.4, p.129-132. 1993.

SIĞIRLI, D.; ERCAN, I. Growth and Allometry in Modern Morphometrics: Review. **Turkiye Klinikleri Journal of Biostatistics**. v.5, n.1, p.42-8, 2013.

SILVA, A. C. S.; NUNES, L. A.; DE LIMA BATISTA, W.; LHANO, M. G. Morphometric variation among males of *Orphulella punctata* (De Geer, 1773) (Acrididae: Gomphocerinae) from different biomes in Brazil. **Journal of Orthoptera Research**, v. 27, n. 2, p. 163-171, 2018.

SILVA, M. G.; DANTAS, M. C. D. A. M.; MOREIRA, J. N.; JUNIOR, E. B. P.; DE OLIVEIRA NETO, J. N.; DE MEDEIROS, A. C.; GADELHA, H. S. Criação racional de abelhas jandaíra e sua importância ambiental. **Revista Brasileira de Gestão Ambiental**, v. 13, n. 1, p. 13-18, 2019.

SLICE, D. E. Geometric morphometrics. **Annual Review of Anthropology**, n. 36, p. 261-281. 2007.

SNEATH, P. H.; SOKAL, R. R. **Numerical taxonomy**. The principles and practice of numerical classification. San Francisco: Freeman and Company. 1973. 573 p.

SOUZA, A. V.; NUNES, L. A.; MACHADO, C. S.; SODRÉ, G. da S.; CARVALHO, C. A. L. de. Sexual dimorphism and morphometric characterization of *Centris tarsata* Smith, 1874, Hymenoptera: Apidae in different environments. **Acta Agronomica**, v. 67, n. 3, p. 438-445, 2018.

SOUZA, F. S. de; NUNES, L. A.; OLIVEIRA, E. J. F. de; COSTA, M. A. P. de C.; CARVALHO, C. A. L. de. Population variation and island effect in *Melipona*

*subnitida* (Hymenoptera: Apidae). **Journal of Apicultural Research**, v. 58, n. 1, p. 1-8, 2019.

SPIVAK, M.; MADER, E.; VAUGHAN, M.; EULISS J. R. N. H. The plight of the bees. **Environmental Science and Technology**, v. 45, n. 1, p. 34-38, 2011.

SULTAN, A. A. Studying the variation of wing shape and size for iraqi honey bee worker *Apis mellifera* (hymenoptera: provinces by using geometric morphometric of wing. **International Journal of Current Research**, v. 7, n. 1, p. 11319-11324, 2015.

TEIXEIRA, E. W.; CHEN, Y.; PETTIS, J.; EVANS, J. D. First metagenomic analysis of microorganisms in honey bees from Brazil. **Boletim de Indústria Animal**, v. 65, n. 4, p. 355-361, 2008.

TOFILSKI, A. Using geometric morphometrics and standard morphometry to discriminate three honeybee subspecies. **Apidologie**, v. 39, n. 5, p. 558-563, 2008.

TORO, I. M. V.; MANRIQUEZ, S. G.; SUAZO, G. I. Morfometría geométrica y el estudio de las formas biológicas: de la morfología descriptiva a la morfología cuantitativa. **International Journal Morphology**, v. 28, n. 4, p. 977-990, 2010.

UTKUALP, N.; ERCAN, I. Anthropometric measurements usage in medical sciences. **BioMed Research International**. v. 2015, art. 404261, p.1-7, 2015.

VANENGELSDORP, D.; HAYES JR, J.; UNDERWOOD, R. M.; PETTIS, J. A survey of honey bee colony losses in the U.S., fall 2007 to spring 2008. **PloS One**, v. 3, n. 12, p. e4071, 2008.

VANENGELSDORP, D.; UNDERWOOD, R.; CARON, D.; HAYES, J. R. J. An estimate of managed colony losses in the winter of 2006-2007: a report

commissioned by the apiary inspectors of America. **American Bee Journal**, v. 147, n. 7, p. 599-603, 2007.

WELLS, C.; MUNN, A.; WOODWORTH, C. Geomorphic morphometric differences between populations of *Speyeria diana* (Lepidoptera: Nymphalidae). **Florida Entomologist**, v. 101, n. 2, p. 195-203, 2018.

ZELDITCH, M. L.; SWIDERSKI, D. L.; SHEETS, H. D.; FINK, W. L. **Geometric morphometrics for biologists: a primer**. San Diego: Elsevier Academic Press, 2004. 443 p.

## ARTIGO 1

### ANÁLISE POPULACIONAL DO ÁCARO *Varroa destructor* (ANDERSON E TRUEMAN, 2000) NO NORDESTE DO BRASIL<sup>1</sup>

---

<sup>1</sup>Artigo a ser ajustado para posterior submissão ao Comitê Editorial do periódico científico *Sociobiology*.



## **ANÁLISE POPULACIONAL DO ÁCARO *Varroa destructor* (ANDERSON E TRUEMAN, 2000) NO NORDESTE DO BRASIL**

**Resumo:** O presente estudo teve por objetivo verificar se há diferenças na forma e no tamanho do ácaro *Varroa destructor* proveniente de diferentes populações do Nordeste do Brasil. Para isso, foram amostradas 300 fêmeas adultas em 15 cidades no período de junho a agosto de 2016. Foi utilizada a técnica da morfometria geométrica e análises estatísticas multivariadas, Variáveis Canônicas, Função Discriminante com Validação Cruzada para variações na forma e teste não paramétrico *Kruskal Wallis* para tamanho, sendo aplicadas a região inguinal e genitoventral do exoesqueleto do ácaro. Diferenças morfométricas discretas nas populações foram observadas. Na análise da região inguinal, foi verificada a existência de variabilidade na forma do ácaro, sendo gerados 14 componentes canônicos, das quais cinco variáveis explicaram 87,37% da variação total. A população de Areial-PB se distanciou das demais populações, no entanto a sobreposição de algumas populações foi verificada. A porcentagem de classificação de *V. destructor* (região inguinal) foi considerada correta e indicou uma variação de 65% a 95%. Diferenças significativas entre as localidades foram observadas a partir da distância de *Mahalanobis*, onde a maior distância morfométrica (3,66) ocorreu entre as populações dos municípios de Areial-PB e Rafael Jambeiro-BA e a menor entre as populações de Gandu-BA e São Cristovão-SE (1,12). A análise da região genitoventral de *V. destructor* não permitiu a separação de grupos populacionais e foi observada uma sobreposição dos indivíduos. A partir da análise de *Mahalanobis*, a maior distância (2,94) foi observada entre as populações dos municípios de Areial-PB e Barra-BA e a menor entre as populações de Utinga-BA e Rafael Jambeiro-BA (0,77). Desta forma, a análise da região inguinal do ácaro *V. destructor* mostrou a existência de um padrão morfométrico, demonstrando que ocorre plasticidade fenotípica entre os ácaros.

**Palavras-chave:** Apicultura, *Apis mellifera*, Morfometria geométrica, Varroatose

## **POPULATION ANALYZIS OF *Varroa destructor* (ANDERSON AND TRUEMAN, 2000) IN NORTHEASTERN BRAZIL**

**Abstract:** The present study aimed to verify whether there are differences in the shape and size of the *Varroa destructor* mite from different populations in Northeast Brazil. For this, 300 adult females were sampled in 15 cities from June to August 2016. The technique of geometric morphometry and multivariate statistical analyzes, Canonical Variables, Discriminant Function with Cross-Validation for variations in shape and non-parametric Kruskal Wallis test were used. for size, being applied to the inguinal and genitoventral region of the mite exoskeleton. Discrete morphometric differences in populations were observed. In the analysis of the inguinal region, the existence of variability in the form of the mite was verified, with the generation of 14 canonical components, of which five variables explained 87.37% of the total variation. The population of Areial-PB distanced itself from the other populations, however the overlap of some populations was verified. The percentage of classification of *V. destructor* (inguinal region) was considered correct and indicated a range from 65% to 95%. Significant differences between the locations were observed from the Mahalanobis distance, where the greatest morphometric distance (3.66) occurred between the populations of the municipalities of Areial-PB and Rafael Jambeiro-BA and the smallest between the populations of Gandu-BA and São Cristovão-SE (1.12). The analysis of the genitoventral region of *V. destructor* did not allow the separation of population groups and an overlap of individuals was observed. From the Mahalanobis analysis, the longest distance (2.94) was observed between the populations of the cities of Areial-PB and Barra-BA and the shortest between the populations of Utinga-BA and Rafael Jambeiro-BA (0.77) . Thus, the analysis of the inguinal region of the mite *V. destructor* showed the existence of a morphometric pattern, demonstrating that phenotypic plasticity occurs between the mites.

**Keywords:** *Apis mellifera*, beekeeping, geometric morphometry, Varroatose.

## INTRODUÇÃO

O ácaro *Varroa destructor* (Anderson e Trueman, 2000) é um ectoparasita obrigatório que ocorre em abelhas *Apis mellifera* causando a doença varroatose. Este ácaro é vetor dos três principais vírus que afetam abelhas africanizadas: vírus da paralisia aguda (ABPV), o vírus Kashmir (KBV) e vírus deformador da asa (DWV), todos eles relacionados com perdas de colônias (GENERSCH; AUBERT, 2010; FRANCIS; NIELSEN; KRYGER, 2013).

O *V. destructor*, associado a vírus que acometem abelhas melíferas (VANENGELSDORP et al., 2009), é um dos fatores responsáveis pelo transtorno do colapso de colônias, sua presença, mesmo em baixos níveis de infestação é capaz de disseminar as doenças virais entre as colônias (FRANCIS; NIELSEN; KRYGER, 2013).

Os indivíduos parasitados pelo *V. destructor* podem apresentar diferenças fisiológicas e ou morfológicas em função do ambiente, essa habilidade, denominada plasticidade fenotípica (SCHEINER, 1993) permite mudanças na fecundidade e na longevidade (MARTELETO et al, 2009). Em função do seu comportamento higiênico e ao comportamento de *grooming*, as abelhas africanizadas apresentam maior tolerância à infestação do ácaro em relação às linhagens europeias (ROSENKRANZ, 1999).

No Brasil, estudos com o ácaro relataram que ao longo de 30 anos, houve um acréscimo de mais de 50% em sua fertilidade (CARNEIRO et al., 2007). Além disso, destaca-se que o ácaro apresenta variações morfométricas, e essas variações podem estar relacionadas a fatores como: localização geográfica (MAGGI et al., 2009), tamanho das células de cria (BORSUK et al., 2012), a espécie da abelha (AUDE et al, 2016) e diferenças morfométricas do hospedeiro (GIMÉNEZ MARTÍNEZ et al., 2017).

