

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

PARÂMETROS DE AVALIAÇÃO QUANTITATIVAS E
QUALITATIVAS DE RAINHAS *Apis mellifera*
(HYMENOPTERA: APIDAE) UMA ABORDAGEM
EXPERIMENTAL E REVISÃO CIENCIOMÉTRICA

Autora: Jessica Carolina Camargo López
Orientadora: Prof.^a Dr.^a Eliane Gasparino
Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Fabiana Martins Costa-Maia

Maringá- PR
julho - 2024

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

PARÂMETROS DE AVALIAÇÃO QUANTITATIVAS E
QUALITATIVAS DE RAINHAS *Apis mellifera*
(HYMENOPTERA: APIDAE) UMA ABORDAGEM
EXPERIMENTAL E REVISÃO CIENCIOMÉTRICA

Autora: Jessica Carolina Camargo López
Orientadora: Prof.^a Dr.^a Eliane Gasparino
Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Fabiana Martins Costa-Maia

Tese apresentada, como parte das exigências
para obtenção do título de DOUTORA EM
ZOOTECNIA, no Programa de Pós-
Graduação em Zootecnia da Universidade
Estadual de Maringá - Área de concentração:
Produção Animal

Maringá-PR
julho - 2024

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá - PR, Brasil)

C173p

Camargo López, Jéssica Carolina

Parâmetros de avaliação quantitativas e qualitativas de rainhas *Apis mellifera* (Hymenoptera:Apidae) uma abordagem experimental e revisão cienciométrica / Jéssica Carolina Camargo López. -- Maringá, PR, 2024.

ix, 110 f. : il., figs., tabs., mapas

Orientadora: Profa. Dra. Eliane Gasparino.

Coorientadora: Profa. Dra. Fabiana Martins Costa-Maia.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Zootecnia, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2024.

1. Apicultura (*Apis mellifera*). 2. Abelhas rainhas - Variáveis qualitativas . 3. Abelhas rainhas - Variáveis quantitativas . 4. Revisão cienciométrica. I. Gasparino, Eliane , orient. II. Costa-Maia, Fabiana Martins, coorient. III. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias. Departamento de Zootecnia. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. IV. Título.

CDD 23.ed. 638.1

Márcia Regina Paiva - CRB-9/1267



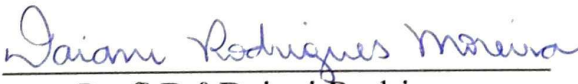
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

PARÂMETROS DE AVALIAÇÃO QUANTITATIVAS
E QUALITATIVAS DE RAINHAS *APIS MELLIFERA*
(HYMENOPTERA: APIDAE) UMA ABORDAGEM
EXPERIMENTAL E REVISÃO CIENCIOMÉTRICA

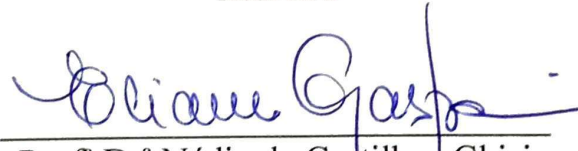
Autora: Jessica Carolina Camargo López
Orientadora: Profª Drª Eliane Gasparino

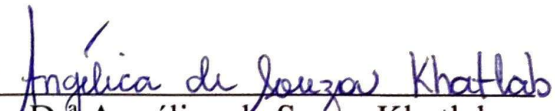
TITULAÇÃO: Doutora em Zootecnia - Área de Concentração Produção
Animal

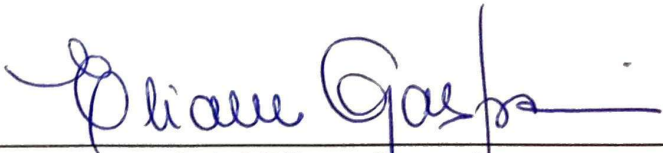
APROVADA em 01 de julho de 2024.


Profª Drª Daiani Rodrigues
Moreira


Profª Drª Ana Paul del Vesco


Profª Drª Nédia de Castilhos Ghisi


Drª Angélica de Souza Khatlab


Profª Drª Eliane Gasparino
Orientadora

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

À Universidade Estadual de Maringá (UEM) e à Universidade Tecnológica e Federal do estado do Paraná (UTFPR), que forneceram estrutura física para que este trabalho fosse realizado.

Ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia da UEM (PPZ) e a todos os professores com quem tive a oportunidade de aprender e crescer profissionalmente.

À minha orientadora Prof.^a Dr.^a Eliane Gasparino, pela orientação, convivência e ensinamentos.

À minha coorientadora Prof.^a Dr.^a Fabiana Martins Costa-Maia, pela orientação, por todos os ensinamentos durante essa trajetória, pelos conselhos e conversas sobre as coisas da vida e por acreditar em mim.

À Dr.^a Angélica de Souza Khatlab por toda contribuição para o desenvolvimento dessa Tese. A caminhada se tornou mais leve com sua ajuda.

Ao Grupo de Pesquisa em Melhoramento de Abelhas (Δ Gbee) pela convivência, amizade e ajuda no levantamento e análise dos dados.

À minha família principalmente ao meu pai Pablo Exequiel Camargo Malaver, minha mãe Martha López Muñeton, às minhas irmãs Ginna Paola Camargo López e

Angie Natalia Camargo López e ao meu sobrinho Juan Pablo Villamizar Camargo, pelo apoio, cuidado e por tanto amor e forças para continuar.

Á banca de defesa pelas sugestões e correções que contribuíram com significativas melhorias na Tese.

Á Deus, por tudo, sempre.

BIOGRAFIA

JESSICA CAROLINA CAMARGO LÓPEZ, filha de Pablo Exequiel Camargo Malaver e Martha López Muñeton, nasceu na cidade de Bogotá D.C – Colômbia, no dia 21 de janeiro de 1995.

Realizou os estudos do ensino fundamental na Escola Gerardo Paredes de suba, em Bogotá – Colômbia; e o ensino médio na Instituição Educativa Distrital – Colégio Gonzalo Arango de Bogotá D.C – Colômbia, concluídos em 2011.

Cursou graduação em Zootecnia na Universidad Nacional de Colômbia - campus Bogotá, no período de 2012 a 2017 e ingressou, em 2018, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade Estadual de Maringá, em nível de Mestrado, área de Produção Animal – Apicultura, sob a orientação do Prof. Dr. Vagner de Alencar Arnaut de Toledo. No dia 27 de fevereiro de 2020, submeteu-se à banca para defesa da dissertação.

Em março de 2020, dando continuidade a seus estudos, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá, em nível de Doutorado, área de concentração Produção Animal - Melhoramento Genético Animal, sob orientação da Prof.^a Dr.^a Eliane Gasparino.

No dia 01 de julho de 2024, submeteu-se à banca examinadora para a defesa de Tese apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de doutora em Zootecnia.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS.....	vii
LISTA DE FIGURAS.....	viii
RESUMO.....	
ABSTRACT.....	
I. INTRODUÇÃO.....	1
1. Revisão de literatura.....	2
1.1. Anatomia e características reprodutivas das abelhas rainhas.....	2
1.2. Peso a emergência e sua relação com outras características morfométricas.....	5
1.3. Sistema de acasalamento.....	7
1.4. Feromônios produzidos pela rainha.....	10
1.5. Longevidade da rainha.....	12
1.6. Produção e substituição de rainhas.....	14
1.7. Inseminação instrumental.....	15
1.8. Nutrição da colônia e seu impacto na rainha.....	16
1.9. Transporte da rainha.....	17
1.10. Introdução da rainha e banco de rainhas.....	17
1.11. Virus e doenças que afetam a qualidade da rainha.....	20
1.12. Agrotóxicos e seu impacto na rainha.....	22
1.13. Relação dos parâmetros genéticos com a qualidade das rainhas.....	26
1.14. Cienciometria.....	29
Referências.....	31
II. OBJETIVOS GERAIS.....	43
III. Parâmetros de avaliação qualitativa de abelhas rainhas <i>Apis mellifera</i> : uma revisão cienciométrica.....	44
Resumo.....	44
Abstract.....	45
Introdução.....	45
Material e métodos.....	47
Resultados e Discussão.....	51
Conclusões.....	75
Referências.....	76
IV. Avaliação do peso vivo, peso dos ovários e contagem de ovariolos como estimativas de qualidade de abelhas rainhas <i>Apis mellifera</i> em apiários comerciais localizados em Santa Catarina.....	84
Resumo.....	84
Abstract.....	86

Introdução.....	86
Material e métodos.....	89
Resultados e Discussão.....	93
Conclusões.....	103
Referências.....	104

LISTA DE TABELAS

	Página
III. Parâmetros de avaliação qualitativa de abelhas rainhas <i>Apis mellifera</i> : uma revisão cienciométrica.....	44
Tabela 1. Top 20 Instituições com maior número de publicações na área.....	58
Tabela 2. Top 10 revistas que publicam sobre qualidade de abelhas rainhas.....	63
Tabela 3. Top 10 Autores com maior número de publicações.....	65
Tabela 4. Top 10 de artigos com maior burst e número de citações.....	73
Tabela 5. Top 10 agencias que financiam as pesquisas sobre qualidade de abelhas rainhas.....	75
IV. Avaliação do peso vivo, peso dos ovários e contagem de ovariolos como estimativas de qualidade de abelhas rainhas <i>Apis mellifera</i> em apiários comerciais localizados em Santa Catarina	84
Tabela 1. Descrição das variáveis avaliadas por apiário a partir dos valores de mediana, mínimo e máximo para abelhas rainhas (<i>A. mellifera</i>) africanizadas.....	94
Tabela 2. Descrição das características morfométricas e reprodutivas para a população total de rainhas de descarte.....	97

LISTA DE FIGURAS

	Página
I. INTRODUÇÃO	1
Figura 1. Trato reprodutivo superior, incluindo ovários (1), cálice (2), ovidutos laterais (3) (o oviduto direito está distendido com ovos), oviduto mediano (4) e espermateca coberta por uma rede traqueal (5) (barra = 1 mm). (Adaptado de Kozii et al., 2022).....	3
Figura 2. Padrão de cria em círculos concêntricos. A-favo completo (fonte própria), B- Região do favo com postura de qualidade (Moore et al., 2015).....	9
III. Parâmetros de avaliação qualitativa de abelhas rainhas <i>Apis mellifera</i> : uma revisão cienciométrica	44
Figura 1. Fluxograma do prisma, mostrando o fluxo de obtenção dos registros sobre qualidade de abelhas rainhas.....	49
Figura 2. Número e tipo de publicações registradas anualmente entre 1973 e 2023.....	51
Figura 3. Produção científica sobre qualidade de abelhas rainhas. A linha vermelha representa o número de citações dos artigos publicados por ano e a linha azul o número acumulado de publicações.....	52
Figura 4. Países que publicam sobre qualidade de abelhas rainhas.....	53
Figura 5. Mapa de cocitação de países que desenvolvem pesquisas sobre qualidade de abelhas rainhas.....	56
Figura 6. Mapa de cocitação de instituições que desenvolvem pesquisas sobre qualidade de abelhas rainhas.....	57
Figura 7. Análise de clusters para áreas de pesquisa que se interessam pela qualidade das abelhas rainhas.....	61
Figura 8. Mapa de cocitação de revistas.....	64
Figura 9. Cocitação de autores que pesquisam sobre qualidade de rainhas; a. período 1994-2008.....	67
Figura 10. Cocitação de autores que pesquisam sobre qualidade de abelhas rainhas no período 2009-2023.....	69
Figura 11. Análise de cocitação de palavras chaves no período 1994-2023. a. Mapa de cocitação, b. Gráfico de frequência e centralidade.....	71

IV. Avaliação do peso vivo, peso dos ovários e contagem de ovariolos como estimativas de qualidade de abelhas rainhas <i>Apis mellifera</i> em apiários comerciais localizados em Santa Catarina	84
Figura 1. Localização dos apiários utilizados na pesquisa, municípios de Jupiá, São Lourenço do Oeste e Novo Horizonte, estado de Santa Catarina-Brasil.....	90
Figura 2. Avaliação das abelhas rainhas. A-Pesagem em balança analítica e B-dissecção do abdome e remoção dos ovários.....	91
Figura 3. Processo de contagem de ovariolos. A-Corte histológico do ovário B-contagem realizada no software Zen 3.5 Blue Edition.....	92
Figura 4. Boxplot do número total de ovariolos por apiário.....	100
Figura 5. Correlação de Spearman para as variáveis Peso da rainha (Peso), número de ovariolos no ovario direito (N_ov_d) e esquerdo (N_ov_e), número total de ovariolos (N_total_ov) e peso do ovario direito (P_ov_d) e esquerdo (P_ov_e).....	102

RESUMO

A abelha rainha é fundamental para a saúde, produtividade e sobrevivência das colônias, sendo a única responsável pela postura de ovos férteis. Sua qualidade reprodutiva influenciada por fatores como genética, condições ambientais e práticas de manejo do apicultor, que impactam diretamente o desempenho da colônia. Assim, investir na seleção e produção de rainhas de qualidade é crucial para o sucesso da atividade e a sustentabilidade das colônias de abelhas. Por outro lado, a falha ou a baixa qualidade das rainhas é uma causa significativa de perdas nas colônias de abelhas melíferas no mundo. Nesse sentido, definir parâmetros quantitativos e qualitativos que permitam avaliar o desempenho da rainha, é indispensável para o sucesso econômico da apicultura. Os objetivos desta tese foram determinar o panorama de pesquisa em relação a características qualitativas das abelhas rainhas em termos de ano, países, instituições, áreas de pesquisa, revistas, autores e palavras-chave envolvidas na pesquisa científica com abelhas, por meio de um estudo cienciométrico no banco de dados Web of Science no período de 1997 a 2023. Além disso, selecionamos as seguintes características: peso da rainha e peso dos ovários em conjunto com a contagem de ovariolos, como variáveis quantitativas destacadas na ciencimetria para serem avaliadas a campo em abelhas rainhas descartadas, provenientes de apiários comerciais localizados no estado de Santa Catarina-BR. Depois de avaliar 278 registros com 6979 citações, os resultados indicam que a maioria destes registros foram publicados em inglês, o país com o maior número e a maior relevância de pesquisas publicadas sobre qualidade de rainhas foi Estados Unidos, enquanto a principal instituição também localizada neste país foi a North Carolina State University e o autor associado a esta universidade, David Tarpy com o maior número de publicações. A área que mais se interessa neste tipo de pesquisa é a entomologia, com avaliações que envolvem a idade e o peso a emergência da rainha, dentro desta área, a

revista *Apidologie* lidera o ranking com 37 artigos publicados. Além disso, foram identificados *hot spots* nesta área de conhecimento relacionados com evolução da abelha, comportamento da rainha, armazenamento de espermatozoides e expressão gênica. Em relação a avaliação quantitativa das rainhas, 137 abelhas rainhas *Apis mellifera* africanizadas de descarte provenientes de 28 apiários comerciais localizados nos municípios de Jupiá, São Lourenço do Oeste e Novo Horizonte, estado de Santa Catarina-Brasil, foram avaliadas durante o ano de 2021. A coleta seguiu as orientações dos apicultores, descartando principalmente, rainhas com baixa produção de mel na safra, rainhas com falha na postura, rainhas que vieram de coleta de enxames ou rainhas de colônias fracas. As características de peso da rainha, peso do ovário direito e esquerdo e a contagem de ovários de ambos os ovários foram avaliadas sem encontrar diferenças estatísticas entre apiários (Kruskal Wallis, $p > 0,05$). O peso das rainhas variou entre 115,5 e 230,4 mg, com mediana de 191,4 mg. O peso do ovário esquerdo variou de 2 a 37,70 mg com mediana de 22,70 e de 1,90 a 39,7 com mediana de 39,79 mg para o ovário direito. Quanto à contagem de ovários, os valores variaram de 58 a 340 ovários para o ovário esquerdo e de 68 a 290 para o direito. Esses resultados, quando comparados a estudos prévios, indicam que as rainhas descartadas ainda podem ser consideradas como de boa qualidade e sugerem cautela na hora de descartar as rainhas para evitar atraso nas colônias devido á troca e possíveis perdas econômicas.