Neste contexto, investigações sobre as populações do ácaro *V. destructor* presente em apiários localizados na região Nordeste do Brasil são necessárias para elucidar questões sobre a saúde das abelhas e contribuir na formação de estratégias de manejo que minimizem os efeitos prejudiciais nas colônias. Assim, o presente estudo teve por objetivo verificar se há diferenças na forma e no

tamanho do ácaro *V. destructor* provenientes de diferentes populações do Nordeste do Brasil.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Área de estudo e coleta das amostras

Um total de 300 fêmeas adultas de ácaros de *Varroa destructor* foi coletada em 15 cidades da região Nordeste do Brasil no período de junho a agosto de 2016 (Figura 1). Foram analisados 20 indivíduos por município, os quais foram dispostos em placas de Petri e com auxílio de pincéis (cerdas macias), as pernas foram afastadas, expondo as interseções presentes na região ventral para plotagem dos marcos anatômicos.



Figura 1. Mapa do Nordeste brasileiro com a localização geográfica das populações avaliadas de *Varroa destructor*. 1 Candido Sales-BA; 2 Jequié-BA; 3 Gandu-BA; 4 Maracás-BA; 5 Itaberaba-BA; 6 Rafael Jambeiro-BA; 7 Macajuba-BA; 8 Mundo Novo-BA; 9 Utinga-BA; 10 Boquira-BA; 11 Barra-BA; 12 São Cristovão-SE; 13 Piranhas-AL; 14 Lagoa do Ouro-PE; 15 Areial-PB.

### Marcos anatômico do ácaro *Varroa destructor*

Os indivíduos foram fotografados com o auxílio de um estereomicroscópio equipado com um sistema de captura de imagem (Leica Application Suite version

3.4.1). A partir das imagens capturadas foi criado um arquivo com o formato TPS, utilizando o programa TpsUtil versão 1.70 (ROHLF, 2010), posteriormente, com o auxílio do programa TpsDig2 versão 2.17 (ROHLF, 2013) foram plotados na placa inguinal direita três marcos anatômicos (1, 4 e 6) e seis semimarcos (2, 3, 5, 7, 8 e 9) e na placa genitoventral quatro marcos (10, 14, 16 e 18) e seis semimarcos (11, 12, 13, 15, 17 e 19) usados para análise morfométrica (Figura 2). As duas placas foram analisadas de forma separada para anular a interferência da distância entre as placas



Figura 2. Face ventral de *Varroa destructor* com três marcos anatômicos (1, 4 e 6) e seis semimarcos (2, 3, 5, 7, 8 e 9) na placa inguinal direita. Na placa genitoventral foram quatro marcos (10, 14, 16 e 18) e seis semimarcos (11, 12, 13, 15, 17 e 19) usados para análise morfométrica.

As coordenadas de cada ponto anatômico foram posicionadas em um plano cartesiano, obtidas pelo programa TpsDig2 (ROHLF, 2013) e analisadas no

MorphoJ (KLINGENBERG, 2011), onde os processos de superposição (translação), proporcionalização e rotação foram realizados. Os consensos (valores posicionais médios dos pontos anatômicos amostrados) foram gerados para cada município e representados simultaneamente sob a forma de consenso do ácaro.

### **Análise estatística**

Para avaliar a diferença entre os tratamentos foi utilizada a análise discriminante e o quadrado das distâncias de Mahalanobis ( $[D^2 = (\bar{x}_i - \bar{x}_l)' S^{-1} (\bar{x}_i - \bar{x}_l)]$ ), em que  $\bar{x}_i$  e  $\bar{x}_l$  são os vetores médios para os tratamentos  $i$  e  $l$ , e  $S^{-1}$  é a matriz inversa das variâncias da amostra e das covariâncias de amostras comuns a todos os tratamentos. Esse mesmo procedimento foi utilizado para obter coeficientes canônicos padronizados da amostra e variação total explicada por cada variável (SORBOLINI et al., 2016; GIOVANETTI et al., 2017).

O gráfico *Biplot* foi construído para as duas primeiras variáveis canônicas (AVC1 e AVC2), mostrando as elipses de confiança de 95% dos vetores médios para cada município, a fim de visualizar as variabilidades morfométricas do ácaro *V. destructor* em conjunto. As análises foram realizadas utilizando o programa MorphoJ (KLINGENBERG, 2011) e PAST, sendo utilizado o nível de significância de 5% ( $P < 0,05$ ). Posteriormente, foi aplicada análise de validação cruzada para avaliar a porcentagem de acerto nas classificações dos grupos, conforme sua localidade. Para análise do tamanho, foi aplicado o teste de *Kruskal-Wallis*.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Região Inguinal

Na MANOVA, foram apontadas diferenças significativas entre as colônias de cidades diferentes, evidenciando que há variações morfométricas.

A Análise de Variáveis Canônicas (AVC) das coordenadas de Procrustes da região inguinal da população de *V. destructor*, permitiu maximizar a separação entre os grupos, e determinar a existência de variabilidade na forma do ácaro entre as populações avaliadas. Foram gerados 14 componentes canônicos, sendo que as quatro primeiras variáveis explicaram 81,29% da variação total dos dados (Tabela 1). Esta porcentagem é considerada elevada e suficiente para explicar a variabilidade morfométrica de *V. destructor* entre as populações amostradas.

Tabela 1. Variáveis canônicas, autovalores, porcentagem de variância e porcentagem da variância acumulada obtidas com a análise de 14 características morfométricas da placa inguinal de *Varroa destructor*.

Variáveis Canônicas	Autovalores ( $\lambda_i$ )	Varição Total (%)	Varição Acumulada (%)
1	0,98527671	38,484	38,484
2	0,62556025	24,434	62,918
3	0,28507829	11,135	74,053
4	0,18525289	7,236	81,289
5	0,15569822	6,081	87,370
6	0,09204245	3,595	90,966
7	0,07184718	2,806	93,772
8	0,06114586	2,388	96,160
9	0,04191028	1,637	97,797
10	0,03449828	1,347	99,145
11	0,01427258	0,557	99,702
12	0,00468304	0,183	99,885
13	0,00202005	0,079	99,964
14	0,00092198	0,036	100,000

Neste estudo, verificou-se que *V. destructor* é uma espécie capaz de se estabelecer em colônias de abelhas africanizadas de diferentes regiões do Nordeste do Brasil, apresentando diferenças morfométricas que podem contribuir no melhor estabelecimento do ácaro. Maggi et al. (2009) em pesquisas realizadas na Argentina relataram que a existência de diferentes populações de *V. destructor*, oriundas de distintas localidades, estão possivelmente relacionadas a condições específicas de cada localidade e o tamanho da abelha.

A dispersão gráfica da forma dos ácaros *V. destructor* em relação aos eixos cartesianos estabelecidos pelas variáveis canônicas (AVC1, AVC2) de maior contribuição para a variação na região inguinal, obtidas a partir de combinações lineares de características morfométricas, possibilitou a separação das populações (Figura 3). A população de Areal-PB se distanciou das demais populações do ácaro *V. destructor*, ao longo dos eixos AVC1 e AVC2. Entretanto, para algumas populações analisadas, houve sobreposição, devido à proximidade morfométrica.

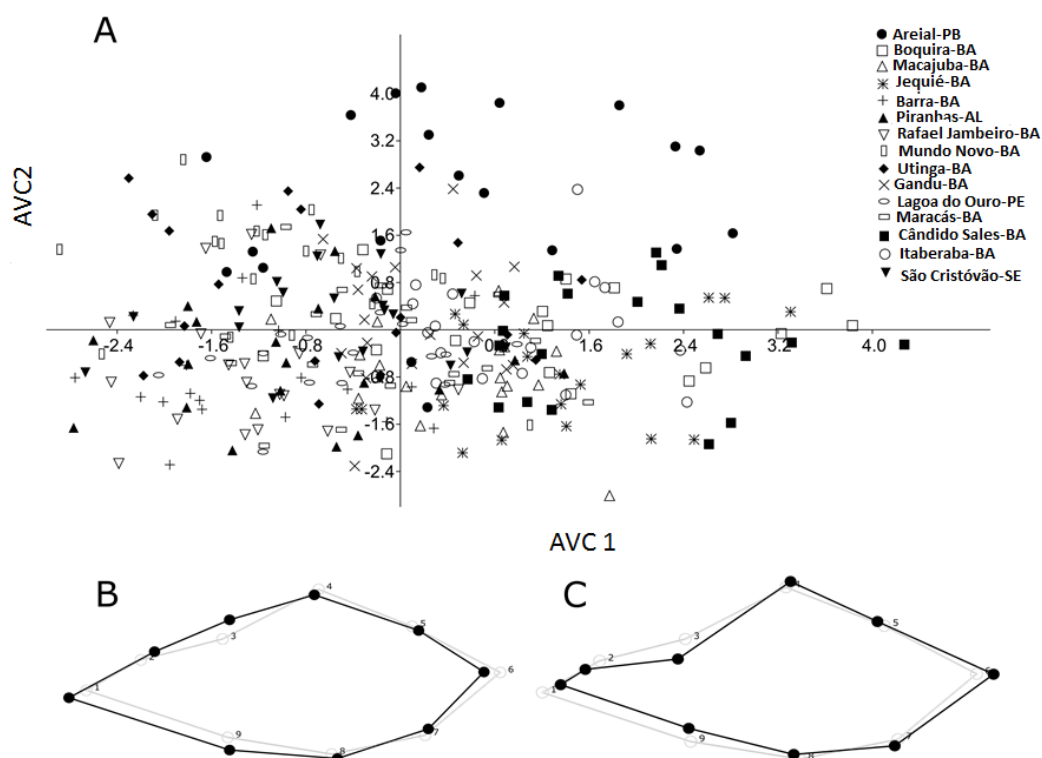


Figura 3. Dispersão gráfica da morfometria de *Varroa destructor* em relação a eixos cartesianos estabelecidos por variáveis canônicas (AVC1, AVC2) obtidas, a partir da região inguinal (A). Variação da forma segundo a grade de deformação (B-C). Linha clara corresponde à forma média e linha escura variação da forma.



A proximidade morfométrica entre as populações dos ácaros *V. destructor*, não necessariamente correspondem à proximidade geográfica dos locais de coleta das mesmas. São Cristovão-SE e Utinga-BA, apesar da distância geográfica (aproximadamente 584 km), apresentam semelhança na forma (Figura 3). Por outro lado, populações de locais relativamente próximos (Macajuba-BA e Itaberaba-BA, aproximadamente 68 km) apresentam variabilidade morfológicas diferentes.

Analisando seis marcos anatômicos em *V. destructor*, Dadgostar e Nozari (2018) observaram diferenças morfológicas nas populações em estudo. A ocorrência de ampla plasticidade morfológica em *V. destructor* machos e fêmeas, dentro de uma mesma população, foi observada por AKIMOV; BENEDYK; ZALONAYA (2004). Conforme esses autores, a plasticidade morfológica pode estar relacionada a diferentes estações de reprodução das abelhas. Diferentes populações do *Varroa* oriundas de localidades distintas também foram relatadas por Maggi et al. (2009). Atribuiu-se a formação dos grupos às condições específicas de cada localidade, como tamanho da abelha, pressões de seleção causadas por uso de acaricidas e a interação entre parasita e hospedeiro.

A porcentagem de classificação dos ácaros de *V. destructor* (região inguinal) foi considerada correta, a partir da análise de função discriminante de “*cross-validation*”, indicando uma variação de 65,00% a 95,00%.

As grades de deformações cartesianas representaram graficamente as mudanças de formas (uniformes e não uniformes) das configurações formadas pelos marcos anatômicos dos ácaros (região inguinal) em relação à configuração consenso, representado pelos eixos VC1 e VC2 (Figura 4). As grades de deformações indicam quais são os marcos anatômicos que mais influenciam os eixos de deformações e expressam a variação máxima da forma (MONTEIRO; REIS, 1999; ALIBERT et al., 2001).

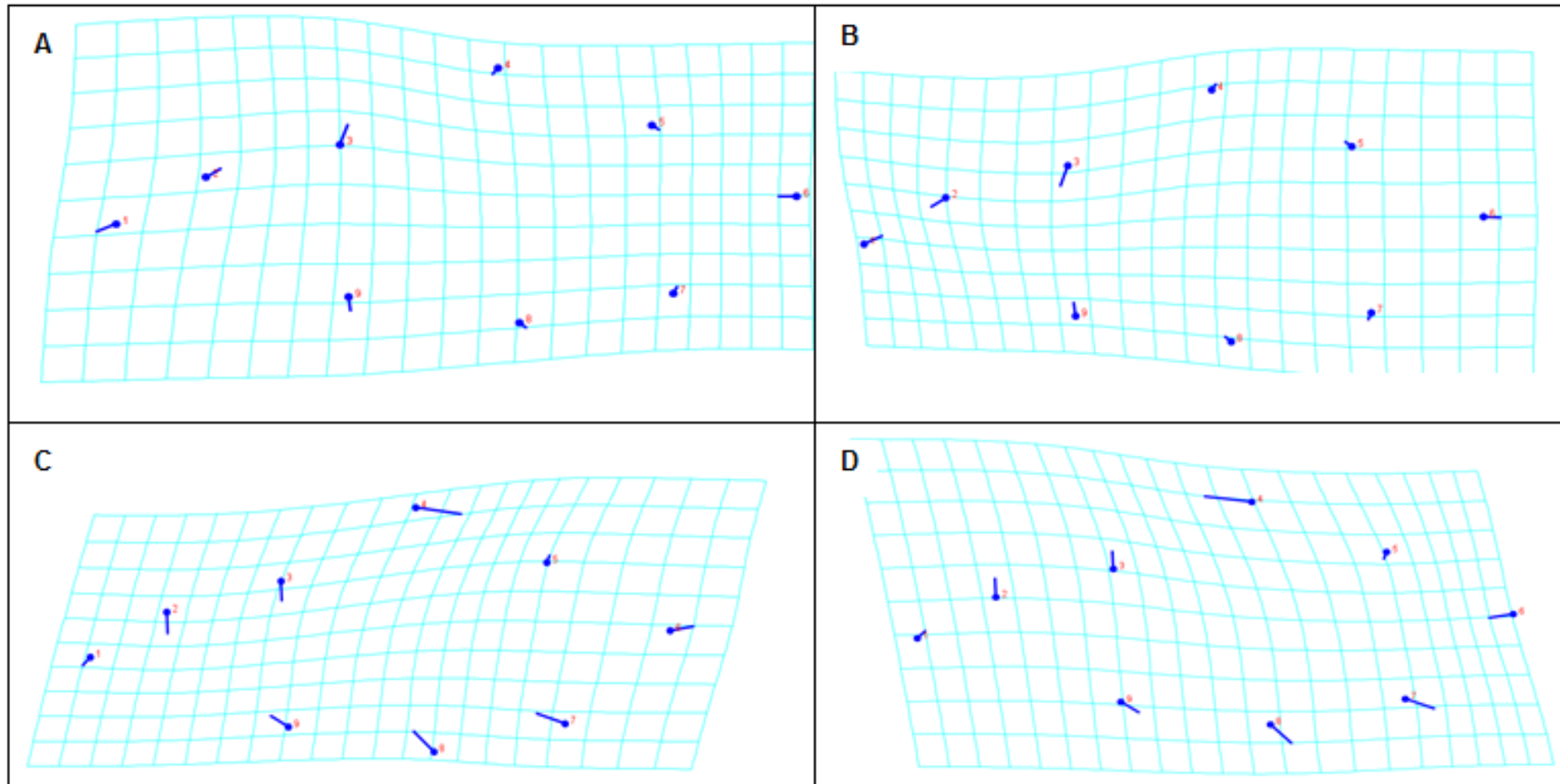


Figura 4 - Deformações na região inguinal de *Varroa destructor*. Grades de deformação para cada variável canônica do gráfico de dispersão mostrando variação na forma: **A**: forma para valores positivos da CV1; **B**: forma para valores negativos da CV1; **C**: forma para valores positivos da CV2; **D**: forma para valores negativos da CV2.

Os resultados das análises morfométricas mostraram que há variação na forma entre as populações de *V. destructor* nas amostras. As regiões do ácaro que apresentam maior contribuição para a variação da forma são representadas por vetores. Os vetores (linhas azuis) representam a direção e o sentido da deformação. O comprimento do vetor determina a amplitude da deformação, assim, os grupos presentes na Variável Canônica 1 que mais contribuem para a separação dos grupos são os marcos e semimarcos anatômicos 1, 2, 3, 5 e 9 (Figura 4).

Os indivíduos agrupados pela Variável Canônica 2 apresentam a conformação da Figura 4 (C-D), e os marcos e semimarcos anatômicos que mais contribuíram para a diferenciação foram 4, 6, 7 e 8.

A demonstração gráfica da similaridade permite uma melhor visualização das distâncias e proximidades entre os grupos analisados, utilizando poucas variáveis. Para Cruz e Carneiro (2003), a análise de diversidade morfométrica é bem representada graficamente em relação aos eixos das Variáveis Canônicas. A dispersão apresentada pelos indivíduos analisados em relação as duas ou mais variáveis canônicas pode ser exibida por meio de medidas de dissimilaridade, dentre elas, distância generalizada de Mahalanobis.

Utilizando as distâncias de Mahalanobis (Tabela 2) foi possível observar diferença significativas ( $P < 0,05$ ) entre as localidades, onde a maior distância (3,66) ocorreu entre as populações dos municípios de Areial-PB e Rafael Jambeiro-BA. A menor distância morfométrica ocorreu entre as populações dos municípios de Gandu-BA e São Cristovão-SE com valor de dissimilaridade de 1,12.

Nossos resultados mostraram diferenças morfométricas entre as populações de diferentes localidades, possivelmente influenciado pelo comportamento do hospedeiro, uma vez que a abelha africanizada possui grande tendência à enxameação (DE JONG, 1996). Além disso, a capacidade dos zangões de percorrerem áreas de até 157 km<sup>2</sup> no período de acasalamento (CRISTINO, 2003) favorece o fluxo gênico de *V. destructor*.

No Nordeste do Brasil, o comportamento de fuga e a migração são frequentes (FREITAS, 2007), resultando em elevada variabilidade

intrapopulacional (HARTL; CLARK, 2010). Posterior ao processo de migração, os indivíduos passam a expressar fenótipos diferentes, sendo que essa mudança pode ser vantajosa ou não (CRUZ et al., 2011).

Tabela 2. Matriz de dissimilaridade obtida a partir da distância de  $D^2$  de *Mahalanobis* com base em 300 ácaros fêmeas adultas de *Varroa destructor*, por meio da análise de oito caracteres morfométricos da placa inguinal.

	Areal	Barra	Candido Sales	Gandu	Itaberaba	Jequié	Macajuba	Maracas	Mundo Novo	Lagoa do Ouro	Piranhas	Rafael Jambeiro	São Cristóvão	Utinga
Barra	3,40**													
Candido Sales	2,97**	3,36**												
Gandu	2,22**	1,94**	2,11**											
Itaberaba	2,58**	2,74**	1,71*	1,48 <sup>ns</sup>										
Jequié	3,29**	2,82**	1,76*	1,86**	1,75**									
Macajuba	3,06**	1,98**	2,02**	1,66**	1,72**	1,49 <sup>ns</sup>								
Maracas	2,96**	1,62**	2,71**	1,51*	2,02**	2,04**	1,69**							
Mundo Novo	2,23**	2,15**	3,38**	1,82**	2,61**	3,18**	2,59**	2,12**						
Lagoa do Ouro	2,93**	1,39 <sup>ns</sup>	2,61**	1,55*	1,90**	2,44**	1,73**	1,39 <sup>ns</sup>	2,00**					
Piranhas	3,23**	1,41 <sup>ns</sup>	3,01**	1,74**	2,20**	2,83**	1,98**	2,17**	2,16**	1,41 <sup>ns</sup>				
Rafael Jambeiro	3,66**	1,82**	3,46**	2,12**	2,87**	3,21**	2,44**	2,44**	2,22**	2,11**	1,79**			
São Cristóvão	2,37**	1,45*	2,78**	1,12 <sup>ns</sup>	1,85**	2,41**	1,64**	1,26 <sup>ns</sup>	1,45*	1,20 <sup>ns</sup>	1,44 <sup>ns</sup>	1,98**		
Utinga	2,45**	1,88**	3,03**	1,58*	2,10**	2,79**	2,37**	1,53*	1,63*	1,58*	1,94**	2,29**	1,25 <sup>ns</sup>	
Boquira	2,80**	2,95**	1,87**	1,81**	1,56*	2,13**	2,23**	2,38**	2,95**	2,30**	2,77**	2,65**	2,37**	2,38**

\*\*significativo a 1%; \* significativo a 5% e ns, não significativo a 5% de probabilidade.

O Brasil apresenta uma grande diversidade em sua flora, o que proporciona uma dieta variada para as abelhas e essa alimentação está relacionada a diferenças de forma e tamanho. A biomassa apresentada pelo parasita é diretamente proporcional à taxa metabólica do hospedeiro (GEORGE-NASCIMENTO et al. 2004). Além disso, o tamanho da célula de nascimento das crias interfere no tamanho da abelha, que por sua vez alteram o tamanho de *V. destructor* (BORSUK et al., 2012). Giménez Martínez et al. (2017) relataram que existe uma correlação entre morfometria da abelha com a morfometria do ácaro. Características inerentes a cada local de coleta e a diferenças morfométricas existentes na abelha, podem ser explicações para a variação morfométrica dos ácaros (NUNES et al., 2012).