Palavras-chave: cienciometria, fecundidade, qualidade da rainha, reprodução

ABSTRACT

The queen bee is fundamental to the health, productivity, and survival of colonies, being the sole responsible for laying fertile eggs. Its reproductive quality, influenced by factors such as genetics, environmental conditions, and beekeeper management practices, directly impacts the colony's performance. Thus, investing in the selection and production of high-quality queens is crucial for the success of beekeeping and the sustainability of bee colonies. On the other hand, queen failure or poor queen quality is a significant cause of honey bee colony losses worldwide. In this sense, defining quantitative and qualitative parameters to assess queen performance is essential for the economic success of beekeeping. The objectives of this thesis were to determine the research landscape regarding the qualitative characteristics of queen bees in terms of year, countries, institutions, research areas, journals, authors, and keywords involved in scientific research on bees, through a scientometric study using the Web of Science database from 1997 to 2023. Additionally, we selected three characteristics, queen weight, ovary weight and ovariole count as key quantitative variables highlighted in the scientometric analysis to be evaluated in the field using discarded queen bees from commercial apiaries. After evaluating 278 records with 6,979 citations, the results indicate that the majority of these records were published in English. The country with the highest number and relevance of published research on queen quality was the United States, while the leading institution, also located in this country, was North Carolina State University, and the author affiliated with this institution, David Tarpy, had the highest number of publications. The area most interested in this type of research is entomology, with assessments involving the queen's emergence weight and longevity. Within this field, the journal "Apidologie" leads the ranking with 37 published articles. Additionally, hot spots were identified in this field of knowledge related to bee evolution, queen behavior, sperm storage, and gene expression.

Regarding the quantitative evaluation of queens, 137 discarded Africanized *Apis mellifera* queens from 28 commercial apiaries located in the municipalities of Jupiá, São Lourenço do Oeste, and Novo Horizonte, state of Santa Catarina, Brazil, were evaluated during the year 2021. The collection followed the beekeepers' guidelines, primarily discarding queens with low honey production in the season, queens with egg-laying failure, queens collected from swarms, or queens from weak colonies. The characteristics of queen weight, right and left ovary weight, and ovariole count of both ovaries were evaluated without finding statistical differences between apiaries (Kruskal Wallis, $p > 0.05$). Queen weight ranged from 115.5 to 230.4 mg, with a median of 191.4 mg. The left ovary weight ranged from 2 to 37.70 mg with a median of 22.70 mg, and from 1.90 to 39.7 mg with a median of 39.79 mg for the right ovary. As for the ovariole count, values ranged from 58 to 340 ovarioles for the left ovary and from 68 to 290 for the right one. These results, when compared to previous studies, indicate that the discarded queens can still be considered of good quality and suggest caution when discarding queens to avoid delays in colonies due to replacement and potential economic losses.

Keywords: fecundity, queen quality, reproduction, scientometrics

I. INTRODUÇÃO

Cada colônia de abelhas *Apis mellifera* compõe-se de machos zangões, e fêmeas que se distinguem em dois grupos de indivíduos do mesmo sexo, especializadas na execução de tarefas diferentes, também conhecidas como castas (Wilson, 1976). Sendo estas divididas em 2 grupos, sendo, uma casta geralmente inativa ou pouco ativa reprodutivamente, denominada de operárias. Cujo papel principal é a manutenção do ninho. E a outra casta, é a reprodutiva, que inclui a rainha, cuja qualidade define a saúde, produtividade e sobrevivência da colônia (Rangel et al., 2013).

Além disso, a qualidade das abelhas rainhas desempenha um papel fundamental na produção eficiente de mel, na polinização de culturas, na resistência a doenças, na produção de cria, na sobrevivência durante o inverno e, conseqüentemente, no sucesso econômico da apicultura (Akyol et al., 2008; Büchler et al., 2013; Rangel et al., 2013; Doke et al., 2019). Colônias lideradas por rainhas de alta qualidade demonstram desempenho superior em comparação com aquelas lideradas por rainhas de baixa qualidade, exibindo baixa defensividade, menor propensão a enxamear, comportamento higiênico aprimorado e uma taxa elevada de produção de crias (Hatjina et al., 2014).

Por outro lado, a falha e a baixa qualidade das rainhas são apontadas como as principais razões reportadas para as perdas de colônias de abelhas melíferas (Amiri et al., 2017). Altos números de rainhas deficientes, ou seja, com incidência de troca precoce, morte inexplicada, postura prematura de ovos de zangão ou interrupção da postura foram relatados (Lee et al., 2015; Kulhanek et al., 2017).

Para classificar as abelhas rainhas em grupos de alta ou baixa qualidade são consideradas por um lado características fisiológicas e morfométricas como secreção de feromônios, peso a emergência, comprimento total da rainha e comprimento e largura do tórax e asas (Tarpy et al., 2012; Njeru et al., 2017). Por outro lado, consideram-se também as características reprodutivas como peso dos ovários, contagem de ovariolos, peso e

volume da espermateca, número de espermatozoides armazenados neste órgão, viabilidade espermática e oviposição (Tarpy et al., 2012; Chaimanee et al., 2016; Abou-Shaara, Adgaba e Al-Ghamdi, 2021).

A produção de rainhas de alta qualidade em escala comercial para fornecer aos apicultores é parte essencial da indústria apícola. Entretanto, há um número baixo de criadores comerciais de abelhas rainhas no Brasil, considerando o tamanho potencial do mercado no país. A falta de rainhas disponíveis afeta o desenvolvimento da atividade e prejudica o apicultor, pois sabe-se que devido a intensidade da oviposição, as rainhas têm longevidades que variam de 6 a 9 meses sendo necessário trocá-las após esse período (Souza et al., 2013; Gomes et al., 2022).

Melhorar e aumentar a produção de rainhas no Brasil garantirá que a indústria possa competir no mercado internacional, e a longo prazo, o sucesso do setor dependerá da qualidade das rainhas em relação aos fornecedores mundial. Assim, é crucial reconhecer as características que definem a qualidade nas abelhas, bem como a estrutura histológica normal e as funções de todo o trato reprodutivo da abelha rainha.

REVISÃO DE LITERATURA

1.1. Anatomia e características reprodutivas das abelhas rainhas

O sistema reprodutivo da abelha rainha é composto por ovários pareados, conectados por cálices aos ovidutos laterais, que se fundem para formar um oviduto mediano conectado dorsalmente à espermateca e caudalmente à porção terminal do trato reprodutivo (Kozii et al., 2022). A espermateca está ligada ao oviduto mediano por meio do ducto espermatecal. As glândulas espermatecais pareadas conectam-se à espermateca por meio do ducto comum (Figura 1). Na rainha acasalada, a espermateca contém espermatozoides densamente empacotados que ficam armazenados por toda a vida fértil da rainha, sendo utilizado gradativamente na fecundação dos ovócitos. O número de espermatozoides armazenados é alto em rainhas de um mês de idade ($4.365.000 \pm 680.903$) e diminui significativamente em rainhas com idades superiores a um ano ($1.560.000 \pm 290.000$) (Baer et al., 2016).

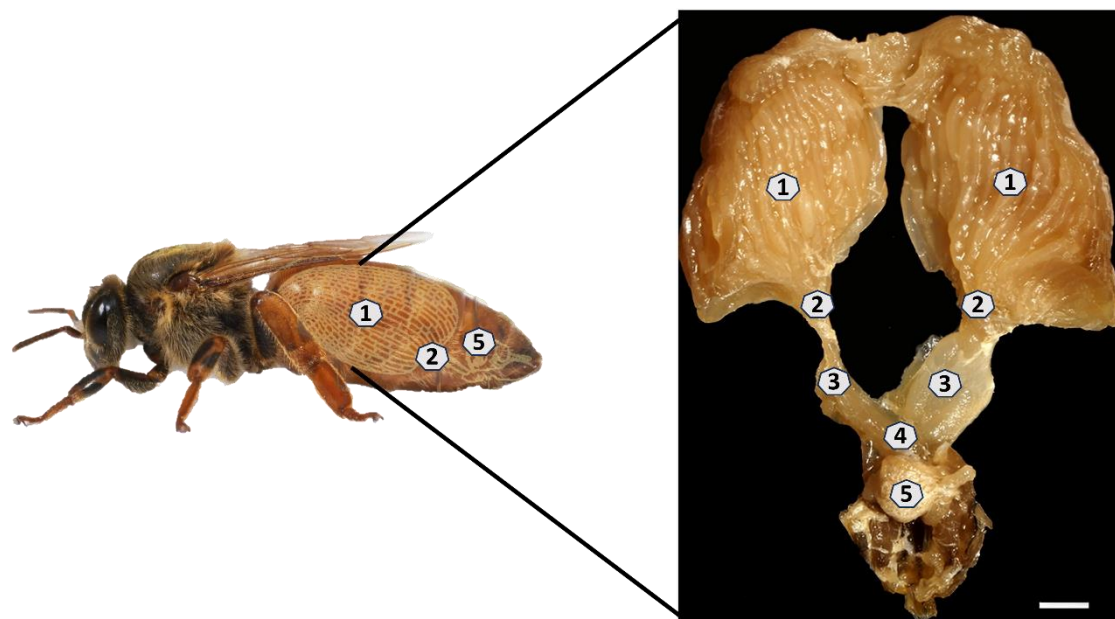


Figura 1. Trato reprodutivo superior da abelha rainha, incluindo ovários (1), cálices (2), ovidutos laterais (3), o oviduto direito está distendido com ovos, oviduto mediano (4) e espermateca coberta por uma rede traqueal (5) (barra = 1 mm). (Adaptado de Kozii et al., 2022).

Países como a Bulgária, a Grécia e a Eslovênia, utilizam o diâmetro da espermateca em vez da contagem de espermatozoides para avaliar o sucesso reprodutivo da rainha, com base na suposição de que uma espermateca maior, permite armazenar mais espermatozoides necessários para fecundação e produção de operárias (Winston, 2003). Valores de referência para esta variável foram reportados por Hatjina et al. (2014) em que o diâmetro da espermateca de abelhas rainhas criadas em quatro centros de reprodução de rainhas registrados perante a Associação Nacional de Criação de Abelhas da Bulgária, variou entre 1,10 e 1,35 mm.

A espermateca apresenta um sofisticado sistema de defesa antioxidante composto por nove diferentes enzimas, que exercem papel crucial na proteção contra o superóxido, o peróxido de hidrogênio e os peróxidos lipídicos. Estas defesas desempenham um papel fundamental na prevenção de danos oxidativos ao esperma durante seu prolongado período de inatividade (Collins, Williams e Evans, 2004; Baer et al., 2009; Gonzalez et al., 2018). Além disso, a presença de várias proteínas quelantes na espermateca, algumas com funções de ligação a Fe^{2+} , sugere uma defesa antioxidante adicional, impedindo a produção de espécies reativas de oxigênio catalisadas por metal e/ou eliminando metais

para evitar seu uso no crescimento e proliferação de infecções bacterianas ou fúngicas (Baer et al., 2009; Paynter et al., 2017).

Um aspecto notável na rede metabólica da espermateca é o metabolismo glicolítico, uma via que conduz à degradação da frutose em ácidos orgânicos, gerando a nicotinamida adenina dinucleotídeo (NADH) e o trifosfato de adenosina (ATP). O NADH é crucial para sustentar as atividades das enzimas antioxidantes mencionadas anteriormente (Baer et al., 2009). O ATP, produzido pela glicólise extracelular, pode ser empregado para alimentar a ATPase semelhante ao vacúolo. Uma hipótese intrigante é que essa via glicolítica também fornece substratos de carbono ao esperma, contribuindo para manter seu próprio metabolismo interno (Baer et al., 2009).

Por outro lado, o fluido seminal masculino pode ser particularmente importante para a viabilidade do esperma durante o armazenamento provisório dos ejaculados no trato sexual feminino, antes do armazenamento final. O fluido seminal afeta principalmente a viabilidade espermática a curto prazo, enquanto o fluido espermático é mais importante para a viabilidade a longo prazo após o armazenamento (Baer et al., 2009, den Boer et al., 2009). Os perfis proteicos da secreção espermática e das glândulas espermatecais e da secreção do fluido espermático mal se sobrepõem, o que sugere que machos e fêmeas usam proteínas diferentes para aprimorar a viabilidade espermática durante a ejaculação e, o armazenamento final de espermatozoides (den Boer et al., 2009).

No que diz respeito ao par de ovários, é importante destacar que cada ovário é composto por aglomerados densamente compactados de ovariolos que são correntes finas de ovos que se alargam posteriormente, representando a maturação sequencial e linear dos oócitos e trofócitos (Aamidor et al., 2022). Macroscopicamente, a estrutura de um ovário é remanescente de um cacho de bananas, onde cada banana simboliza um ovariolo independente (Kozii et al., 2022). Cada ovariolo apresenta quatro regiões distintas: um filamento terminal curto, um germário de comprimento intermediário e um vitelário longo que termina com o pedúnculo do ovariolo, todos envolvidos por uma bainha epitelial (Cruz-Landim, 2009).