De acordo com o diagrama *boxplot*, referente ao tamanho do centroide da região inguinal do ácaro (Figura 5), é possível visualizar a variação de tamanho.

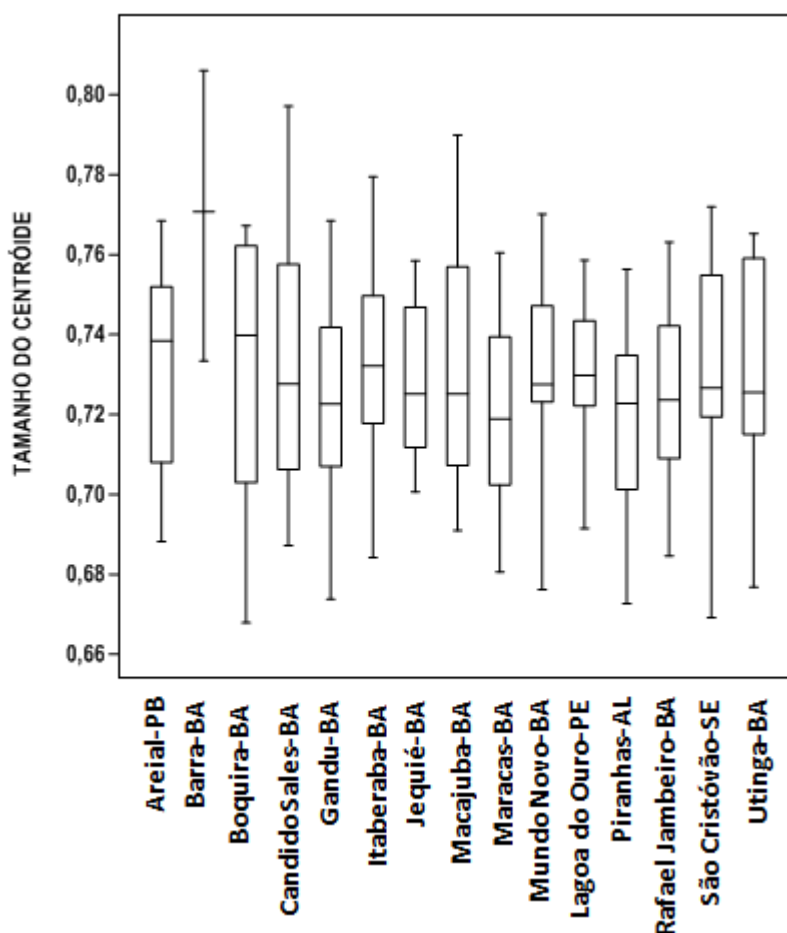


Figura 5. *Boxplot* do tamanho do centroide da região inguinal de *Varroa destructor* provenientes do Nordeste brasileiro.

O teste *Kruskal-Wallis* mostrou diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) para o tamanho do centroide entre as cidades analisadas, os indivíduos com maior tamanho foram encontrados no município de Barra e os menores em Maracás. A plasticidade fenotípica pode estar ocorrendo em função da presença de uma série de fenótipos existentes e expressos por condições ambientais, geradas de um genótipo (STEARNS, 1989).

### Região Genitoventral

Com relação à região genitoventral dos indivíduos analisados, observou-se que as três primeiras variáveis canônicas possibilitaram a explicação de aproximadamente 80% da variação total (Tabela 3).

Tabela 3. Variáveis canônicas, autovalores, percentagem de variância e percentagem da variância acumulada obtidas com a análise de 8 características morfométricas da região genitoventral de *Varroa destructor*.

Variáveis Canônicas	Autovalores ( $\lambda_i$ )	Varição Total (%)	Varição Acumulada (%)
1	0,69467653	37,977	37,977
2	0,54831453	29,976	67,953
3	0,21603249	11,810	79,763
4	0,19049087	10,414	90,177
5	0,06721794	3,675	93,852
6	0,05153717	2,817	96,669
7	0,03969968	2,170	98,840
8	0,02122423	1,160	100,000

A análise morfométrica da região genitoventral de *V. destructor* não permitiu a separação de grupos populacionais (Figura 6). Pode-se observar uma sobreposição dos indivíduos coletados, mostrando que os ácaros de *V. destructor* são diversos e não possuem uma morfometria bem estabelecida.

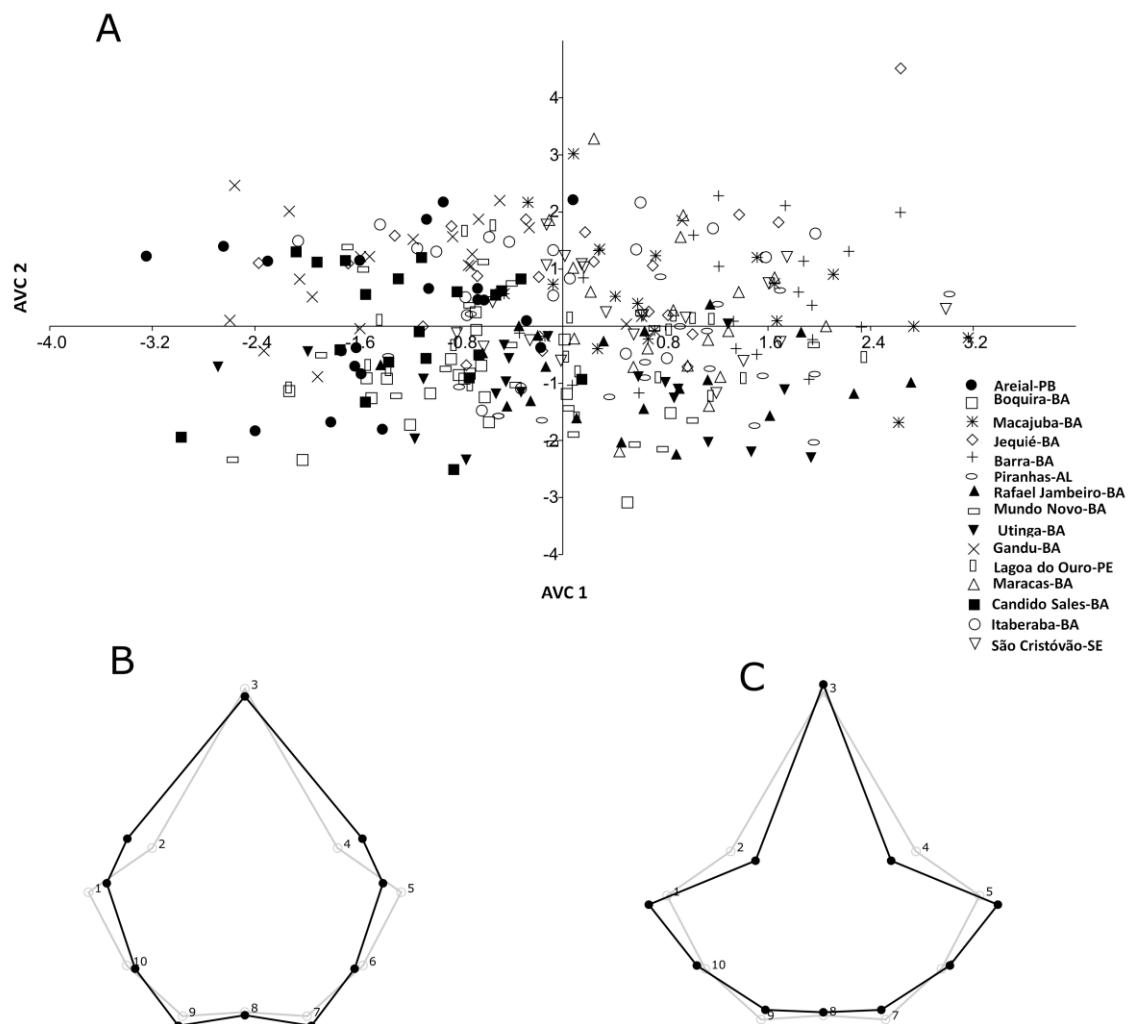


Figura 6. Dispersão gráfica de *Varroa destructor* em relação a eixos cartesianos estabelecidos por variáveis canônicas (AVC1, AVC2) obtidas, a partir da região genitoventral (A). Variação da forma segundo a grade de deformação (B-C). Linha clara corresponde à forma média e linha escura à variação da forma.

Com relação à grade de deformação (Figura 7) foi possível observar as regiões, representados pelos marcos anatômicos, onde ocorrem as maiores variações e a direção da mudança nos eixos negativos e positivos sendo eles 1, 2, 4 e 5 (A-B), 3, 7, 8 e 9 (B-C).



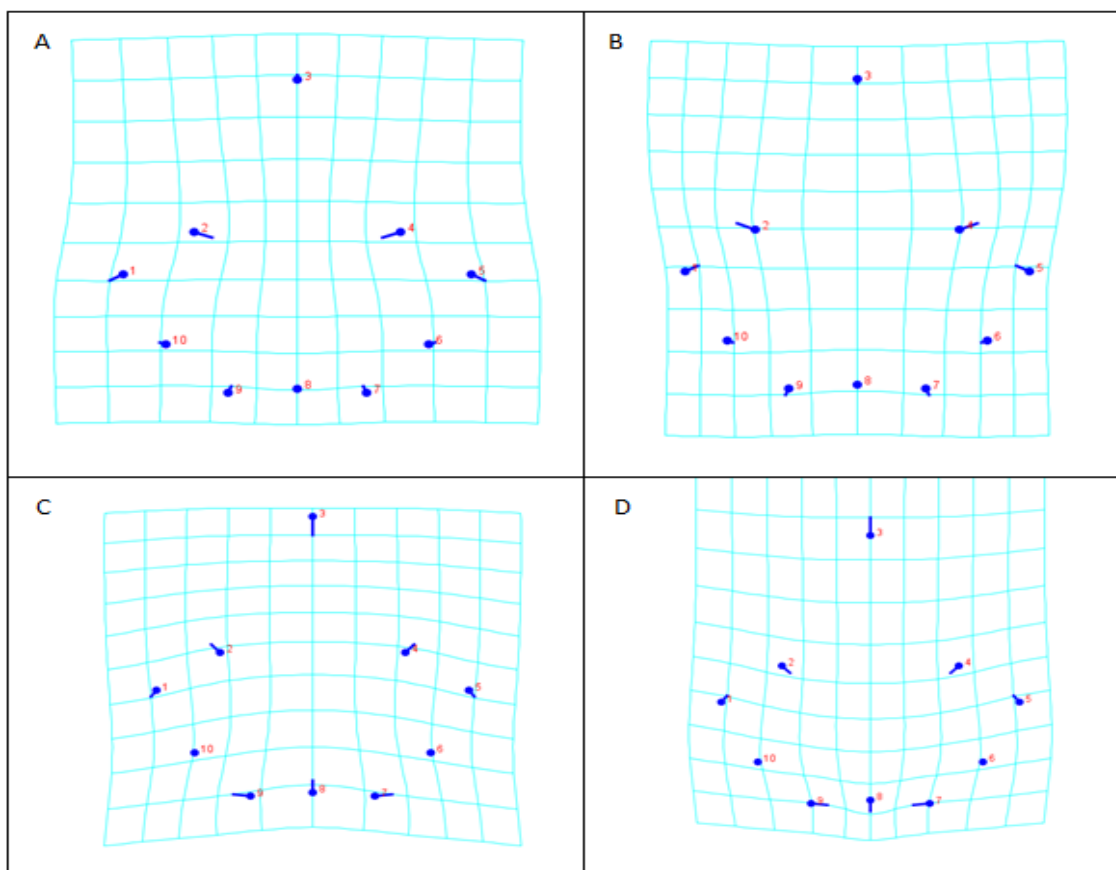


Figura 7 - Deformações na região genitoventral de *Varroa destructor*. Grades de deformação para cada variável canônica do gráfico de dispersão mostrando variação na forma: **A**: forma para valores positivos da CV1; **B**: forma para valores negativos da CV1; **C**: forma para valores positivos da CV2; **D**: forma para valores negativos da CV2.