O germário é composto por uma massa de células não diferenciadas e desempenha um papel na formação de oócitos, células nutrízes e células foliculares. Durante o crescimento inicial, as células nutrízes alimentam os oócitos, enquanto as células foliculares promovem o aumento dos oócitos com um epitélio e córion à medida que amadurecem em ovos (Hartfelder et al., 2018). Tanto o peso do ovário quanto o número de ovariolos por ovário são considerados medidas da qualidade reprodutiva da rainha. O

número de ovariolos é uma característica que não se altera durante toda a vida da rainha e está relacionado à sua origem, bem como às condições de reprodução (Avetisyan, 1961; Woyke, 1971). Quanto mais ovariolos, mais ovos a rainha potencialmente pode colocar. Em geral, o número de ovariolos por ovário varia entre 100 e 180 (Delaney et al., 2011; Jackson et al., 2011).

Em rainhas produzidas na Alemanha, o número de ovariolos tem sido relacionado com a idade da larva para transferência, rainhas criadas a partir de larvas de operárias de primeiro e segundo ínstar apresentaram números de ovariolos variando de 146 a 204, com média de 175 por ovário. O número de ovariolos em fêmeas criadas como rainhas a partir de larvas do início do quinto estágio variou consideravelmente, de 23 a 135 ovariolos e valor médio de 100,2. Para fins práticos de criação de rainhas, apenas o uso de larvas de primeiro e segundo ínstar resultará em rainhas com ovários contendo um número máximo de ovariolos, conferindo assim alta fecundidade (Dedej et al, 1998).

Woyke (1971) relatou resultados semelhantes, com larvas de um dia apresentando uma média de 154 ovariolos por ovário, larvas de dois dias com uma média de 146, e larvas de três dias com uma média de 136. Além do número de ovariolos, a idade larval também influencia o peso da rainha, o volume da espermateca e o tamanho do saco de veneno (Njeru et al., 2017).

1.2. Peso da rainha a emergência e sua relação com outras características morfológicas

Características como peso a emergência, diâmetro da espermateca e número de espermatozoides na espermateca também são indicadores de qualidade e são influenciados pelo método de criação de rainhas. Dodologlu, Emsen e Genc (2004) relataram que abelhas criadas pelo método Doolittle apresentaram realeiras mais compridas, pesos ao emergir mais elevados, diâmetros de espermatecas superiores e maior número de espermatozoides em comparação com aquelas criadas pelo método natural. Além disso, existe correlação alta e positiva ($r = 0,828$) entre o comprimento da realeira e o peso a emergência da rainha. Isso significa que realeiras mais compridas devem ser usadas para produzir rainhas com pesos de emergência mais altos. No mesmo trabalho, os autores concluíram que usar geleia durante a transferência de larvas aumenta o tamanho da realeira e diminui o período pre-oviposição das rainhas.

Na produção comercial de rainhas, controlar o tamanho da cúpula na qual será transferida a larva contribui para o aumento do peso a emergência da rainha atribuído à maior disponibilidade de espaço, que permite um maior desenvolvimento do corpo e dos órgãos. Rainhas virgens criadas em cúpulas de cera de 9,0 mm têm peso corporal, peso das três partes do corpo (cabeça, tórax e abdome) e tamanho do tórax e abdome significativamente maior que aquelas criadas em cúpulas comerciais de 8,0 mm (Mattiello et al., 2022). Wu et al. (2018) também relataram um aumento significativo de alguns parâmetros morfológicos de rainhas *Apis mellifera ligustica* recém emergidas, como peso corporal, comprimento e largura do tórax, dependendo do diâmetro da cúpula (9,4; 9,6; 9,8 e 10 mm).

O peso à emergência é um critério utilizado para a seleção de rainhas de alta qualidade devido à sua correlação positiva com vários parâmetros, como a produção de cria ($r = 0,90$), o número de espermatozoides na espermateca ($r = 0,97$), o diâmetro ($r = 0,98$) e o volume da espermateca ($r = 0,258$) (Gilley et al., 2003; Dodoluglu et al., 2004; Akyol et al., 2008; Arslan et al., 2015; Arslan et al., 2021). As rainhas podem ser classificadas em diferentes categorias com base em seus pesos à emergência, resultando na formação de três grupos: leve (<185 mg), médio (185–199 mg) e pesada (>200 mg). As rainhas com peso igual ou superior a 200 mg são consideradas de alta qualidade. Aquelas mais pesadas ($207,63 \pm 0,95$ mg) exibem uma taxa de aceitação aproximadamente 10% maior, iniciam a postura de forma precoce, apresentam um maior diâmetro da espermateca, armazenam mais espermatozoides nesse órgão e produzem mais crias 30 dias após o início da postura em comparação com as rainhas mais leves ($175,00 \pm 0,62$ mg) (Akyol et al., 2008). Além disso, as rainhas mais pesadas têm significativamente mais chances de sobreviver em lutas fatais durante as épocas reprodutivas da colônia, tornando-se assim a próxima ovipositora da colônia, conforme relatado por Tarpy e Mayer (2009), que observaram que 69,7% das lutas foram vencidas pela rainha mais pesada do par.

As rainhas virgens adotam estratégias específicas de defesa contra suas rivais, frequentemente atacando e picando outras rainhas antes mesmo de emergirem da realeira. Além disso, durante o conflito, as rainhas virgens adotam a estratégia defensiva conhecida como "comportamento de spray", espalhando seu conteúdo retal em direção à rainha rival (Tarpy e Fletcher, 2003).

Outro fator que influencia o peso a emergência, é o tamanho do alvéolo. Muitos apicultores em todo o mundo continuam utilizando favos na colmeia por cerca de 4 a 6

anos (Taha e Samir, 2007). Essa prática faz com que aumente o acúmulo de casulos, pólen e própolis (Taha et al., 2010) e diminua a dimensão do alvéolo (Shawer et al., 2020) alterando as características morfométricas das abelhas (Al-Kahtani, 2018; Shawer et al., 2020). Da mesma forma, o peso da geleia real contida nas realeiras diminui significativamente com a idade do favo (Taha et al., 2021). Durante o mês de março no Egito o peso da geleia foi de 209,0 mg para favos novos (1-3 anos) e 132,2 mg para favos velhos (4-6 anos). O peso dos indivíduos reprodutores também tem influência da idade do favo, rainhas no mesmo mês, apresentaram peso médio de 162,2 mg para favos novos e 137,4 mg para favos velhos, por outro lado, o peso dos zangões foi de 235,1 mg para favos novos e 191,5 mg para favos velhos. Além disso, favos novos permitem maior armazenamento de pólen e mel que favos velhos (pólen: 1031,55 in² vs 616,43 in² e, mel: 1719,70 in² vs 910,70 in²), o peso reduzido das rainhas e dos zangões possivelmente resulta da alimentação deficiente das larvas de zangão e rainha pelas abelhas nutrízes devido ao volume reduzido da célula (Taha et al., 2021).

Taha et al (2021) também relataram que o fato dos tamanhos corporais das abelhas individuais (rainhas, zangões e operárias), o armazenamento de pólen e mel, a produção de crias e a produção de geleia real diminuirão nas colônias com favos velhos em comparação com as colônias com favos novos, faz com que seja recomendado substituir os favos após três anos de uso para incentivar o crescimento e aumentar a produtividade da colônia.

1.3. Sistema de acasalamento

A qualidade de uma rainha não é apenas uma função de seu potencial reprodutivo próprio, mas também é resultado do sucesso de seu acasalamento, o qual é determinado pela avaliação do número de espermatozoides armazenados na espermateca (Lodesani et al., 2004; Al-Lawati et al., 2009). A rainha virgem estará pronta para acasalar seis a oito dias após a emergência e começará a colocar ovos três a cinco dias após o voo nupcial. O sistema natural de acasalamento das abelhas melíferas é altamente poliândrico prolongando a duração dos voos nupciais, o que aumenta os custos e os riscos para a rainha (Gençer et al., 2014; Rousseau et al., 2015).

Todas as rainhas realizam um ou dois voos de orientação (duração do voo inferior a 5 minutos, sem sinal de acasalamento) e posteriormente se acasalam naturalmente em voo com um a 17 (Woyke, 1960), seis a 18 (Gençer e Kahya, 2011), oito a 25 (Hernández-

García et al ., 2009), 10 a 20 (Cobey et al., 2013), 15 a 20 zangões (Cobey, 2016), realizando um ou dois voos de acasalamento (Hasnat, 2018) na área de congregação dos zangões, onde aproximadamente 10.000 a 30.000 zangões de diferentes fontes genéticas estão presentes (Cobey, 2016).

O acasalamento dos zangões com a rainha ocorre muito rapidamente. A duração do voo nupcial em caso de disponibilidade normal de zangões, varia de 10 a 30 minutos. As rainhas recebem informações sobre seu sucesso de acasalamento durante o voo, influenciadas pelo volume de esperma nos ovidutos ou pela concentração de espermatozoides na espermateca e retornam à colônia assim que encontram um número suficiente de zangões (Ruttner, 1954). Koeniger e Koeniger (2007) relataram correlação negativa significativa entre a duração do voo de acasalamento e o número de espermatozoides nas espermatecas ($r = -0,38$).

Assim, rainhas com voos mais longos recebem menos esperma. Rainhas com duração de voo inferior a 30 minutos tem uma média de $3,0 \pm 0,77$ milhões de espermatozoides em suas espermatecas e, aquelas que permanecem fora por mais de 30 minutos tem $1,1 \pm 1,04$ milhão de espermatozoides (Koeniger e Koeniger, 2007). Isso apoia a hipótese de que o número de zangões disponíveis influencia a duração do voo nupcial das rainhas e pode ser uma indicação inicial de que as rainhas monitoram o sucesso do acasalamento. No entanto, Simone-Finstrom e Tarpay (2018), não encontraram diferenças significativas no número de espermatozoides e na viabilidade espermática entre rainhas que iniciaram a oviposição após um voo (1,016 milhão de espermatozoides e viabilidade de 92,7%) e aquelas que tentaram voos múltiplos (0,784 milhão e 92,4%).

No último acasalamento com o zangão, parte do órgão reprodutivo do macho fica aderente na rainha e mostra o sinal de acasalamento (Buescu et al., 2015). Cada zangão, durante o acasalamento, ejacula em torno de 6 a 12 milhões de espermatozoides. Uma parte muito pequena dos espermatozoides é transferida para a espermateca, e o restante é armazenado no oviduto lateral da rainha. No acasalamento natural, a rainha retorna com aproximadamente 80-90 milhões de espermatozoides nos ovidutos (Woyke, 1960) e apenas 10% dos espermatozoides são coletados e armazenados na espermateca.

Pesquisas com rainhas acasaladas naturalmente e inseminadas, relataram que as rainhas usam o esperma de todos os zangões em todos os períodos, diferindo significativamente na frequência das diferentes subfamílias de um mês para outro, o que sugere que a abelha usa o esperma de forma aleatória (Haberl e Tautz, 1998). No entanto, em rainhas acasaladas naturalmente, as frequências de subfamílias particulares

permaneceram constantes no curto prazo e em rainhas inseminadas a variância das proporções de subfamílias diminuiu ao longo do tempo, sugerindo que a mistura de esperma na espermateca é incompleta no início do período de postura de ovos da rainha e, melhora progressivamente durante os primeiros meses após o acasalamento (Haberl e Tautz, 1998; Franck et al., 1999). Se ocorrer atraso no acasalamento das rainhas, a taxa de morte celular aumentará consideravelmente, observando-se morte similar a apoptose em células da linhagem germinal e morte similar a autofagia em células somáticas. Em rainhas virgens de 15 dias de idade, extensas regiões dos ovaríolos são completamente tomadas pela morte celular (Berger e Cruz-Landim, 2008).

Quando a rainha inicia a postura, o padrão de deposição de ovos pode variar entre colônias. A densidade e a aparência da cria de operárias são, sem dúvida, características de uma rainha adequadamente acasalada, assim como de uma rainha com espermatozoides viáveis em sua espermateca, conforme demonstrado por Collins (2000). Baixa densidade de cria resulta em uma aparência irregular no favo, indicando uma colônia doente, falha da rainha ou consanguinidade (Hatjina et al., 2013). No cenário ideal, a rainha tende a colocar ovos fertilizados no centro da colmeia, enquanto as células destinadas aos zangões, ao pólen e ao mel são preferencialmente posicionadas na periferia (Figura 2). Uma rainha de qualidade deve apresentar um padrão de cria consistindo em círculos concêntricos, onde as crias mais velhas ocupam o centro e as mais jovens se distribuem na periferia, incluindo algumas células vazias deixadas propositalmente pela rainha (Moore et al., 2015).

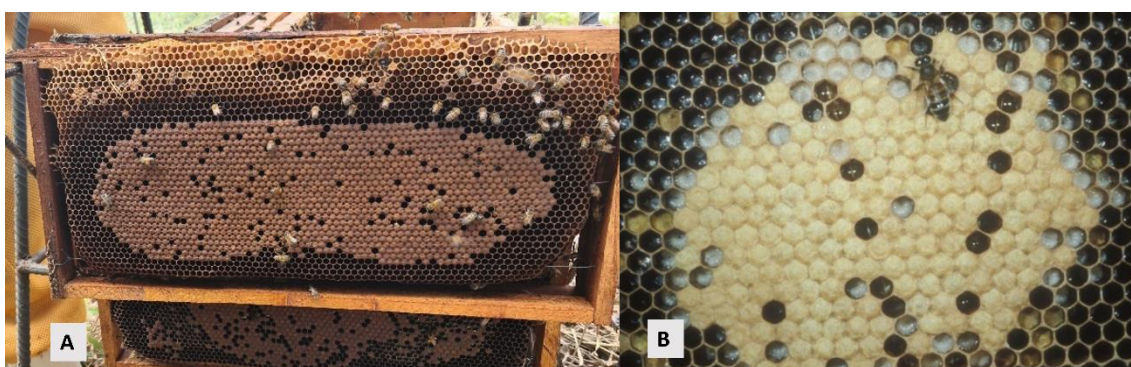


Figura 2. Padrão de cria em círculos concêntricos. A) favo completo (fonte própria), B) região do favo com postura de qualidade (Fonte: Moore et al., 2015).

Um estudo recente mostrou claramente que as rainhas de abelhas têm a capacidade de alterar o tamanho dos ovos em resposta a fatores genéticos e ambientais (Amiri et al.,

2020). A dimensão dos ovos é ajustada pela rainha em função do tamanho da colônia. De maneira previsível, as rainhas aumentam o tamanho dos ovos em colônias pequenas e diminuem em colônias grandes (Han et al., 2022). Simultaneamente, o tamanho dos ovários segue uma tendência oposta, rainhas transferidas de colônias grandes para pequenas aumentam significativamente o tamanho dos ovos, enquanto aquelas transferidas de colônias pequenas para grandes diminuem significativamente o tamanho dos ovos. Adicionalmente, rainhas em colônias pequenas exibem ovários notavelmente mais leves do que suas contrapartes em colônias grandes (Drummond, 2022).

A análise comparativa do proteoma entre os ovários de rainhas que produzem ovos grandes e aquelas que produzem ovos pequenos revelou diferenças quantitativas em 290 proteínas. Notavelmente, a abundância de proteínas nos ovários associados à produção de ovos grandes foi significativamente maior (Drummond, 2022) em comparação com os ovários que produzem ovos pequenos, onde apenas 15 proteínas eram menos abundantes. A plasticidade no tamanho do ovo correlacionou-se com alterações quantitativas em 290 proteínas ovarianas, predominantemente ligadas ao metabolismo energético, transporte de proteínas e citoesqueleto (Drummond, 2022).

A investigação funcional dos principais genes candidatos destacou a importância de *Rho1* (Ras Homolog Family Member 1) na regulação do tamanho dos ovos, evidenciada por uma expressão significativa nos oócitos em crescimento do vitelário, em contraste com as células nutridoras e foliculares durante essa fase de desenvolvimento (Kim et al., 2018). Nos oócitos maduros, a expressão de *Rho1* diminuiu novamente, como indicado pela baixa expressão. Em termos de localização, o *Rho1* nos oócitos estava predominantemente próximo ao córtex celular lateral, possivelmente indicando áreas de crescimento longitudinal (Han et al., 2022).

1.4. Feromônios produzidos pela rainha

Fora do período de enxameação, as duas principais tarefas da rainha são a postura de ovos e a produção de feromônios (Seeley, 1979; Moritz e Kuhnert, 1984; Naumann et al., 1991; Tibor et al., 1987; Cobey, 2007). Os feromônios informam aos membros da colônia sobre a presença da rainha e provocam a formação de um séquito (Butler, 1957; Butler e Fairey, 1963, Hoover et al., 2003; Slessor et al., 2005) sendo o mais significativo o feromônio mandibular da rainha, que é uma mistura de ácidos graxos e alguns compostos aromáticos (Butler et al., 1961).

Este feromônio, produzido por rainhas férteis e exalado na colônia, é crucial para regular a divisão de trabalho reprodutivo na colônia e, é interpretado como um sinal químico restritivo, capaz de disparar o processo de morte celular programada nos ovários das operárias adultas (Le Conte et al., 2001, Ronai et al., 2016; Hartfelder et al., 2018). Como consequência, os ovários das operárias sofrem degeneração de oócitos desenvolvidos ou em desenvolvimento, o que resulta no bloqueio da oogênese, impedindo a produção de ovos haploides (Tanaka e Hartfelder, 2004; Ronai et al., 2015; Tanaka et al., 2017).

A rainha passa por muitas mudanças na fisiologia e no comportamento, desde uma virgem recém-emergida até a idade de acasalamento, maturação e produção de ovos. A composição do feromônio da rainha muda drasticamente entre rainhas virgens e acasaladas. As mudanças quantitativas e qualitativas dependem do status da rainha e tais mudanças são únicas para cada indivíduo (Apoegaite e Skirkevicus, 1995). Os feromônios da rainha consistem em ácido 9-oxo-(E) 2-decenoico (ODA), ácido (R)- e (S)-9-hidroxi-(E)-2-decenoico (9-HDA), metil p-hidroxibenzoato (HOB) e 4-hidroxi-3-metoxifeniletanol (HVA) e são produzidos pelas glândulas de Dufour e as glândulas mandibulares (Richard et al., 2011).

Essas complexas misturas químicas comunicam o status reprodutivo da rainha, mantêm a coesão social, provocam respostas como atração de companheiros no acasalamento e influenciam o comportamento e a fisiologia das abelhas operárias. As abelhas operárias são menos atentas às rainhas virgens e jovens em comparação com as rainhas que realizam postura (Cobey, 2007).

Koeniger et al. (2000) relataram que as abelhas operárias aumentam significativamente a frequência de batimento de asas quando estão em contato com a rainha após a remoção dos favos com cria aberta (cria jovem) do ninho. Esse comportamento é utilizado pelas operárias para estimular a rainha a colocar ovos em uma taxa mais elevada em resposta a uma quantidade insuficiente de cria na colônia. No entanto, a taxa de postura de ovos da rainha não teve diferença significativa antes e após a remoção da cria aberta do ninho (Łopuch e Tofilski, 2021).

Fora das colônias, o feromônio da rainha tem o papel de atrair zangões para o acasalamento com rainhas virgens (Butler e Fairey, 1964). O 9-ODA é sugerido como responsável por atrair zangões a longas distâncias (Loper et al., 1993; Wanner et al., 2007), podendo atrair zangões a uma distância de até 60 metros (Brockmann e Brückner,

1998), e essa atração se dá pelo fato de existir um receptor específico para 9-ODA presente nas antenas dos zangões (Engels et al., 1997).

1.5. Longevidade da rainha

As rainhas têm uma vida útil de três a quatro anos, no entanto, longevidades reduzidas (<1 ano) são comumente observadas em países tropicais como causa das altas temperaturas e oviposição contínua (Cobey, 2007; Amiri et al., 2017; Gomes et al., 2022). Para manter colônias fortes com operárias suficientes para produzir mel ou para polinizar culturas, é necessário que a abelha rainha seja substituída regularmente, pois é o que acontece naturalmente com rainhas que não conseguem manter uma boa oviposição (Woyke, 1971).

No Brasil, a baixa longevidade das abelhas rainhas é determinada pelas condições climáticas tropicais, com temperaturas elevadas. As rainhas têm uma oviposição contínua ao longo do ano, com intensidade variável de acordo com a disponibilidade de néctar e pólen (Silva et al., 1991), o que aumenta o envelhecimento da abelha rainha, pelo que se recomenda sua substituição anual para melhorar a produtividade média dos apiários (Martinez e Soares, 2012). Gomes et al. (2022) relataram que rainhas africanizadas em regiões úmidas tropicais do nordeste brasileiro tem longevidade média de 6,4 meses e a intensidade da sua oviposição aumenta com o aumento da temperatura e a redução da umidade. Da mesma forma, abelhas rainhas produzidas em Ribeirão Preto-SP com pesos superiores a 200 mg tiveram longevidade média de 9 meses (Souza et al., 2013).

A longevidade da abelha rainha se relaciona diretamente à quantidade de espermatozoides adquiridos durante o acasalamento, seja por meio natural ou inseminação instrumental. Os voos de acasalamento desempenham um papel significativo nesse processo, sendo que a quantidade de voos está diretamente relacionada ao número de espermatozoides na espermateca, conforme destacado por estudos anteriores (Woyke, 1960, 1964; Tarpy e Page, 2000; Schlüns et al., 2005). No contexto comercial, rainhas acasaladas nos Estados Unidos e na Nova Zelândia têm uma média de armazenamento de 4 a 5 milhões de espermatozoides, conforme evidenciado por pesquisas como as de Harizanis e Gary (1984) e Severson e Erickson (1989). A variação no número de espermatozoides, está documentada entre 4,36 e 5,5 milhões, ressaltando a complexidade desse processo reprodutivo (Cobey, 2007).

A qualidade dos zangões também interfere no desempenho da rainha, Rousseau et al. (2015) relataram que apenas 55,3% dos zangões do estudo realizado no período de maio a julho no Canadá produziram uma quantidade suficiente de sémen para ser coletada com o dispositivo Gilmont (0,2 μ L) o que se relacionou com a idade e a data na qual se produzem os zangões. Machos jovens não liberam sêmen por meio de eversão manual. De acordo com vários autores que utilizaram essa técnica, zangões com idades entre 10 e 21 dias são considerados maduros, e características do sémen como volume e contagem de espermatozoides e viabilidade dos mesmos são mais adequadas para a inseminação de rainhas (Woyke e Jasinsky 1978; Harbo e Williams 1987; Zhao et al., 2021).

A longevidade das rainhas também está relacionada à teoria do estresse oxidativo, que postula que o envelhecimento é primariamente causado pelo acúmulo de danos oxidativos, cuja taxa determina a expectativa de vida (Harman, 1972). Surpreendentemente, a longevidade das rainhas parece ter evoluído por meio de mecanismos distintos da simples expressão elevada de genes antioxidantes (Collins et al., 2004). Com uma expectativa média de vida em torno de um ano e tempo máximo registrado de oito anos (Page e Peng, 2001). As rainhas podem não depender de uma expressão antioxidante elevada se produzirem menos espécies reativas de oxigênio (ROS) devido a uma eficiência respiratória aprimorada (Corona et al., 2005).

Ao analisar rainhas de um ano em comparação com operárias de um mês, observou-se que as primeiras apresentaram quantidades significativamente menores de genes antioxidantes em 38 de 48 comparações (Corona et al., 2005). Além disso, em abelhas rainhas, os níveis de mRNA para genes relacionados à respiração diminuíram significativamente com a idade. Esses achados sugerem que a longevidade das rainhas não se baseia necessariamente em capacidades aprimoradas de degradação de ROS, conforme indicado por estudos anteriores (Corona et al., 2005).

Outra medida comumente usada para avaliar a qualidade reprodutiva da fêmea é o nível de expressão do gene vitelogenina, pois além de ser uma proteína do ovo (Hagedorn e Kunkel 1979), tem propriedades antioxidantes que levam ao aumento da longevidade da rainha em relação as operárias (Seehuus et al., 2006; Corona et al., 2007). A vitelogenina é uma glicolifosfoproteína identificada pela primeira vez no final dos anos 60 por seu papel na produção de ovos e por fornecer lipídios e outros nutrientes para o embrião, servindo como um precursor da proteína vitelina (Pan et al., 1969). Nos insetos, a vitelogenina é sintetizada principalmente no corpo gorduroso, um órgão análogo ao fígado de vertebrados que desempenha um papel importante na nutrição, metabolismo,

imunologia e produção de feromônios (Oliveira e Cruz-Landim, 2003; Oliveira e Cruz-Landim, 2006; Arrese e Soulages, 2010; Makki et al., 2014).

Corona et al. (2007) relataram a expressão de vitelogenina em células do corpo gorduroso do tórax e da cabeça de maneira dependente da idade, com rainhas mais velhas mostrando expressão muito mais alta do que as operárias. As rainhas também eram mais resistentes ao estresse oxidativo do que as operárias. Esses resultados apoiam a hipótese de que as diferenças específicas de casta na expressão do gene vitelogenina estão envolvidas na longevidade da rainha. Assim, mecanismos conservados e específicos da espécie interagem para regular a longevidade das rainhas de abelhas sem sacrificar a fecundidade (Corona et al., 2007).

Hsu et al. (2022) também relataram que as atividades celulares, incluindo a atividade de utilização de energia mitocondrial, a de regulação de energia celular, a de degradação celular e a de metabolismo celular de energia nos trofócitos e oenócitos de abelhas rainhas, são superiores às das abelhas operárias, com base nos resultados dos níveis de dinucleótido de nicotinamida e adenina (NAD⁺), razão NAD⁺/NADH, níveis de trifosfato de adenosina (ATP), atividades de AMPK, atividades lisossomais e níveis de mRNA da proteína ribossômica S6. Essas descobertas sugerem que as vias de sinalização cAMP/PKA e RAS/MAPK podem aumentar as atividades celulares, levando à longevidade das abelhas rainhas.

1.6. Produção e substituição de rainhas

A substituição da rainha é custosa, no entanto, como já foi documentado anteriormente, colônias lideradas por rainhas jovens (1 a 2 anos de idade) são até 30% mais produtivas em termos de produção de crias e rendimento de mel do que colônias lideradas por rainhas mais velhas (Avetisyan, 1961; Kostarelou-Damianidou et al., 1995; Akyol et al., 2008). As abelhas operárias podem criar rainhas adicionais em três casos: emergência, substituição ou enxames reprodutivos. Rainhas de emergência são criadas em colônias sem rainha, enquanto a substituição ocorre em colônias lideradas por rainhas doentes, com falhas ou velhas. O enxame reprodutivo ocorre durante as estações ativas (Butler, 1957).

Rainhas de primeiro ano produzem significativamente mais crias do que rainhas mais velhas, e os apicultores comerciais tentam mitigar a perda de colônias substituindo as rainhas após um ano (Collins, 2000). A troca natural da rainha é causada por produção

insuficiente de feromônios, a atratividade da rainha para as operárias e a sua capacidade de inibir a construção de realeiras. Hauser e Lensky (1994) mensuraram durante dois anos consecutivos o desenvolvimento da colônia (área de cria aberta e fechada e população de operárias), sobrevivência das rainhas, construção de realeiras e produção de mel de rainhas jovens (6-7 meses de idade) e rainhas velhas (10-12 meses de idade) relatando que, rainhas jovens tiveram melhores resultados que rainhas velhas em todas as variáveis.

O desempenho da rainha para produzir prole viável também está relacionado com sua idade, a prole de rainhas de dois anos de idade apresenta uma taxa de mortalidade três vezes maior do que a prole de rainhas jovens. Seus ovos são em média 30% menores e o tamanho do embrião em cada estágio experimental é significativamente menor comparado com embriões de rainhas jovens, isso se deve não apenas à capacidade reduzida de postura e/ou à produção de feromônios das rainhas mais velhas, mas também à maior mortalidade e possivelmente à reduzida vitalidade da prole sobrevivente das rainhas mais velhas (Al-Lawati e Bienefeld, 2009).

1.7. Inseminação instrumental

Técnicas de inseminação instrumental para rainhas de abelhas foram desenvolvidas no início dos anos 1900 (Watson, 1928). A técnica na qual o sêmen é coletado do zangão selecionado e utilizado para inseminar um grande grupo de rainhas é uma ferramenta importante para a criação de *A. mellifera* (Van Praagh et al., 2014). Essa prática é muito comum na Polônia, onde anualmente são inseminadas de 50.000 a 90.000 rainhas, enquanto no restante do mundo apenas de 6.000 a 10.000 rainhas são inseminadas instrumentalmente (Gąbka e Cobey, 2018).