A porcentagem de classificação dos ácaros de *V. destructor* (região genitoventral) foi considerada correta, a partir da análise de função discriminante de “*cross-validation*”, indicando uma variação de 40,00% a 100%.

A distância de Mahalanobis (Tabela 4) demonstrou que houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre as localidades. A maior distância (2,94) ocorreu entre as populações dos municípios de Areial e Barra. A menor distância morfométrica ocorreu entre as populações dos municípios de Utinga-BA e Rafael Jambeiro-BA com valor de dissimilaridade de 0,77.

Tabela 4. Matriz de dissimilaridade obtida a partir da distância de  $D^2$  de Mahalanobis com base em 300 ácaros fêmeas adultas de *Varroa destructor*, por meio da análise de caracteres morfométricos da placa genitoventral.

	Areial	Barra	Candido Sales	Gandu	Itaberaba	Jequié	Macajuba	Maracas	Mundo Novo	Lagoa do Ouro	Piranhas	Rafael Jambeiro	Sergipe	Utinga
Barra	2,9381**													
Candido Sales	1,1177 <sup>ns</sup>	2,6860**												
Gandu	1,3611**	2,6948**	1,3492**											
Itaberaba	1,6954**	1,7576**	1,8191**	1,6128**										
Jequié	2,4390**	1,7061**	1,9508**	1,6518**	1,6751**									
Macajuba	2,3969**	1,2514 <sup>ns</sup>	2,3855**	2,4869**	1,7956**	2,0124**								
Maracas	2,3722**	1,3837*	2,1786**	2,2999**	1,8650**	1,7055**	0,7968 <sup>ns</sup>							
Mundo Novo	1,6760**	2,2156**	1,5159**	2,1565**	1,7331**	2,1820**	2,0905**	1,8434**						
Lagoa do Ouro	1,8983**	1,9757**	1,8103**	2,1982**	2,1408**	2,2366**	1,5223**	1,5462**	1,5486**					
Piranhas	2,5019**	1,5809**	2,2176**	2,7626**	1,7464**	2,2555**	1,8168**	1,6856**	1,4306**	1,9463**				
Rafael Jambeiro	2,5223**	1,6801**	2,0005**	2,6742**	2,1271**	2,1340**	1,8344**	1,5103**	1,2668 <sup>ns</sup>	1,5505**	0,9404 <sup>ns</sup>			
Sergipe	2,0711**	1,3860*	2,0766**	2,0787**	1,2130 <sup>ns</sup>	1,8829**	1,2077 <sup>ns</sup>	1,1048 <sup>ns</sup>	1,6819**	1,7067**	1,2383*	1,5395**		
Utinga	2,1659**	2,2196**	1,7209**	2,5599**	2,2172**	2,4875**	2,0855**	1,8182**	1,2026 <sup>ns</sup>	1,4455**	1,2118*	0,7712 <sup>ns</sup>	1,6492**	
Boquira	1,9800**	2,7736**	1,4039**	2,2978**	2,4288**	2,3480**	2,6767**	2,2848**	1,2103**	1,7959**	1,8728**	1,4963**	2,2406**	1,1956*

\*\*significativo a 1%; \* significativo a 5% e ns não significativo a 5% de probabilidade.

A partir do teste de *Kruskal-Wallis* foi observado diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) para o tamanho do centróide entre as cidades analisadas. Na Figura 8 observa-se a variação do tamanho do centróide da região genitoventral no diagrama *Boxplot*. Os espécimes de *V. destructor* com maior tamanho foram verificados no município de Areial-PB e os menores em Rafael Jambeiro-BA, que pode ser influenciado por particularidades da região, do manejo e condições climáticas.

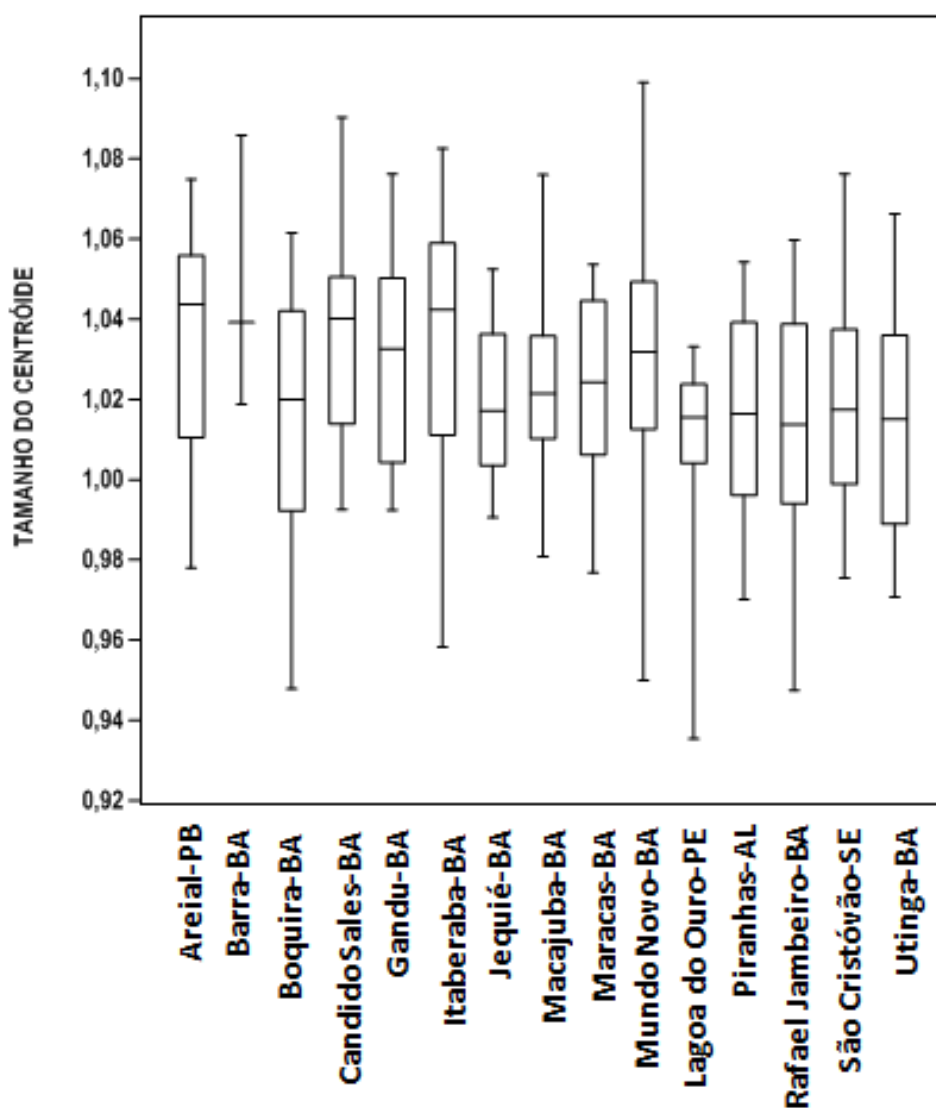


Figura 8. *Boxplot* do tamanho do centroide da placa genitoventral de *Varroa destructor* provenientes do Nordeste brasileiro.

## CONCLUSÃO

As populações de *Varroa destructor* associadas à *Apis mellifera* no Nordeste brasileiro apresentam diferenças morfométricas. A análise da região inguinal do ácaro demonstrou ser útil neste tipo de estudo, permitindo observar a plasticidade fenotípica entre ácaros de diferentes localidades. A região inguinal é um parâmetro recomendado para estudos de morfometria do ácaro.

## REFERÊNCIAS

- AKIMOV, I. A.; BENEDYK, S. V.; ZALOZNAYA, L. M. Complex analysis of morphological characters of Gamasid mite *Varroa destructor* (Parasitiformes, Varroidae). **Vestnik zoologii**, v.38, n. 5, p. 57-66, 2004.
- ALIBERT, P.; MOUREAU, B.; DOMMERGUES, J. L.; DAVID, B. Differentiation at a microgeographical scale within two species of ground beetle, *Carabus auronitens* and *C. nemoralis* (Coleoptera, Carabidae): a geometrical morphometric approach. **Zoologica Scripta**, v. 30, n. 4, p. 299-311, 2001.
- ANDERSON, D. L.; TRUEMAN, J. W. H. *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. **Experimental and Applied Acarology**, v. 24, n. 3, p. 165-189, 2000.
- AUDE, K. E.; ARMAND, P.; FRANCOIS, A.; CHARLEMAGNE, G.; GEORG, G.; MANUELLE, T.; LAMINE, B. M. Morphometric characterization of parasite *Varroa* sp. of bee *Apis Mellifera* L. in Benin. **European Scientific Journal**, v. 12, n. 33, p. 221, 2016.
- BORSUK, G.; OLSZEWSKI, K.; STRACHECKA, A.; PALEOLOG, J.; KASPEREK, K. Genetic and morphometric variation of the *Varroa destructor* developing in standard and small comb cells. **Medycyna Weterynaryjna**, v. 68, n. 10, p.599-602, 2012.
- CARNEIRO, F. E.; TORRES, R. R.; STRAPAZZON, R.; RAMÍREZ, S. A.; GUERRA JR, J. C.; KOLING, D. F.; MORETTO, G. Changes in the reproductive ability of the mite *Varroa destructor* (Anderson e Trueman) in Africanized honey bees (*Apis mellifera* L.) (Hymenoptera: Apidae) colonies in southern Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 36, n. 6, p. 949-952, 2007.