Vários fatores, como condições de criação, estresse, habilidades do inseminador, disponibilidade de alimento, idade de acasalamento da rainha, armazenamento das rainhas, temperatura ambiental, qualidade e quantidade de espermatozoides armazenados na espermateca, manejo e armazenamento do sêmen, tratamentos com CO₂, nitrogênio, e feromônios das rainhas e dos zangões, afetam o desempenho reprodutivo das rainhas inseminadas instrumentalmente. A inseminação foi aprimorada nos últimos anos, e a maioria do sucesso da técnica depende das habilidades dos inseminadores (Khan et al., 2022). Outros fatores que podem causar estresse e afetar os resultados do processo de inseminação instrumental são a contaminação com pesticidas e acaricidas, as condições

climáticas desfavoráveis, os parasitas, os patógenos e outras questões ambientais (Zhao et al., 2021).

A maioria dos estudos ilustra que rainhas inseminadas instrumentalmente são mais produtivas do que rainhas acasaladas naturalmente, e alguns estudos mostram o desempenho igual de ambos os grupos. Colônias de *A. mellifera* lideradas por rainhas inseminadas instrumentalmente mostraram mais produtividade do que colônias lideradas por rainhas acasaladas naturalmente (Pritsch e Bienefeld, 2002; Hasnat, 2018; Shower et al., 2021). No entanto, o número de espermatozoides na espermateca de rainhas inseminadas com uma dose de 10 mL não difere significativamente das rainhas acasaladas naturalmente, mas o início da oviposição em rainhas inseminadas é atrasado (Gąbka, 2022).

Rainhas inseminadas com sêmen armazenado por períodos longos (duas ou quatro semanas) produziram pouca ou nenhuma cria e maiores quantidades de cria de zangões em células de operárias comparado com rainhas inseminadas com sêmen fresco. Além disso, se tornaram rainhas zanganeiras (sem esperma) muito mais cedo do que as rainhas controles considerando a concentração de esperma encontrada nas espermatecas das rainhas (Collins, 2005).

As práticas apícolas podem otimizar ou prejudicar o desempenho reprodutivo das rainhas, sendo que um fator importante para o sucesso da inseminação instrumental é o fornecimento abundante de sêmen de zangões saudáveis e maduros (Collins, 200). As condições em que os zangões são criados e mantidos até a maturidade afetam sua qualidade e sobrevivência. Fatores como a nutrição da colônia, a temperatura e a idade do zangão afetam a quantidade de sêmen produzido, a viabilidade espermática e a ejaculação (Zhao et al., 2021). Além disso, a produção de zangões é sazonal, dependente da disponibilidade de recursos, saúde e população da colônia, e está sujeita a uma alta taxa de perda (Currie, 1987).

1.8. Nutrição da colônia e seu impacto na rainha

Dentro da colônia, a rainha raramente, ou nunca, se alimenta por si mesma, ao invés disso, ela é alimentada com geleia real produzida pelas abelhas nutrizas (Šimúth, 2001; Wright et al., 2017). A qualidade da geleia real produzida, pode ser influenciada pelo tipo de pólen consumido (Pattamayutanon et al., 2018). Alguns autores relataram correlações positivas entre o alimento disponível, o crescimento da colônia e a produção de

reprodutores, o que sugere que a produção sincronizada de zangões e rainhas é definida pelo fluxo de nutrientes na colônia. Se o fluxo for alto, a colônia começa a crescer, quando a colônia é grande o suficiente, zangões e rainhas são produzidos, e eventualmente a colônia enxameia. Durante os períodos de escassez, as colônias minimizam a produção de crias em resposta às condições desfavoráveis (Chinch, Boot e Sommeijer, 2005).

Rainhas alimentadas com fontes poliflorais depositam significativamente mais ovos do que rainhas alimentadas unicamente com soja ou com Onagra (*Oenothera biennis*). Esses resultados fornecem evidências diretas de que o ambiente nutricional pode influenciar a fecundidade de uma rainha impactando principalmente a saúde da mesma (Clair, Suresh e Dolezal, 2022).

1.9. Transporte da rainha

As rainhas são frequentemente transportadas via correio em gaiolas individuais com 5-8 operárias acompanhantes que alimentam e limpam a rainha, por um período de até 10 dias. Rainhas engaioladas não botam ovos, têm comida restrita e seus abdomens diminuem muito de tamanho (Laidlaw e Page, 1997). No entanto, assim que a rainha é introduzida em sua nova colônia, ela geralmente retoma a postura de ovos em poucos dias (Rhodes et al., 2004). Esta prática é comum nos EUA, onde produtores comerciais de rainhas enviam as rainhas para seus clientes. Frequentemente, as abelhas experimentam temperaturas altas o suficiente para reduzir sua viabilidade (Finley et al., 1999).

O estresse ocasionado durante o transporte pode fazer com que as rainhas fiquem mais susceptíveis a doenças. No entanto, Webster et al. (2008) relataram que rainhas fecundadas alimentadas com xarope de açúcar contendo esporos de *Nosema apis* que foram transportadas no correio experimentando temperaturas de até 31°C, não exibiram diferenças significativas em relação a sobrevivência e número de abelhas infetadas pelo parasita quando foram comparadas com rainhas mantidas engaioladas em laboratório com temperaturas menores ou iguais a 25°C.

1.10. Introdução da rainha na colônia e banco de rainhas

Frequentemente a introdução de rainhas na colônia falha, seja porque as rainhas não são aceitas pelas operárias, ou porque elas são substituídas em um curto período após a introdução. A substituição de rainhas com mais frequência aumentaria os custos para a

indústria apícola, mas também aumentaria a produtividade das colônias e manteria os estoques genéticos desejáveis no apiário (Guzmán-Novoa et al., 1998). Para aumentar as chances de as operárias aceitarem as rainhas quando introduzidas na colônia, os apicultores canadenses recomendam o uso da essência de baunilha (Alberta Agriculture, 1982).

Normalmente, várias rainhas não podem viver na mesma colônia sem lutar entre si. No entanto, quando uma barreira física é mantida entre elas, como no banco de rainhas, elas podem coexistir por um período prolongado (Farrar, 1953; Reid, 1975). Quando produzidas em grandes quantidades, as rainhas virgens ou acasaladas, devem ser mantidas fora da colônia receptora por um período antes da sua introdução. Uma alternativa para manter estas rainhas até o momento da sua introdução na colônia, é armazená-las em bancos de rainhas (Levesque, 2022). As colônias usadas como banco de rainhas são criadas durante o inverno pela fusão de duas colônias fortes sem rainha, deixando pelo menos 16 favos de cria cobertos com abelhas, para garantir uma população forte de nutrizas (Levesque, Rousseau e Giovenazzo, 2023).

Os estudos disponíveis sobre este assunto sugerem que o armazenamento de rainhas não compromete sua qualidade reprodutiva, aceitação em uma colônia ou desempenho durante a temporada de reprodução (Wyborn et al., 1993; Gen, 2003). Durante o inverno não prejudica seu desempenho reprodutivo, a aceitação, o início da postura de ovos e o desempenho pós-armazenamento das rainhas durante a temporada seguinte (Gençer, 2003).

A fim de testar se a sobrevivência ou qualidade da rainha é influenciada pela densidade de reprodutoras alocadas nos bancos, colônias banco com 40 e 80 rainhas engaioladas individualmente no centro da colônia tem sido testadas e comparadas com colônias controles (colônias com uma única rainha e cinco favos, quatro com cria e abelhas nutrizas e um com mel e pólen) mantidas em ambiente controlado durante oito meses no inverno Canadense (Levesque, Rousseau e Giovenazzo, 2023). Os resultados mostram que rainhas alojadas em bancos de 40 indivíduos tiveram significativamente maior sobrevivência comparadas com rainhas alojadas em bancos de 80 indivíduos. As rainhas controle, tinham abdômen significativamente mais longo, eram mais pesadas e tinham ovários mais pesados em comparação com as rainhas do banco. A viabilidade espermática e contagem de espermatozoides não tiveram diferença entre os grupos.

Além disso, rainhas controle, produziram significativamente mais crias (ovos e larvas) que as rainhas do banco de 40 indivíduos. No entanto, após 12 dias da introdução

nas colônias, a largura abdominal, o comprimento abdominal e o peso corporal foram equivalentes entre todos os grupos (Levesque, Rousseau e Giovenazzo, 2023).

Os ovários das rainhas controle, foram aproximadamente 14 mg mais pesados que as rainhas do banco de 80. No entanto, não tiveram diferença estatística com as rainhas do banco de 40. Pelo contrário, a contagem de espermatozoides das rainhas controle foi significativamente menor do que a das rainhas do banco de 80, mas foi equivalente à das rainhas do banco de 40. Esses resultados mostram que a sobrevivência de rainhas durante o inverno é significativamente reduzida quando usadas altas densidades de rainhas nas colônias bancos. Embora o armazenamento de rainhas em colônias bancos tenha reduzido seu peso e tamanho, essas mudanças fisiológicas foram temporárias. O armazenamento das rainhas em bancos não afetou o conteúdo de suas espermatecas nem sua aceitação nas colônias. No entanto, 12 dias após sua introdução, as rainhas armazenadas em bancos, produziram menos cria do que as rainhas controle (Levesque, Rousseau e Giovenazzo, 2023).

Em relação aos ovários, pesquisas com estereomicroscopia mostraram que rainhas engaioladas, tanto fora quanto dentro da colônia, apresentam ovários anormais (Berger, Poiani e Cruz Landim, 2015). No geral, quanto mais tempo uma rainha ficar engaiolada fora da colônia, menores ficarão os ovários. Além disso, rainhas engaioladas fora da colônia apresentam ovogênese anormal já no quarto dia após serem engaioladas (Aamidor et al., 2022). O comprimento do germário aumenta como consequência do crescimento retardado tanto dos oócitos quanto das câmaras de células nutridoras. Esse deslocamento resulta em oócitos subdesenvolvidos na fase final do vitelário. No sétimo dia depois de engaioladas fora da colônia, algumas câmaras de células nutridoras falharam em passar pelo 'dumping' ou o fizeram prematuramente (Aamidor et al., 2022).

Também, o confinamento das rainhas em gaiolas durante e após a inseminação pode ter um efeito na vida da rainha, pois pode induzir lesões nas pernas das rainhas causadas pelas operárias (Gerula, 2007), o que eventualmente pode levar à substituição.

Por outro lado, o nível de expressão de cinco genes associados à morte programada de células, genes Anarchy, Buffy, Tudor, Lncov1 e Draper, é afetado pelo tempo em que a rainha fica engaiolada e, aumenta com a duração desta variável tanto fora quanto dentro da colônia (Aamidor et al., 2022). Estes resultados enfatizam a importância do ambiente da rainha em sua capacidade reprodutiva e sugerem que a nutrição e um ambiente social adequado, normalmente são necessários para uma ovogênese regular. No entanto, a ovogênese para rainhas engaioladas dentro da colônia é menor do que para rainhas

engaioladas externamente à colônia e, manter rainhas dentro do ambiente da colônia deve ser o método preferido para o armazenamento de rainhas tentando minimizar o período em que a rainha fica engaiolada (Aamidor et al., 2022).

1.11. Virus e doenças que afetam a qualidade da rainha

A redução na qualidade das rainhas está vinculada a vários fatores, tais como o uso de pesticidas (Haarmann et al., 2002; Wu-Smart e Spivak, 2016), a presença de parasitas como a *Varroa destructor* e doenças como nosemose (Alaux et al., 2011; Traver e Fell, 2012; Simeunovic et al., 2014) e infecções virais (Gauthier et al., 2011). Os insetos sociais, notadamente as abelhas melíferas (*Apis mellifera*), frequentemente são alvos de patógenos causadores de doenças (Cornman et al., 2012). A infecção pelo vírus da asa deformada (Deformed Wings Virus - DWV) pode resultar em infecções de baixo nível em abelhas assintomáticas ou, em casos mais severos, infecções de alto nível que manifestam sintomas clínicos, como asas deformadas, abdomens encurtados, descolorações, anormalidades comportamentais e redução da expectativa de vida (De Miranda e Genersch, 2010; De Miranda et al., 2013).

A transmissão dos vírus, tanto entre indivíduos de uma mesma colônia (transmissão horizontal) quanto dos pais para a prole (transmissão vertical), pode ocorrer através de diversos meios. A transmissão horizontal envolve contato corporal, trofalaxia, alimentação ou visitas comuns a flores. Por outro lado, a transmissão vertical ocorre através da propagação do vírus dos pais para a prole, podendo ocorrer por meio de ovos ou sêmen. As abelhas desenvolveram diversas linhas de mecanismos de defesa contra patógenos, como o comportamento social cooperativo (Cremer et al., 2007), as barreiras físicas (Stanley e Miller, 2006) e o sistema imunológico inato (Randolt et al., 2008). A imunidade inata dos insetos é geralmente categorizada em imunidade celular e humoral, permitindo que os membros infectados resistam, tolerem ou reduzam as cargas patogênicas (Casteels-Josson et al., 1994; Shin et al., 2003).

A imunização transgeracional, processo pelo qual a descendência adquire resistência aumentada à infecção devido à experiência imunológica dos pais, foi demonstrada em alguns insetos, contrariando ideias anteriores sobre a falta de especificidade de patógenos nos insetos e sua incapacidade de transmitir memória imunológica (Hernández López et al., 2014). Harwood et al. (2019) relataram que a imunização transgeracional viral pode

depende da rota de exposição dos pais, da genética do hospedeiro e de efeitos epistáticos ou epigenéticos, influenciando a expressão desse fenômeno. A inoculação venérea de rainhas mostrou maior resistência ao DWV na prole em comparação com a inoculação oral.

Prodělalová et al. (2019) destacaram que tanto a inseminação instrumental quanto o acasalamento natural são rotas eficientes de transmissão do vírus da asa deformada, sendo o acasalamento natural predominante devido ao contato com zangões infectados. A taxa de infestação por meio da inseminação instrumental é baixa reduzindo a ameaça de transmissão de pragas perigosas (Buescu et al., 2015; Prodělalová et al., 2019).

A *foulbrood* ou cria pútrida americana, uma doença infecciosa grave em abelhas melíferas, é causada pela bactéria formadora de esporos *Paenibacillus larvae* com origem desconhecida e distribuição global (Matheson, 1993; Shimanuki, 1997; Genersch et al., 2006). Infecções graves podem enfraquecer ou aniquilar colônias inteiras. O teor de proteína nos ovários das rainhas aumenta significativamente após o tratamento bacteriano, possivelmente como resposta à infecção ou para fortalecer o sistema imunológico. Goma et al. (2021) observaram bactérias nos ovários de abelhas infectadas, possivelmente devido à regulação positiva do gene vitelogenina, o que pode contribuir para criar abelhas resistentes a doenças e entender como colônias de insetos sociais sobrevivem a ataques de patógenos.

Nosema apis (Zander), um parasita microscópico que infecta abelhas melíferas, é classificado como um fungo microsporídeo e, causa uma doença conhecida como nosemose. O parasita invade o intestino das abelhas, interferindo na digestão e no sistema imunológico, o que pode levar à diminuição da saúde e da produtividade das colônias (Bailey, 1995). Em abelhas rainhas os efeitos do fungo são particularmente graves devido a que os ovários não se desenvolvem adequadamente, o que pode levar à infertilidade e substituição das rainhas infectadas (Farrar, 1947; Furgala, 1962). Além disso, nutrízes que alimentam rainhas infectadas, sofrem redução na atividade das glândulas hipofaríngeas (Wang e Moeller, 1969, 1971).

O *Nosema apis* é uma preocupação significativa para os apicultores, pois pode enfraquecer as colônias e contribuir para o declínio das populações de abelhas melíferas. Sua erradicação é desafiadora devido à viabilidade prolongada dos esporos no favo de cria, tornando-se eventualmente infecciosos quando ingeridos pelas abelhas durante a limpeza do favo.

1.12. Agrotóxicos e seu impacto na rainha

Ao desempenharem o crucial papel de polinizadoras agrícolas, as abelhas melíferas frequentemente se veem expostas a agroquímicos. Durante a coleta e armazenamento de alimentos, como néctar e pólen, que contêm resíduos, as forrageiras depositam esses elementos na colmeia, resultando na presença comum de resíduos químicos, especialmente pesticidas, na cera das abelhas e nos recursos alimentares. Pettis (2013) observou que a utilização de pesticidas pode ser associada a uma redução de até 50% na viabilidade espermática, contribuindo assim para falhas nas rainhas. O impacto negativo dos inseticidas-acaricidas na criação de rainhas também foi documentado, como demonstrado por Sokol (1996), que destacou perturbações na oviposição e perda da rainha devido à persistência prolongada do fluvalinato. Além disso, Wallner (1999) identificou o coumafós como o acaricida mais prevalente na cera de abelha, com concentrações elevadas, resultantes da sua resistência à degradação natural e acumulação devido a aplicações repetidas.

Para avaliar o acúmulo de acaricidas nos tecidos das abelhas e na cera, bem como seu impacto na saúde e desenvolvimento da rainha, foram conduzidos experimentos utilizando doses baixas (duas fitas impregnadas com acaricida) e altas (oito fitas) de fluvalinato, além de doses baixas (uma fita) e altas (quatro fitas) de coumafós durante a produção de rainhas. Em resposta à exposição a altas doses de fluvalinato, as rainhas recém-emergidas apresentaram peso estatisticamente inferior (181 mg) em comparação com o grupo controle, que não foi exposto ao acaricida (197 mg). No entanto, não houve diferença significativa em relação ao peso dos ovários e ao número de espermatozoides. Da mesma forma, rainhas expostas a baixas e altas concentrações de coumafós demonstraram pesos inferiores (189 mg e 184 mg, respectivamente) em comparação com o grupo controle (197 mg). Além disso, o coumafós provocou uma diminuição significativa no peso dos ovários (dose baixa = 0,035 g; dose alta = 0,036 g) e no número de espermatozoides (baixa = 3.547.917; alta = 3.297.710) em comparação com o grupo controle (peso dos ovários = 0,040 g e número de espermatozoides = 4.818.750). Adicionalmente, realeiras expostas ao coumafós durante 6 dias foram destruídas pelas operárias devido à morte ou desenvolvimento anormal (Haarmann et al., 2002).

Quando misturados taufluvalinato (204 ppm) e coumafós (91,9 ppm) na cúpula utilizada para transferência, não se observou diferença no número de visitas que as

nutrizes realizam às larvas da rainha em comparação com o grupo controle, pois não houve alterações na composição química do feromônio da cria. Além disso, não foram observados efeitos desses acaricidas no número de ovariolos e na morfologia externa de rainhas virgens e fecundadas, incluindo peso, largura da cabeça e largura do tórax (Walsh et al., 2021).

Larvas de rainhas expostas a coumafós e fluvalinato não conseguem se desenvolver. Apenas uma rainha foi aceita quando doses de 1000 mg/kg de coumafós foram utilizadas, e 70-80 % menos rainhas foram aceitas em comparação com o grupo controle quando a dose de 100 mg/kg foi aplicada na cúpula de cera onde a rainha foi criada. Doses de 1 mg/kg e 10 mg/kg não apresentaram diferenças em relação ao grupo controle. O fluvalinato, na dose de 1000 mg/kg, foi menos tóxico do que o coumafós na mesma concentração, mas reduziu significativamente a produção de rainhas, alcançando apenas um quarto em comparação com o grupo controle (Pettis et al., 2004).

No que tange ao tamanho, a única rainha criada em uma cúpula com 1000 mg/kg de coumafós tinha metade do tamanho de uma rainha normal. No entanto, as rainhas criadas com 10 mg/kg de coumafós foram significativamente maiores do que as rainhas do grupo controle. O fluvalinato, na cúpula de cera a 1000 mg/kg, reduziu o número de rainhas criadas, mas não afetou o número de rainhas aceitas durante a introdução na colônia. Entretanto, com 100 mg/kg, aproximadamente metade do número de larvas é criada como rainhas, sendo significativamente menores e parece que as mesmas se desenvolvem mais lentamente, sugerindo que as larvas ou pupas em si são diretamente afetadas pelo produto químico. O uso inadequado de produtos químicos para controlar ácaros, resulta em altos níveis de pesticidas na cera de abelha nas colônias e, pode significar uma redução significativa no desenvolvimento e desempenho reprodutivo das rainhas (Collins et al., 2004).

Os piretroides são, provavelmente, os pesticidas repelentes mais conhecidos e tem se tornado um risco crescente para as abelhas melíferas, devido a que a exposição a estes inseticidas, afeta a quantidade de espermatozoides na espermateca da rainha, a oviposição, o peso das larvas, a taxa de emergência das abelhas, o desenvolvimento normal, a aprendizagem das abelhas e a duração dos estágios de ovo, cria aberta e cria fechada (Decourtye et al., 2004; Liao et al., 2018). Piretroides como a bifentrina e a deltametrina reduzem significativamente a fecundidade da rainha, e os efeitos no desenvolvimento das larvas podem influenciar o comportamento das abelhas adultas,

afetando, portanto, a sobrevivência da colônia. Todos esses efeitos têm um grande impacto na população da colônia (Dai et al., 2010).

O metoxifenoazida (insect growth regulator methoxyfenozid - MEOF), um regulador de crescimento de insetos, destaca-se como um dos pesticidas mais frequentemente identificados em abelhas. Sua classificação na categoria de risco reduzido pela Environmental Protection Agency (EPA) ressalta sua baixa toxicidade para insetos não-alvo, distinguindo-o de outros pesticidas (Wade et al., 2019). No entanto, Carroll et al., (2022) indicaram que rainhas criadas em cúpulas de cera contaminadas com MEOF ou alimentadas com geleia proveniente de pólen contaminado armazenam uma quantidade inferior de espermatozoides (aproximadamente 2.500.000 espermatozoides) em comparação com o grupo controle (>4.000.000 de espermatozoides). Esse menor armazenamento de esperma pode resultar na produção reduzida de operárias ao longo da vida funcional das rainhas, além de aumentar a probabilidade de substituição precoce.

Por outro lado, os fungicidas azóis, incluindo os triazóis, conhecidos como inibidores da 14-alfa-demetilase (DMIs), formam uma classe de fungicidas de amplo espectro com mais de quatro décadas de uso eficaz e relativamente econômico no controle de doenças em plantas de cereais, vegetais e frutas (Branchiccela et al., 2019). No estado de Maine, nos Estados Unidos, o propiconazol é um dos vários fungicidas triazóis empregados no controle da doença da baga múmia no mirtilo americano, junto com febuconazol, metaconazol e prothioconazol (Koch et al., 2017). Esses fungicidas, no entanto, exibem efeitos prejudiciais para as abelhas, com concentrações de propiconazol nas flores, superiores às encontradas nas abelhas forrageiras, e essas concentrações são ainda mais elevadas do que aquelas no pólen transportado para a colônia.

Em um estudo de três anos consecutivos, Drummond (2022) não observou efeitos do fungicida na taxa de postura da rainha, taxa de eclosão, sobrevivência, porcentagem de cria aberta e fechada, atividade de forrageamento e infestação por ácaros quando aplicado nas plantas antes do período de floração do mirtilo. No entanto, quando utilizado durante a floração, a mortalidade das operárias em laboratório foi 17,3% maior em comparação com o grupo controle e houve hipertrofia nos acinos das glândulas hipofaríngeas em nutrízes com cinco dias de idade. Isso sugere que a exposição da prole em desenvolvimento ao propiconazol durante a floração pode impactar a longevidade das operárias e destaca a importância de os produtores de mirtilo reduzirem a exposição das abelhas ao fungicida. Sugerindo que a pulverização seja feita apenas antes da floração, conforme indicado por Annis et al. (2022).

Similarmente, Traynor et al. (2021) reportaram que colônias alimentadas com pólen contaminado por clorotalonil e propiconazol apresentaram um consumo de ração significativamente menor em comparação com as colônias controle (83,2 % vs. 92,4 % respectivamente) e 8,7 % das abelhas operárias tratadas com estes fungicidas tiveram as glândulas hipofaríngeas atrofiadas. Em relação as rainhas, os fungicidas induziram aumento na substituição da rainha da colônia.

A dependência das colônias em abelhas nutrizas para fornecer alimentos ricos em proteínas para as larvas ressalta a importância desses alimentos, produzidos principalmente nas glândulas hipofaríngeas das abelhas. Traynor et al. (2021) relataram que 8,7 % das abelhas tratadas com fungicidas (clorotalonil e propiconazol) apresentavam glândulas hipofaríngeas completamente atrofiadas, tornando sua dissecação inviável. Colônias tratadas com inseticida também apresentaram as maiores perdas de crias, principalmente na fase larval, e maior taxa de substituição da rainha (Traynor et al., 2021).

Embora as abelhas nutrizas tenham a capacidade de reduzir duas a três vezes a exposição da rainha a agroquímicos por meio da filtragem de agentes tóxicos, a exposição de abelhas rainhas ao pólen tratado com uma combinação de agroquímicos durante a floração das amendoeiras mostra concentrações duas a três vezes maiores nos ingredientes ativos do pólen tratado em comparação com as secreções glandulares das abelhas nutrizas (Ricke et al., 2021). Essa exposição indireta aos agroquímicos resulta em uma redução significativa na taxa de emergência das rainhas, chegando a 75% nos grupos alimentados com pólen contendo o controle positivo Dimilin 2L (Dif) e aproximadamente 30 % nas rainhas criadas com pólen contendo uma combinação de Altacor (Chl), Tilt (Pro) e Dyne-Amic (Dyn), em comparação com o grupo de controle negativo. Essas descobertas apoiam as práticas recomendadas, evitando a combinação de inseticidas e adjuvantes com fungicidas durante a floração das amendoeiras para preservar a polinização (Ricke et al., 2021).

No que se refere à exposição aguda a pesticidas comuns na cera, a administração de diferentes concentrações (de 1 a 32 vezes) de pesticidas (coumafós, fluvalinato, 2,4-DMPF, clorotalonil, clorpirifos e atrazina), frequentemente encontrados, não parece ter impactos adversos nas rainhas. Não foram observados efeitos na morfometria das rainhas, quantidade de esperma armazenado, viabilidade do esperma ou expressão proteica do corpo gorduroso, independentemente da dose utilizada (McAfee et al., 2021).

Os neonicotinoides, uma classe comum de inseticidas sistêmicos, destacam-se pela eficácia contra uma ampla variedade de insetos-praga, apresentando uma considerável

segurança para mamíferos em comparação com os produtos de proteção vegetal anteriormente empregados (Simon-Delso et al., 2015). Em experimentos com larvas de rainhas expostas a doses de 0, 5 ou 50 ng de tiametoxam, colocadas diretamente na geleia real, observou-se uma redução na porcentagem de operculação das realeiras, passando de 100 % no tratamento controle para 88 % no tratamento com alta dose de tiametoxam (THI). Além disso, rainhas expostas a 50 ng de THI apresentaram uma redução de 31 % (25/36) e 46 % (13/24) na sobrevivência geral nos experimentos A e B, respectivamente, em comparação com os controles (Kozii et al., 2021).

Quando as rainhas receberam 50 ng do neonicotinoide, houve uma diminuição de 18 % na viabilidade dos espermatozoides em relação ao grupo controle e uma redução de 15 % em comparação com o grupo que recebeu 5 ng. No entanto, o tiametoxam não influenciou a porcentagem de acasalamento, o peso da rainha, o número de espermatozoides na espermateca, a contagem total de ovários e nem a taxa de apoptose nos ovários. Contudo, a avaliação inicial dos tecidos identificou as glândulas mandibulares e os ovários das rainhas como órgãos potencialmente afetados pela toxicidade do THI. A camada epitelial das glândulas mandibulares, de forma subjetiva, apresentava-se atenuada e/ou hipoplásica (com menos corrugação proeminente) em rainhas expostas a 50 ng de THI (Kozii et al., 2021).

Especificamente, as rainhas no grupo de 50 ng de THI demonstraram uma redução de 25 % na área total do epitélio da glândula mandibular em comparação com o controle. Conseqüentemente, a exposição tardia de larvas de abelhas rainhas a doses de THI pode resultar em redução na sobrevivência das pupas, na viabilidade espermática e em hipoplasia das glândulas mandibulares (Kozii et al., 2021).

No contexto do controle de ácaros varroa (*Varroa destructor*) e ácaros traqueais (*Acarapis woodi*) em abelhas *Apis mellifera* L, o ácido fórmico, utilizado como acaricida, não demonstrou impacto significativo no desempenho das rainhas quando expostas a diferentes tempos e concentrações durante o inverno. Não foram observadas diferenças na produção de crias, taxas de substituição ou produção de mel em rainhas expostas ao ácido fórmico em comparação com as não expostas, conforme constatado por Underwood e Currie (2008).