CRISTINO, A. S. **Aspectos reprodutivos envolvidos no processo de africanização das abelhas *Apis mellifera* no Brasil**. 2003. 99f. Dissertação (Mestrado em Ciência) - Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, SP. Disponível em: [https://www.ime.usp.br/~alexsc/tese\\_mestrado.pdf](https://www.ime.usp.br/~alexsc/tese_mestrado.pdf). Acesso em: 10 jan. 2019.

CRUZ C. D.; FERREIRA F. M.; PESSONI L.A. **Biometria aplicada ao estudo da diversidade genética**, 1.ed. Viçosa: Suprema, 2011. 620 p.

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento de plantas**. Viçosa: UFV, v. 2, 2003.

DADGOSTAR, S.; NOZARI, J. Classical and geometric morphometric methods reveal differences between specimens of *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae) from seven provinces of Iran. **Persian Journal of Acarology**, v. 7, n. 1, p. 51-60. 2018.

DE JONG, D. Africanized honey bees in Brazil, forty years of adaptation and success, **Bee World**, v. 77, n. 2, p. 67-70, 1996.

FRANCIS, R. M.; NIELSEN, S. L.; KRYGER, P. *Varroa*-virus interaction in collapsing honey bee colonies. **PLoS One**, v. 8, n. 3, p. e57540, 2013

FREITAS, B. M. Absconding and migratory behaviors of feral Africanized honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies in NE Brazil. **Acta scientiarum. Biological sciences**, v. 29, n. 4, p.381-385, 2007.

GENERSCH, E.; AUBERT, M. Emerging and re-emerging viruses of the honey bee (*Apis mellifera* L.). **Veterinary research**, v. 41, n. 54, p. 1-20, 2010.

GEORGE-NASCIMENTO, M.; MUÑOZ, G.; MARQUET, P. A.; POULIN, R. Testing the energetic equivalence rule with helminth endoparasites of vertebrates. **Ecology Letters**, v. 7, n. 7, p. 527-531, 2004.

GIMÉNEZ MARTÍNEZ, P.; MENDOZA, Y.; INVENIZZI, C.; FUSELLI, S.; ALONSO SALCES, R.; FERNÁNDEZ IRIARTE, P.; MAGGI, M. Morphometric correlation between *Apis mellifera* morphotypes (Hymenoptera) and *Varroa destructor* (Acari) from Uruguay. **Journal of Apicultural Research**, v. 56, n. 2, p. 122-129, 2017.

GIOVANETTI, V.; DECANDIA, M.; MOLLE, G.; ACCIARO, M.; MAMELI, M.; CABIDDU, A.; COSSU, R.; SERRA, M. G.; MANCA, C.; RASSU, S. P. G.; DIMAURO, C. Automatic classification system for grazing, ruminating and resting behaviour of dairy sheep using a tri-axial accelerometer. **Livestock Science**, v. 196, p. 42-48, 2017.

HARTL, D. L.; CLARK, A. G. **Princípios de Genética de Populações**. 4. ed. Porto Alegre: Artemed. 2010. 660 p.

KLINGENBERG, C. P. MorphoJ: an integrate software package for geometric morphometrics. **Molecular Ecology Resources**, v. 11, n. 2, p. 353-357, 2011.

MAGGI, M. D.; SARDELLA, N. H.; RUFFINENGO, S. R.; EGUARAS, M. J. Morphotypes of *Varroa destructor* collected in *Apis mellifera* colonies from different geographic locations of Argentina. **Parasitology Research**, v. 105, n. 6, p. 1629-1636, 2009.

MARTELETO, PATRÍCIA B.; LOMÔNACO, CECÍLIA; KERR, WARWICK E. Respostas fisiológicas, morfológicas e comportamentais de *Zabrotes subfasciatus* (Boheman) (Coleoptera: Bruchidae) associadas ao consumo de diferentes variedades de feijão (*Phaseolus vulgaris*). **Neotropical Entomology**, v. 38, n. 2, p. 178-185, 2009.

MONTEIRO, L. R.; REIS, S. F. **Princípios de morfometria geométrica**. Ribeirão Preto: Holos. 1999. 188 p.

NUNES, L. A.; ARAÚJO, E. D. D.; MARCHINI, L. C.; MORETI, A. C. Variation morphogeometrics of Africanized honey bees (*Apis mellifera*) in Brazil. **Iheringia. Série Zoologia**, v. 102, n. 3, p. 321-326, 2012.

ROHLF, F. J. **TPSUtil for Windows version 1.70**. Morphometrics at SUNY Stony Brook, Department of Ecology and Evolution, State University of New York, Stony Brook. 2010. Disponível em: <http://life.bio.sunysb.edu/morph/index.html>. Acesso em: 22 out. 2018.

ROHLF, F. J. **TpsDig v2.17. for Windows version 1.70**. Morphometrics at SUNY Stony Brook, Department of Ecology and Evolution, State University of New York, Stony Brook. 2013. Disponível em: <http://life.bio.sunysb.edu/morph/index.html>. Acesso em: 22 out. 2018.

ROSENKRANZ, PETER. Honey bee (*Apis mellifera* L.) tolerance to *Varroa jacobsoni* Oud. in South America. **Apidologie**, v. 30, n. 2-3, p. 159-172, 1999.

SCHEINER, SAMUEL M. Genetics and evolution of phenotypic plasticity. **Annual review of ecology and systematics**, v. 24, n. 1, p. 35-68, 1993.

SORBOLINI, S.; GASPA, G.; STERI, R.; DIMAURO, C.; CELLESI, M.; STELLA, A.; MARRAS, G.; MARSAN, P. A.; VALENTINI, A.; MACCIOTTA, N. P. P. Use of canonical discriminant analysis to study signatures of selection in cattle. **Genetics Selection Evolution**, v. 48, n. 1, p. 58, 2016.

SOUZA, F. S.; NUNES, L. A.; OLIVEIRA, E. J. F. D.; COSTA, M. A. P. D. C.; CARVALHO, C. A. L. Population variation and island effect in *Melipona subnitida* (Hymenoptera: Apidae). **Journal of Apicultural Research**, v. 58, n. 1, p. 67-74, 2019.

STEARNS, S. C. The evolutionary significance of phenotypic plasticity. **Bioscience**, v. 39, n. 7, p. 436-445, 1989.



TAN, K.; MEIXNER, M.D.; FUCHS, S. ZHANG, X.; HE, S.; KANDEMIR, I.; SHEPPARD, W.S.; KOENIGER, N. Geographic distribution of the eastern honey bee, *Apis cerana* (Hymenoptera: Apidae), across ecological zones in China: morphological and molecular analysis. **Systematics and Biodiversity**, v.4, n. 4, p. 473-482, 2006.

VANENGELSDORP, D.; EVANS, J. D.; SAEGERMAN, C.; MULLIN, C.; HAUBRUGE, E.; NGUYEN, B. K.; FRAZIER, M.; FRAZIER, J.; COX-FOSTER, D.; CHEN, Y.; UNDERWOOD, R.; TARPY, D. R.; PETTIS, J. S. Colony collapse disorder: a descriptive study. **PloS One**, v. 4, n. 8, p. e6481, 2009.

## ARTIGO 2

### ASSIMETRIA FLUTUANTE EM *Melipona subnitida* INFECTADAS COM O VIRUS DEFORMADOR DA ASA (DWV)<sup>2</sup>

---

<sup>2</sup>Artigo a ser ajustado para posterior submissão ao Comitê Editorial do periódico científico *Sociobiology*

## **ASSIMETRIA FLUTUANTE EM *Melipona subnitida* INFECTADAS COM O VIRUS DEFORMADOR DA ASA (DWV)**

**Resumo:** *Melipona subnitida* está presente em quase todos os estados do Nordeste do Brasil e destaca-se como uma das abelhas sem ferrão mais criadas em toda essa região. Diante da detecção recente da presença de diferentes variantes do vírus deformador da asa (DWV), este estudo objetivou avaliar a presença de assimetria da forma e do tamanho das asas em função das variantes A e C do DWV. Foram usadas um total de 170 operárias de *M. subnitida*, sendo dez por colônia. Retiraram-se as asas anteriores direita e esquerda e medimos usando 10 marcos anatômicos. Todas as abelhas possuíam as duas variantes virais concomitantemente e as análises foram feitas considerando a presença de dois grupos, aqueles que possuíam maior carga viral da variante A (A+) e os que possuíam maior carga da variante C (A-). Foi encontrada a presença de Assimetria Flutuante (AF) em ambos os grupos. No entanto, pela ANOVA não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos ( $P > 0,05$ ), indicando que, tanto a variante A quanto a variante C, podem estar relacionadas à assimetria das asas de *M. subnitida*.

**Palavras- chave:** Abelhas sem ferrão, Estresse, Jandaira.

## **FLOATING ASYMMETRY IN *Melipona subnitida* INFECTED WITH THE WING DEFORMING VIRUS (DWV)**

**Abstract:** *Melipona subnitida* is present in almost all the states in the Northeast of Brazil and stands out as one of the most stingless bees created in this entire region. In view of the recent detection of the presence of different variants of the wing deforming virus (DWV), this study aimed to evaluate the presence of asymmetry in the shape and size of the wings in function of the DWV variants. We used a total of 170 *Melipona subnitida* workers, ten per colony. We removed the right and left anterior wings and measured using 10 anatomical landmarks. All bees had both viral variants concurrently and the analyzes were performed considering the presence of two groups, those with the highest viral load of variant A (A+) and those with the highest load of variant C (A-). The presence of Floating Asymmetry (PA) was found in both groups, however, by ANOVA no significant differences were found between the groups ( $P > 0.05$ ). Thus, both the variant A and C, may be related to the asymmetry of *Melipona subnitida* wings.

**Keywords:** Jandaira, stingless bees, stress.

## INTRODUÇÃO

As abelhas exercem importantes funções no ecossistema, sendo consideradas um dos mais importantes agentes polinizadores (MICHENER, 2007). Devido à fácil domesticação, as abelhas sem ferrão (tribo Meliponini) tem apresentando interesse em novos meliponicultores, uma vez que seu comportamento menos agressivo permite atrelar a produção de mel e captação de pólen. Além de constituírem o principal grupo polinizador da flora brasileira (CAMPOS; GOIS; CARNEIRO, 2010; VILLAS-BÔAS, 2012).

As abelhas sem ferrão estão distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais, nidificando em diferentes substratos e mantendo colônias perenes com populações que variam em função da espécie, podendo atingir mais de cem mil operárias (MICHENER, 2007).

Dentre as diversas espécies presentes no Brasil, a abelha *Melipona subnitida*, popularmente conhecida como jandaira, apresenta grande importância ecológica e econômica para a região Nordeste do Brasil, sendo considerada uma das mais importantes espécies da região em função da sua adaptação ao clima semiárido (CÂMARA et al., 2004).