1.13. Relação dos parâmetros genéticos com a qualidade das rainhas

A arquitetura genética das características reprodutivas em abelhas é intrincada, com herdabilidade baixa e limitada pelo sexo (Manfredini et al., 2015; Chen e Fu, 2021). Nesse contexto, métodos tradicionais de seleção demonstram um progresso genético lento. No entanto, avanços na biologia molecular permitiram o desenvolvimento de novas abordagens, como a seleção assistida por marcadores moleculares e a seleção genômica (Boecking et al., 2000). Recentemente, também foi descoberto que RNAs não codificadores, como micro RNAs (miRNAs), RNAs longos não codificantes (lncRNAs) e RNAs circulares (circRNAs), desempenham papéis em uma rede complexa que regula a postura de ovos. Um exemplo é o RNA circular *ame_circ_0002015* (abreviado como *circ_2015*) que tem sido relacionado com o processo de ativação do ovário e cuja super expressão promove o aumento do número de ovos postos ao sequestrar o miR-14-3p e regular a expressão do gene alvo Receptor de Ecdisona (EcR), importante na postura de ovos em abelhas por seu papel na via dos ecdisteróides, tornando ao *circ_2015* um potencial fator de seleção (Chen, Wan e An, 2023).

A influência de elementos específicos no processo reprodutivo das abelhas também foi observada. A diminuição da expressão de miR-14 e o aumento da expressão do receptor de ecdisona (EcR) tiveram impactos positivos no número de ovos postos pelas rainhas. O miR-14, atingindo diretamente o mRNA do EcR, demonstrou que rainhas com super expressão de miR-14 apresentaram uma redução de 35% no número de ovos em comparação com o grupo controle. Da mesma forma, a super expressão do EcR resultou em um aumento de 94% no número de ovos. Esses resultados indicam a forte relação entre miR-14 e EcR na regulação da postura de ovos em abelhas (Chen e Fu, 2021).

Considerando os efeitos maternos, amplamente reconhecidos em animais e plantas (Roach e Wulff, 1987; Bernardo, 1996), observa-se que o fenótipo da prole é mais fortemente influenciado pelo fenótipo materno do que pelo seu próprio genótipo (Schwabl e Groothuis, 2019). Em abelhas, essa influência materna se manifesta na diferenciação de castas e no desenvolvimento de rainhas, em que ovos provenientes de realeiras resultam em rainhas de qualidade superior em comparação com ovos de alvéolos de operárias (Yu et al., 2023). As rainhas depositam ovos maiores em realeiras, resultando em rainhas mais pesadas, com mais ovariolos, padrões de expressão gênica distintos, comprimento e largura de tórax significativamente maiores.

Fatores ambientais como dieta das larvas e efeitos maternos contribuem para a diferenciação das castas e o desenvolvimento da rainha (Wei et al., 2019). Análises epigenéticas destacam que existe influência do efeito materno na metilação do DNA durante a produção de rainhas, ovos de rainhas e larvas de operárias de dois dias apresentam o maior número de genes metilados de maneira diferente (DMGs, 612), estes, estão envolvidos nas vias de sinalização mTOR, MAPK, Wnt, Notch, Hedgehog, FoxO e Hippo, desempenhando papéis na regulação da diferenciação de castas, reprodução e longevidade (He et al., 2021).

Cardoso-Júnior et al. (2018) contribuíram para a compreensão desses fenômenos ao demonstrar que a metilação do DNA influencia a longevidade das rainhas, regulando a expressão do gene vitelogenina. O efeito materno, que influencia a metilação do DNA em rainhas, resulta em diferenças significativas no tamanho do tórax entre rainhas provenientes de ovos de rainha, ovos de operária e larvas de dois dias. Além disso, a análise de 35 genes diferencialmente expressos (DEGs) relacionados à imunidade e ao desenvolvimento revelou que as diferenças na expressão gênica e na metilação do DNA aumentam com a idade das larvas de operárias transferidas.

Os resultados dos estudos do Chen et al. (2012) e (2017) indicam que existe um forte efeito materno no desenvolvimento das rainhas, potencialmente contribuindo para a qualidade das rainhas. As comparações entre diferentes grupos (QE/2L, WE/2L, QE/WE) destacam variações nas regiões diferencialmente metiladas (DMRs) e nos genes diferencialmente metilados (DMGs), sendo QE/2L o grupo com maior incidência. Notavelmente, 42 DMGs estão envolvidos em 11 vias de sinalização, incluindo mTOR, MAPK, Wnt e Notch, conhecidas por regular a diferenciação de castas e o desenvolvimento das rainhas (Chen et al., 2012; Chen et al., 2017).

A regulação da metilação do DNA por efeitos maternos é evidenciada pela influência de diferentes dietas durante o estágio larval, que alteram a metilação do DNA. A absorção de nutrientes, como a vitelina, pelos ovos durante os 21 dias de desenvolvimento contribui para essas mudanças (Li e Zhang, 2017). No entanto, a relação direta entre a metilação do DNA e a expressão gênica ainda não é completamente compreendida, sendo necessário explorar fatores como splicing alternativo, estrutura cromossômica e modificações de histonas (Dmitrijeva et al., 2018; He et al., 2021).

As rainhas resultantes desse processo, com um elevado número de ovos postos, desempenham um papel crucial no rápido crescimento das colônias, preparando-as para futuras atividades de polinização e produção. Contudo, dada a complexidade da

arquitetura genética das características reprodutivas e a baixa herdabilidade, a seleção precoce com métodos tradicionais torna-se desafiadora, retardando o progresso genético.

1.14.Cienciometria

A cienciometria surgiu na década de 80, como a avaliação da produção científica por meio de indicadores numéricos como publicações e patentes, desempenhando um papel fundamental na análise quantitativa do cenário acadêmico (Börner et al., 2003). Juntamente com a bibliometria, que se ocupa de diversas medições relacionadas à literatura, documentos e outros meios de comunicação, a cienciometria foca na produtividade e utilidade científica através de indicadores numéricos de publicações (Spinak, 1998).

O campo da cienciometria abrange o estudo de aspectos quantitativos da produção científica, utilizando técnicas bibliométricas para explorar tendências, concentração e emergência de temas científicos. Isso inclui a mensuração do desempenho acadêmico em instituições, nações e autores (Dutra e Souza, 2017). Além disso, a cienciometria busca estabelecer conexões entre assuntos e questões cruciais, como o desenvolvimento e as políticas científicas, o avanço da ciência e tecnologia, e o progresso econômico e social, visando analisar seus possíveis aspectos sustentáveis (Spinak, 1998).

A expressão "cienciometria" teve origem na antiga União Soviética, com o propósito original de estudar o fluxo da informação e da comunicação científica. Isso foi alcançado por meio da aplicação de métodos quantitativos no estudo da história da ciência e do progresso tecnológico no contexto do pós-guerra (Spinak, 1996; Vanti, 2002). Desde então, a cienciometria evoluiu para desempenhar um papel crucial na compreensão e aprimoramento do cenário científico global, contribuindo para a tomada de decisões informadas e o desenvolvimento sustentável.

Para atingir esses objetivos, a cienciometria utiliza documentos publicados, especialmente artigos de periódicos, como fontes primárias para construir uma visão geral das produções científicas e tecnológicas em áreas específicas do conhecimento, países ou regiões (Cobo et al., 2011). Esse enfoque possibilita uma percepção aprofundada do cenário de evolução e aplicação do conhecimento dentro do campo analisado.

De acordo com Spinak (1998), Hayashi (2013), Parra, Coutinho e Pessano (2019) e Moreira, Salerno e Tsunoda (2020), o uso de indicadores cienciométricos para mapeamento de pesquisas permite:

- a) identificar as tendências de crescimento do conhecimento em uma determinada área;
- b) identificar as revistas do núcleo de uma disciplina;
- c) identificar os usuários (público-alvo) de uma disciplina;
- d) prever tendências de publicações;
- e) estudar a dispersão e obsolescência da literatura científica;
- f) estudar a produtividade de autores e medir o grau de colaboração entre eles;
- g) analisar os processos de citação e co-citação;
- h) avaliar aspectos estatísticos da linguagem, palavras e frases;
- i) medir o crescimento de determinadas áreas e o surgimento de novos temas;
- j) desenvolver processos de indexação e classificação de resumos; e
- k) obter o número de citações nos artigos, entre outras possibilidades.

Dessa forma, a cienciométrica emerge como uma ferramenta valiosa para compreender e analisar o panorama científico, oferecendo insights fundamentais para a tomada de decisões informadas e o avanço contínuo do conhecimento. Na década de 70 os estudos cienciométricos iniciaram-se no Brasil, quando professores do atual Instituto Brasileiro de Informação em Ciência e Tecnologia (IBICT) do curso de Pós-Graduação em Ciências da Informação, convidaram cientistas internacionais para lecionarem aos alunos do curso de mestrado, disciplinas referentes ao tema cienciométrica. Entre 1980 e 1990, vários pesquisadores passaram a colaborar em estudos cienciométricos em parceria com a IBICT, percebendo um crescimento dos estudos nessa área (Pinheiro e Silva, 2008).

No que se refere a abelhas, tem sido publicadas análises cienciométricas que relacionam a contaminação por pesticidas e, o declínio da população de abelhas observado nos últimos anos (Abati et al., 2021). Além disso, foi realizado o levantamento de abelhas no Brasil nas últimas seis décadas, descrevendo lacunas na amostragem espacial, na frequência e nos métodos de amostragem preferidos, nas práticas de identificação de espécies e vouchering, entre outros parâmetros para abelhas *Apidae* e *Euglossini* (Pereira, Gonçalves e Ramos, 2021). Também foram analisados os usos e os efeitos da própolis, padronização de extratos e seus compostos bioativos para uso em farmacologia e terapêutica experimental (Sousa et al., 2023). Ainda, foram levantados os tipos de pólen descritos no Brasil em publicações entre 2005 e 2017, produzindo um

banco de dados melissopalínológico (Souza, Abreu e Novais, 2019). Além disso, um estudo bibliométrico sobre o uso médico e, a aplicação de produtos das abelhas-Apiterapia entre 1980 e 2016 também foi publicado (Şenel e Demir, 2018). No entanto, não existe análise cienciométrica publicada sobre tópicos de qualidade de abelhas rainhas *Apis mellifera* tornando-se um dos objetivos da tese.

REFERÊNCIAS

- Aamidor, S. E., Cardoso-Júnior, C. A., Harianto, J., Nowell, C. J., Cole, L., Oldroyd, B. P., & Ronai, I. (2022). Reproductive plasticity and oogenesis in the queen honey bee (*Apis mellifera*). *Journal of Insect Physiology*, *136*, 104347.
- Abati, R., Sampaio, A. R., Maciel, R. M. A., Colombo, F. C., Libardoni, G., Battisti, L., ... & Potrich, M. (2021). Bees and pesticides: The research impact and scientometrics relations. *Environmental Science and Pollution Research*, *28*(25), 32282-32298.
- Akyol, E., Yeninar, H., & Kaftanoglu, O. (2008). Live weight of queen honey bees (*Apis mellifera* L.) predicts reproductive characteristics. *Journal of the Kansas Entomological Society*, *81*(2), 92-100.
- Alaux, C., Folschweiller, M., McDonnell, C., Beslay, D., Cousin, M., Dussaubat, C., ... & Le Conte, Y. (2011). Pathological effects of the microsporidium *Nosema ceranae* on honey bee queen physiology (*Apis mellifera*). *Journal of invertebrate pathology*, *106*(3), 380-385.
- Alberta Agriculture. (1982). The prairie beekeeping manual. Alberta Agriculture, Plint Media Branch, Edmonton, Canada
- Al-Kahtani, S. N. (2018). Morphometric characteristics of carniolan honeybee workers in relation to age of comb. *Sci. J. King Faisal Univ*, *19*, 47-54.
- Al-Lawati, H., & Bienefeld, K. (2009). Maternal age effects on embryo mortality and juvenile development of offspring in the honey bee (Hymenoptera: Apidae). *Annals of the Entomological Society of America*, *102*(5), 881-888.
- Al-Lawati, H., Kamp, G., & Bienefeld, K. (2009). Characteristics of the spermathecal contents of old and young honeybee queens. *Journal of insect physiology*, *55*(2), 117-122.
- Amiri, E., Le, K., Melendez, C. V., Strand, M. K., Tarpy, D. R., & Rueppell, O. (2020). Egg-size plasticity in *Apis mellifera*: Honey bee queens alter egg size in response to both genetic and environmental factors. *Journal of Evolutionary Biology*, *33*(4), 534-543.
- Amiri, E., Strand, M. K., Rueppell, O., & Tarpy, D. R. (2017). Queen quality and the impact of honey bee diseases on queen health: potential for interactions between two major threats to colony health. *Insects*, *8*(2), 48.
- Apoegaite, V., & Skirkevicius, A. (1995). Quantitative and qualitative composition of extracts from virgin and mated honey bee queens. *Apis mellifera*, 23-36.
- Arrese, E. L., & Soulages, J. L. (2010). Insect fat body: energy, metabolism, and regulation. *Annual review of entomology*, *55*, 207-225.
- Arslan, S., Cengiz, M. M., Gül, A., & Sayed, S. (2021). Evaluation of the standards compliance of the queen bees reared in the Mediterranean region in Turkey. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *28*(5), 2686-2691.