A jandaira é um polinizador essencial para a vegetação do bioma caatinga, sendo assim, elemento crucial para a preservação desse ambiente (BONATTI et al., 2014). Sua ocorrência já foi registrada em todos os nove estados da região Nordeste do Brasil, em locais que apresentam o clima semiárido (FONSECA et al. 2017), porém, em estudos mais recentes não foram encontradas no estado de Sergipe (CORREIA-OLIVEIRA et al., 2017). No entanto, fatores estressantes como ações antrópicas, retirada da vegetação nativa, implantações de monocultivos e uso de agrotóxicos contribuem para a diminuição da ocorrências natural dessas abelhas (SILVA et al., 2019), além de aspectos relacionados à sanidade, principalmente a detecção do vírus deformador da asa (DWV) com a variante A e C na espécie (SOUZA et al., 2019).

Os fatores estressantes são responsáveis por causar instabilidade no desenvolvimento dos indivíduos o que pode resultar em desvios aleatórios na simetria, sendo a Assimetria Flutuante (AF) parâmetro fundamenta para avaliar esses desvios (PALMER, 1994).

Diante disso, o presente estudo teve como objetivo avaliar a presença de assimetria da forma e do tamanho das asas em função das variantes A e C do DWV.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Coleta das amostras**

Foram coletadas um total de 170 operárias de *Melipona subnitida*, sendo dez por colônia. As colônias estavam localizadas nos estados do Ceará e Rio Grande do Norte. Todas as amostras coletadas foram armazenadas em tubos cônicos contendo etanol absoluto e armazenadas a -20 °C.

A presença das variantes A e C do vírus deformador de asa (DWV) nas amostras de *M. subnitida* foi determinado por Souza et al (2019).

### **Preparo das amostras**

As abelhas foram colocadas em placa de *Petri* para a retirada das asas anteriores, direita e esquerda. As asas foram assentadas em lâminas para microscopia e fotografadas com sistema de imagem (Leica Application Suite version 3.4.1) acoplado a estereomicroscópio. A partir das imagens capturadas foi criado um arquivo com o formato TPS, utilizando o programa TpsUtil versão 1.78 (ROHLF, 2019). Posteriormente, foi utilizado o programa TpsDig2 versão 2.17 (ROHLF, 2013) onde foram plotados os marcos anatômicos (10) na junção das nervuras de cada asa, para realizar a mensuração (Figura 1). Além disso, as asas esquerdas foram espelhadas para permitir a comparação com as direitas.

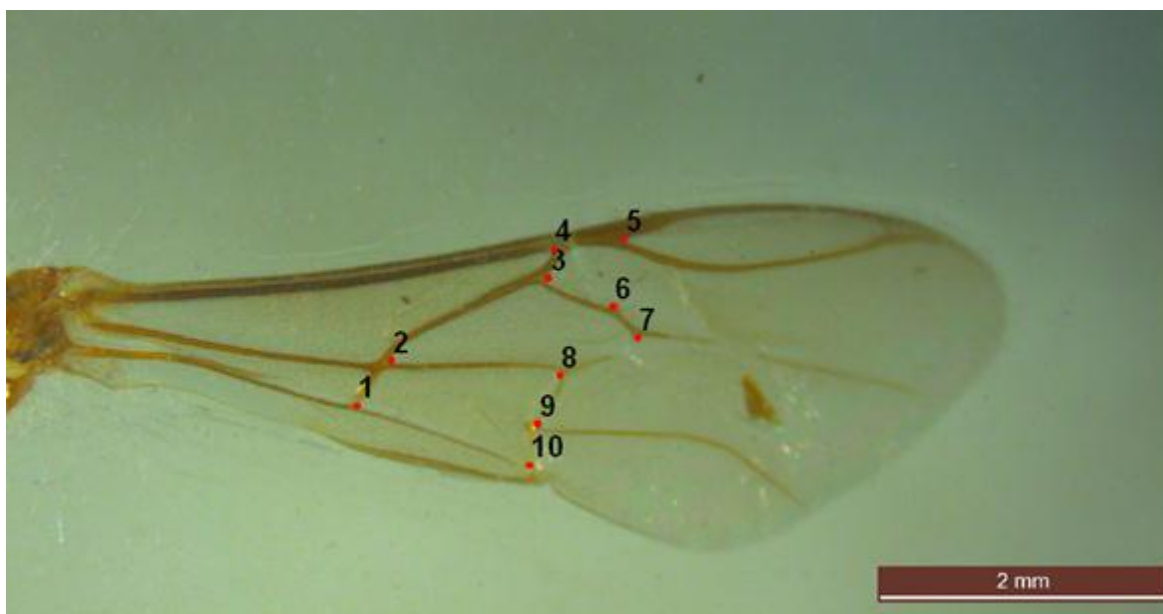


Figura 1. Marcos anatômicos utilizados na análise de assimetria flutuante da asa anterior de *Melipona subnitida*.

### Análise dos dados

As asas foram medidas duas vezes e de maneira independente para avaliar se havia erro do medidor (PALMER, 1994). Foi realizada uma ANOVA de Procrustes para avaliar diferenças na assimetria flutuante da forma e do tamanho das asas (PALMER; STROBECK, 2003). A forma e o tamanho do centroide e a forma foram usados como variáveis independentes, o lado do corpo como um efeito fixo e os indivíduos como um efeito aleatório (Klingenberg e McIntyre, 1998). Assim, o efeito do indivíduo representa a variação individual na forma, e o efeito do lado do corpo representa a assimetria direcional das asas. A presença de assimetria flutuante foi obtida através da comparação das somas de quadrados da interação de lado do corpo x indivíduos com as somas de quadrados da medida do erro (Klingenberg e McIntyre, 1998).

### RESULTADOS

Pela Procrustes ANOVA foi verificada a presença de assimetria flutuante, tanto para forma quanto para o tamanho das asas de *M. subnitida* portadora das

variantes A e C do vírus deformador da asa. Assimetria foi percebida pela interação significativa do lado x indivíduo (Tabela 1 e 2,  $p < 0.01$ )

O vírus deformador da asa (DWV), seja a variante A ou a variante C, é mais um fator estressor responsável por alterar a assimetria da asa de *M. subnitida*.

Tabela 1. A análise de Procrustes ANOVA do tamanho e forma da asa de abelhas com uma maior carga viral da variante A.

		<b>Efeito</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>GL</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
A+	Tamanho do centroide	Individuo	8,096049	0,026286	308	49,09	<.0001
		Lado	0,002951	0,002951	1	5,51	0,0195
		Ind*lado	0,164909	0,000535	308	5,84	<.0001
		Erro	0,056692	0,000092	618		
	Forma	Individuo	0,5830116	0,0001183059	4928	4,55	<.0001
		Lado	0,02526694	0,0015791837	16	60,79	<.0001
		Ind*Lado	0,12801058	0,0000259762	4928	3,00	<.0001
		Erro	0,08574100	0,0000086712	9888		

Tabela 2. A análise de Procrustes ANOVA do tamanho e forma da asa de abelhas com maior carga viral da variante C.

		<b>Efeito</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>GL</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
A-	Tamanho do centroide	Individuo	1,047743	0,009272	113	28,36	<<.0001
		Lado	0,000029	0,000029	1	0,09	0,7662
		Ind*lado	0,036945	0,000327	113	8,26	<.0001
		Erro	0,009026	0,000040	228		
	Forma	Individuo	0,17978537	0,0000994388	1808	4,06	<.0001
		Lado	0,00796958	0,0004980988	16	20,36	<.0001
		Ind*Lado	0,04423749	0,0000244676	1808	4,36	<.0001
		Erro	0,02048032	0,0000056141	3648		

O efeito da ANOVA para as diferenças no tamanho do centroide entre os indivíduos que apresentavam maior carga viral da variante A (A+) e maior carga da variante C (A-), não foi significativo ( $p > 0,05$ ) (Figura 2).



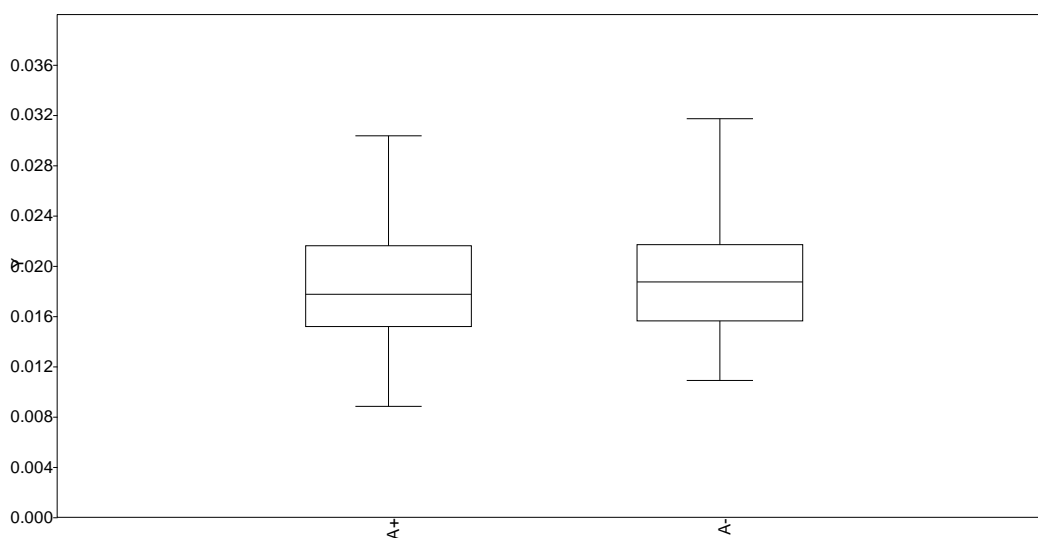


Figura 2. Gráfico de caixa mostrando a variação da assimetria flutuante entre variantes do vírus deformador da asa (DWC) em *Melipona subnitida* (A+: Maior carga da variante A; A-: Maior carga da variante C).

## DISCUSSÃO

Fatores como manejo das caixas, sejam modelos racionais ou cortiços (LIMA et al, 2016), exposição a pesticidas (PRADO-SILVA et al, 2018), fornecimento de alimentação artificial (FATHY et al, 2018), diferentes habitats (BANASZAK-CIBICKA et al., 2018) estresse térmico (MEDINA et al., 2018) e o transporte de colônias por grandes distâncias (ANDRADE et al, 2020) são tidos como agentes modificadores da simetria das asas de abelhas, porém não eram levadas em consideração a presença de vírus.

Em *Apis mellifera*, *V. destructor* e o vírus DWV, associados, são responsáveis por causar maiores danos à saúde das abelhas e até ser correlacionados ao colapso da colônia (DAINAT et al, 2012)

A transmissão de DWV poderá ocorrer de diferentes formas, dentre elas, por via oral, fecal ou por *V. destructor*, dispersando-se entre pupas e adultos (DE MIRANDA et al., 2010). Ainda poderá ocorrer no momento do forrageamento, se a campeira coletar pólen de flores visitadas anteriormente por indivíduos infectados (MAZZEI et al., 2014). Não se conhece as rotas de infecção do vírus em *M.*

*subnitida* até mesmo porque a primeira detecção foi recente, apresentada por Souza et al., (2019).

Os sintomas característicos da infecção aguda do vírus deformador da asa (DWV) são a deformidade das asas, menor longevidade (LANZI et al., 2006; HIGHFIELD et al., 2009), redução do peso corporal e imunossupressão, sendo este o principal responsável pela antecipação da morte das abelhas (YANG e COX-FOSTER, 2006). Além disso, interferem nos processos de aprendizagem e memória (IQBAL; MUELLER, 2007), fatores indispensáveis na estratégia de coleta de alimentos e conseqüentemente para a sobrevivência das abelhas.

A abelha *M. subnitida* usa da memória para ajustar a quantidade de alimento energético conforme a expectativa de coleta e de acordo com a especificidade de trabalho, isto é, aquelas que coletam néctar e tem maior previsão de coleta, carregam menos néctar durante o forrageamento (HARANO; MAIA-SILVA; HRNCIR, 2020). Dessa forma, a estratégia de forrageamento é determinante na sobrevivência de *M. subnitida*.

A produção de cria esta intimamente ligada à abundancia na disponibilidade de alimento. Em períodos de seca a produção de cria cessa para economia das reservas de alimento e garantia de perpetuação da colônia, sendo retomada a postura rapidamente quando há nova oferta, e com preferência por alimentos mais ricos energeticamente (MAIA-SILVA et al., 2015).

No entanto, as mudanças globais no clima podem interferir de forma desfavorável, sendo capazes de alterar comportamento e morfologia, prejudicando nas relações de competição (SCHWEIGER et al., 2010) e as abelhas podem não ser capazes de absorver os impactos desses fatores estressantes, aumentando o nível de assimetria.

Considerando essas alterações, são necessários mais estudos sobre o impacto da assimetria nas abelhas, de forma a elucidar se as mudança estão beneficiando ou prejudicando o desenvolvimento populacional das colônias.

## CONCLUSÃO

A simetria da forma e do tamanho das asas de *Melipona subnitida*, podem estar sendo afetadas pela presença do vírus deformador da asa. As mudanças nas asas podem ser mais um fator que dificulta a sobrevivência de colônias naturais de *M. subnitida*. São necessários mais estudos a fim de avaliar os impactos da assimetria no desenvolvimento das colônias.

## REFERÊNCIAS

BONATTI, V.; SIMÕES, Z. L. P.; FRANCO, F. F.; FRANCOY, T. M. Evidence of at least two evolutionary lineages in *Melipona subnitida* (Apidae, Meliponini) suggested by mtDNA variability and geometric morphometrics of forewings. **Naturwissenschaften**, v. 101, n. 1, p. 17-24, 2014.

CÂMARA, J. Q.; DE SOUSA, A. H.; DE VASCONCELOS, W. E.; DA SILVEIRA MAIA, P. H.; DE ALMEIDA, J. C.; BORGES, P. M. Estudos de meliponíneos, com ênfase a *Melipona subnitida* D. no município de Jandaíra, RN. **Revista de biologia e ciências da terra**, v. 4, n. 1, 2004.

CORREIA-OLIVEIRA, M. E.; LIMA, C. B. DA S.; ALVES, R. M. DE O.; SODRÉ, G. DA S.; SOUZA, B. DE A.; F. RIBEIRO, M. DE; CARVALHO, C. A. L. DE. The Southern Limit of Natural Occurrence of the stingless bee *Melipona subnitida* (Hymenoptera: Apidae). **Journal of Entomological Research**, v. 41, n. 4, p. 353-360, 2017.

DAINAT, B., EVANS, J. D., CHEN, Y. P., GAUTHIER, L.; NEUMANN, P.. Predictive markers of honey bee colony collapse. **PLoS one**, v. 7, n. 2, p. e32151, 2012.

DE MIRANDA, J. R.; CORDONI, G.; BUDGE, G. The acute bee paralysis virus–Kashmir bee virus–Israeli acute paralysis virus complex. **Journal of invertebrate pathology**, v. 103, p. S30-S47, 2010.

DE MIRANDA, Joachim R.; CORDONI, Guido; BUDGE, Giles. The acute bee paralysis virus–Kashmir bee virus–Israeli acute paralysis virus complex. **Journal of invertebrate pathology**, v. 103, p. S30-S47, 2010.

FATHY, H. M.; MAZEED, A. M.; NAFAE, E. A.; ABD EL DAYEM, M. R. Artificial Feeding and Wing Symmetry in Drone Honeybees. **Journal of Plant Protection and Pathology**, v. 9, n. 10, p. 671-675, 2018.

FONSECA, V. L. I.; KOEDAM, D.; HRNCIER, M. **A abelha Jandaíra no passado, no presente e no futuro**. 1 ed. Mossoró-RN: EdUFERSA, 2017. 254p.

HARANO, Ken-ichi; MAIA-SILVA, Camila; HRNCIR, Michael. Adjustment of fuel loads in stingless bees (*Melipona subnitida*). **Journal of Comparative Physiology A**, v. 206, n. 1, p. 85-94, 2020.

HARANO, KEN-ICHI; MAIA-SILVA, CAMILA; HRNCIR, MICHAEL. Adjustment of fuel loads in stingless bees (*Melipona subnitida*). **Journal of Comparative Physiology A**, v. 206, n. 1, p. 85-94, 2020.

HIGHFIELD, A. C. et al. Deformed wing virus implicated in overwintering honeybee colony losses. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 75, n. 22, p. 7212-7220, 2009.

KLINGENBERG, C. P. MorphoJ: an integrate software package for geometric morphometrics. **Molecular Ecology Resources**, v. 11, n. 2, p. 353-357, 2011.

LANZI, G. et al. Molecular and biological characterization of deformed wing virus of honeybees (*Apis mellifera* L.). **Journal of virology**, v. 80, n. 10, p. 4998-5009, 2006.

LIMA, C. B. S.; NUNES, L. A.; CARVALHO, C. A. L.; RIBEIRO, M. F.; SOUZA, B. A.; SILVA, C. S. B. "Morphometric differences and fluctuating asymmetry in *Melipona subnitida* Ducke 1910 (Hymenoptera: Apidae) in different types of housing." **Brazilian Journal of Biology** 76.4 (2016): 845-850.

MAIA-SILVA, C. C. et al. Survival strategies of stingless bees (*Melipona subnitida*) in an unpredictable environment, the Brazilian tropical dry forest. **Apidologie**, v. 46, n. 5, p. 631-643, 2015.

MICHENER, C. D. **The Bees of the World**. 2. ed. Baltimore: The Johns Hopkins University Press, 2007, 953 p.

NUNES, L. A.; PASSOS, G. B.; CARVALHO, C. A. L.; & ARAÚJO, E. D.. Size and shape in *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lepeletier, 1836 (Hymenoptera; Meliponini). **Brazilian Journal of Biology**, v. 73, n. 4, p. 887-893, 2013.

PERUQUETTI, R. C. Variação do tamanho corporal de machos de *Eulaema nigrita* Lepeletier (Hymenoptera, Apidae, Euglossini). Resposta materna à flutuação de recursos?. **Revista Brasileira de Zoologia**, 20(2), 207-212, 2003

PRADO-SILVA, ARLETE; NUNES, L. A.; DOS SANTOS, J. M.; DE MELLO AFFONSO, P. R. A.; WALDSCHMIDT, A. M.. Morphogenetic alterations in *Melipona quadrifasciata anthidioides* (Hymenoptera: Apidae) associated with pesticides. **Archives of environmental contamination and toxicology**, v. 74, n. 4, p. 627-632, 2018.

ROHLF, F. J. **TpsDig v2.17. for Windows version 1.70**. Morphometrics at SUNY Stony Brook, Department of Ecology and Evolution, State University of New York, Stony Book. 2013. Disponível em: <http://life.bio.sunysb.edu/morph/index.html>. Acesso em: 22 out. 2018.

ROHLF, F. J. **TPSUtil for Windows version 1.70**. Morphometrics at SUNY Stony Brook, Department of Ecology and Evolution, State University of New York, Stony Book. 2010. Disponível em: <http://life.bio.sunysb.edu/morph/index.html>. Acesso em: 22 out. 2018.

SCHWEIGER, Oliver et al. Multiple stressors on biotic interactions: how climate change and alien species interact to affect pollination. **Biological Reviews**, v. 85, n. 4, p. 777-795, 2010.

SILVA, M. G.; DANTAS, M. C. D. A. M.; MOREIRA, J. N.; JUNIOR, E. B. P.; DE OLIVEIRA NETO, J. N.; DE MEDEIROS, A. C.; GADELHA, H. S. Criação racional de abelhas jandaíra e sua importância ambiental. **Revista Brasileira de Gestão Ambiental**, v. 13, n. 1, p. 13-18, 2019.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

As abelhas são insetos chaves no sucesso da maioria das culturas que se beneficiam direta ou indiretamente pelo fenômeno da polinização. Por isso, toda atenção com a sanidade das suas populações é relevante, especialmente no cenário do Brasil, particularmente na região Nordeste, cuja atividade de criação das abelhas também é voltada para os produtos das colmeias. Neste aspecto, a apicultura e a meliponicultura apresentam importância econômica para a agricultura familiar.

Um dos parasitos que impactam negativamente a saúde das abelhas é o ácaro *Varroa destructor*, tanto pela sua capacidade de dano devido ao seu hábito alimentar, sugando a hemolinfa de larvas, como a sua capacidade de transmitir vírus patogênicos às abelhas. Embora o ácaro seja associado à *Apis mellifera*, os vírus que ele transmite podem infectar outras espécies de abelhas, como os meliponíneos. Dessa forma, estudos que agreguem conhecimento sobre os ácaros *V. destructor* podem ajudar na definição de estratégias de manejo e ações visando à saúde das abelhas.

Nesse estudo, foi constatado que há diferenças na forma e no tamanho dos ácaros entre as amostras analisadas. Também foi possível concluir que a análise da região inguinal do ácaro demonstrou ser útil, permitindo observar a plasticidade fenotípica entre ácaros de diferentes localidades. Este é o primeiro estudo que utilizou ferramentas da morfometria geométrica para analisar populações de *V. destructor* no Brasil.

Apesar dos vírus transmitidos para *A. mellifera* pelo *Varroa* serem detectados em meliponíneos, a sintomatologia ainda é pouco conhecida. No artigo que avalia a assimetria flutuante das asas de operárias de *Melipona subnitida* com vírus deformador de asa (DWV) foi verificado que há assimetria no tamanho e na forma das asas. No entanto, são necessários mais estudos para avaliar o efeito dessa variação na capacidade de forrageamento dessas abelhas.