- Arslan, S., Güler, A., & Arslan, H. S. (2015, January). Quality criteria and standards compliance with grown queen bee at Mediterranean region in Turkey. In *International Conference on Engineering and Natural Science* (pp. 211-220).
- Avetisyan, G. A. (1961). The relation between interior and exterior characteristics of the queen and fertility and productivity of the bee colony. In *XVIII International Beekeeping Congress* (pp. 44-53).
- Baer, B., Collins, J., Maalaps, K., & den Boer, S. P. (2016). Sperm use economy of honeybee (*Apis mellifera*) queens. *Ecology and Evolution*, 6(9), 2877-2885.
- Bailey, L. (1955). The infection of the ventriculus of the adult honeybee by *Nosema apis* (Zander). *Parasitology*, 45(1-2), 86-94.
- Baer, B., Eubel, H., Taylor, N. L., O'Toole, N., & Millar, A. H. (2009). Insights into female sperm storage from the spermathecal fluid proteome of the honeybee *Apis mellifera*. *Genome biology*, 10, 1-16.
- Berger, B., & Cruz-Landim, C. (2009). Ultrastructural analysis of the effect of mating delay on cell death in the ovaries of virgin honey bee (*Apis mellifera* L.) queens. *Journal of apicultural research*, 48(1), 60-66.
- Bernardo, J. (1996). Maternal effects in animal ecology. *American Zoologist*, 36(2), 83-105.
- Boecking, O., Bienefeld, K., & Drescher, W. (2000). Heritability of the *Varroa*-specific hygienic behaviour in honey bees (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Animal Breeding and genetics*, 117(6), 417-424.
- Bozina, K. D. (1961). How long does the queen live. *Pchelovodstvo*, 38(6), 13.
- Branchiccela, B., Castelli, L., Corona, M., Díaz-Cetti, S., Invernizzi, C., Martínez de la Escalera, G., ... & Antúnez, K. (2019). Impact of nutritional stress on the honeybee colony health. *Scientific reports*, 9(1), 10156.
- Brockmann, A., Brückner, D., & Crewe, R. M. (1998). The EAG response spectra of workers and drones to queen honeybee mandibular gland components: the evolution of a social signal. *Naturwissenschaften*, 85(6), 283-285.
- Büchler, R., Andonov, S., Bienefeld, K., Costa, C., Hatjina, F., Kezic, N., ... & Wilde, J. (2013). Standard methods for rearing and selection of *Apis mellifera* queens. *Journal of Apicultural Research*, 52(1), 1-30.
- Buescu, E., GURĂU, M. R., & BÎRȚOIU, A. I. (2015). Artificial insemination on *Apis mellifera*—aspects of artificial inseminated queen performances and factors that may affect their performance. *The publishing house of the Romanian Academy*.
- Butler, C. G. (1957). The control of ovary development in worker honeybees (*Apis mellifera*). *Experientia*, 13(6), 256-257.
- Butler, C. G., & Fairey, E. M. (1963). The role of the queen in preventing oogenesis in worker honeybees. *Journal of Apicultural Research*, 2(1), 14-18.
- Cardoso-Júnior, C. A., Guidugli-Lazzarini, K. R., & Hartfelder, K. (2018). DNA methylation affects the lifespan of honey bee (*Apis mellifera* L.) workers—evidence for a regulatory module that involves vitellogenin expression but is independent of juvenile hormone function. *Insect biochemistry and molecular biology*, 92, 21-29.
- Carroll, M. J., Corby-Harris, V., Brown, N., Snyder, L., & Reitz, D. C. (2022). Methoxyfenozide has minimal effects on replacement queens but may negatively affect sperm storage. *Apidologie*, 53(3), 33.
- Casteels-Josson, K., Zhang, W., Capaci, T., Casteels, P., & Tempst, P. (1994). Acute transcriptional response of the honeybee peptide-antibiotics gene repertoire and required post-translational conversion of the precursor structures. *Journal of Biological Chemistry*, 269(46), 28569-28575.

- Chen, X., & Fu, J. (2021). The microRNA miR-14 regulates egg-laying by targeting EcR in Honeybees (*Apis mellifera*). *Insects*, *12*(4), 351.
- Chen, X., Hu, Y., Zheng, H., Cao, L., Niu, D., Yu, D., ... & Hu, F. (2012). Transcriptome comparison between honey bee queen-and worker-destined larvae. *Insect biochemistry and molecular biology*, *42*(9), 665-673.
- Chen, X., Ma, C., Chen, C., Lu, Q., Shi, W., Liu, Z., ... & Guo, H. (2017). Integration of lncRNA-miRNA-mRNA reveals novel insights into oviposition regulation in honey bees. *PeerJ*, *5*, e3881.
- Chen, X., Wang, D., & An, J. (2023). Circular RNA ame_circ_2015 Function as microRNA Sponges in Regulating Egg-Laying of Honeybees (*Apis mellifera*). *Life*, *13*(1), 161.
- Chinh, T. X., Boot, W. J., & Sommeijer, M. J. (2005). Production of reproductives in the honey bee species *Apis cerana* in northern Vietnam. *Journal of apicultural research*, *44*(2), 41-48.
- Cobey, S. W. (2007). Comparison studies of instrumentally inseminated and naturally mated honey bee queens and factors affecting their performance. *Apidologie*, *38*(4), 390-410.
- Cobey, S. W. (2016). An introduction to instrumental insemination of honey bee queens. *Bee World*, *93*(2), 33-36.
- Cobey, S. W., Tarpay, D. R., & Woyke, J. (2013). Standard methods for instrumental insemination of *Apis mellifera* queens. *Journal of Apicultural Research*, *52*(4), 1-18.
- Cobo, M. J., López-Herrera, A. G., Herrera-Viedma, E., & Herrera, F. (2011). Science mapping software tools: Review, analysis, and cooperative study among tools. *Journal of the American Society for information Science and Technology*, *62*(7), 1382-1402.
- Collins, A. M. (2000). Relationship between semen quality and performance of instrumentally inseminated honey bee queens. *Apidologie*, *31*(3), 421-429.
- Collins, A. M. (2000). Survival of honey bee (Hymenoptera: Apidae) spermatozoa stored at above-freezing temperatures. *Journal of economic entomology*, *93*(3), 568-571.
- Collins, A. M. (2005). Insemination of honey bee, *Apis mellifera*, queens with non-frozen stored semen: sperm concentration measured with a spectrophotometer. *Journal of apicultural research*, *44*(4), 141-145.
- Collins, A. M., Williams, V., & Evans, J. D. (2004). Sperm storage and antioxidative enzyme expression in the honey bee, *Apis mellifera*. *Insect molecular biology*, *13*(2), 141-146.
- Collins, A. M., Pettis, J. S., Wilbanks, R., & Feldlaufer, M. F. (2004). Performance of honey bee (*Apis mellifera*) queens reared in beeswax cells impregnated with coumaphos. *Journal of Apicultural Research*, *43*(3), 128-134.
- Cornman, R. S., Tarpay, D. R., Chen, Y., Jeffreys, L., Lopez, D., Pettis, J. S., ... & Evans, J. D. (2012). Pathogen webs in collapsing honey bee colonies.
- Corona, M., Hughes, K. A., Weaver, D. B., & Robinson, G. E. (2005). Gene expression patterns associated with queen honey bee longevity. *Mechanisms of ageing and development*, *126*(11), 1230-1238.
- Cremer, S., Armitage, S. A., & Schmid-Hempel, P. (2007). Social immunity. *Current biology*, *17*(16), R693-R702.
- Currie, R. W. (1987). The biology and behaviour of drones. *Bee world*, *68*(3), 129-143.
- Cruz Landim, C. (2009). *Abelhas*. Unesp.
- Dai, P. L., Wang, Q., Sun, J. H., Liu, F., Wang, X., Wu, Y. Y., & Zhou, T. (2010). Effects of sublethal concentrations of bifenthrin and deltamethrin on fecundity, growth, and development of the honeybee *Apis mellifera ligustica*. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, *29*(3), 644-649.

- De Miranda, J. R., & Genersch, E. (2010). Deformed wing virus. *Journal of invertebrate pathology*, *103*, S48-S61.
- De Miranda, J. R., Bailey, L., Ball, B. V., Blanchard, P., Budge, G. E., Chejanovsky, N., ... & Van Der Steen, J. J. (2013). Standard methods for virus research in *Apis mellifera*. *Journal of apicultural research*, *52*(4), 1-56.
- de Oliveira, V. T. P., & Cruz-Landim, C. (2003). Morphology and function of insect fat body cells: a review. *Biociências (On-line)*, *11*(2).
- Souza, D. A., Bezzera-Laure, M. A. F., Franco, T. M., & Gonçalves, L. S. (2013). Experimental evaluation of the reproductive quality of Africanized queen bees (*Apis mellifera*) on the basis of body weight at emergence. *Genetics and Molecular Research*, *12*(4), 5382-5391.
- Souza, R. R., de Abreu, V. H. R., & de Novais, J. S. (2019). Melissopalynology in Brazil: a map of pollen types and published productions between 2005 and 2017. *Palynology*, *43*(4), 690-700.
- Delaney, D. A., Keller, J. J., Caren, J. R., & Tarpy, D. R. (2011). The physical, insemination, and reproductive quality of honey bee queens (*Apis mellifera* L.). *Apidologie*, *42*, 1-13.
- den Boer, S. P., Boomsma, J. J., & Baer, B. (2009). Honey bee males and queens use glandular secretions to enhance sperm viability before and after storage. *Journal of Insect Physiology*, *55*(6), 538-543.
- Dmitrijeva, M., Ossowski, S., Serrano, L., & Schaefer, M. H. (2018). Tissue-specific DNA methylation loss during ageing and carcinogenesis is linked to chromosome structure, replication timing and cell division rates. *Nucleic acids research*, *46*(14), 7022-7039.
- Dodoluglu, A., Emsen, B., & Gene, F. (2004). Comparison of some characteristics of queen honey bees (*Apis mellifera* L.) reared by using Doolittle method and natural queen cells. *Journal of Applied Animal Research*, *26*(2), 113-115.
- Drummond, F. A. (2022). Honey bee exposure to the fungicide propiconazole in lowbush blueberry fields. *Agronomy*, *12*(12), 3081.
- Dyson, C. J., & Goodisman, M. A. (2020). Gene duplication in the honeybee: patterns of DNA methylation, gene expression, and genomic environment. *Molecular Biology and Evolution*, *37*(8), 2322-2331.
- Elango, N., Hunt, B. G., Goodisman, M. A., & Yi, S. V. (2009). DNA methylation is widespread and associated with differential gene expression in castes of the honeybee, *Apis mellifera*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *106*(27), 11206-11211.
- El-Kazafy, A. T., & Samir, Y. A. (2007). Effect of combs age on honey production and its physical and chemical properties. *Bull. Ent. Soc. Egypt*, *11*, 9-18.
- ENGELS, W., ROSENKRANZ, P., ADLER, A., TAGHIZADEH, T., LÜBKE, G., & FRANCKE, W. (1997). Mandibular gland volatiles and their ontogenetic patterns in queen honey bees, *Apis mellifera carnica*. *Journal of Insect Physiology*, *43*(4), 307-313.
- Farrar, C. L. (1953). Two-queen colony management. *Bee World*, *34*(10), 189-194.
- FINLEY, J., Sammataro, D., & Camazine, S. (1999). Queens in transit: spying on the post office. *American Bee Journal*, *139*(4), 311.
- Franck, P., Coussy, H., Le Conte, Y., Solignac, M., Garnery, L., & Cornuet, J. M. (1999). Microsatellite analysis of sperm admixture in honeybee. *Insect Molecular Biology*, *8*(3), 419-421.
- Free, J. B., & Racey, P. A. (1968). The effect of the size of honeybee colonies on food consumption, brood rearing and the longevity of the bees during winter. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, *11*(2), 241-249.

- Gąbka, J., & Cobey, S. W. (2018). Factors, based on common practices, affecting the results of instrumental insemination of honey bee queens. *Apidologie*, *49*(6), 773-780.
- Gauthier, L., Ravallec, M., Tournaire, M., Cousserans, F., Bergoin, M., Dainat, B., & de Miranda, J. R. (2011). Viruses associated with ovarian degeneration in *Apis mellifera* L. queens. *PLOS one*, *6*(1), e16217.
- Gençer, H. V. (2003). Overwintering of honey bee queens en mass in reservoir colonies in a temperate climate and its effect on queen performance. *Journal of Apicultural Research*, *42*(4), 61-64.
- Gençer, H. V., & Kahya, Y. (2011). Are sperm traits of drones (*Apis mellifera* L.) from laying worker colonies noteworthy?. *Journal of Apicultural Research*, *50*(2), 130-137.
- Genersch, E., Forsgren, E., Pentikäinen, J., Ashiralieva, A., Rauch, S., Kilwinski, J., & Fries, I. (2006). Reclassification of *Paenibacillus larvae* subsp. *pulvificiens* and *Paenibacillus larvae* subsp. *larvae* as *Paenibacillus larvae* without subspecies differentiation. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *56*(3), 501-511.
- Gerula, D. (2007). Observations of body injuries of artificially inseminated honey bee queens inflicted in the subsequent stages of rearing and during their introduction into colonies. *Journal of Apicultural Science*, *51*(2), 5-17.
- Gilley, D. C., Tarpy, D. R., & Land, B. B. (2003). Effect of queen quality on interactions between workers and dueling queens in honeybee (*Apis mellifera* L.) colonies. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, *55*, 190-196.
- Gomaa, S. A. S., Barakat, E. M. S., Salama, M. S., & El-Gohary, E. E. (2021). Effect of the bacterium *Paenibacillus larvae* on vitellogenin gene expression of the queen honey bee *Apis mellifera* L. *African Entomology*, *29*(1), 96-103.
- Gomes, R. V. R. de S., Gramacho, K. P., & Gonçalves, L. S. (2019). Longevity and reproduction period of africanized queen bees in the Northeast region of Brazil. *Medicina Veterinária*, *13*(1), 96–101. <https://doi.org/10.26605/medvet-v13n1-2616>
- Gonzalez, Alejandra N., Nancy Ing, e Juliana Rangel. "Upregulation of antioxidant genes in the spermathecae of honey bee (*Apis mellifera*) queens after mating." *Apidologie* *49.2* (2018): 224-234.
- Guzmán-Novoa, E., Page Jr, R. E., & Prieto-Meros, D. (1998). Queen introduction, acceptance, and survival in honey bee (Hymenoptera: Apidae) colonies of a tropical, Africanized region. *Journal of economic entomology*, *91*(6), 1290-1294.
- Haarmann, T., Spivak, M., Weaver, D., Weaver, B., & Glenn, T. (2002). Effects of fluvalinate and coumaphos on queen honey bees (Hymenoptera: Apidae) in two commercial queen rearing operations. *Journal of economic entomology*, *95*(1), 28-35.
- Haberl, M., & Tautz, D. (1998). Sperm usage in honey bees. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, *42*, 247-255.
- Hagedorn, H. H., & Kunkel, J. G. (1979). Vitellogenin and vitellin in insects. *Annual review of entomology*, *24*(1), 475-505.
- Han, B., Wei, Q., Amiri, E., Hu, H., Meng, L., Strand, M. K., ... & Rueppell, O. (2022). The molecular basis of socially induced egg-size plasticity in honey bees. *Elife*, *11*, e80499.
- Harbo, J. R., & Williams, J. L. (1987). Effect of above-freezing temperatures on temporary storage of honeybee spermatozoa. *Journal of apicultural research*, *26*(1), 53-55.
- Harizanis, P. C., & GARY, M. (1984). The quality of insemination of queen honey bees mated under commercial conditions.
- Hartfelder, K., Tiberio, G. J., Lago, D. C., Dallacqua, R. P., & Bitondi, M. M. G. (2018). The ovary and its genes—developmental processes underlying the establishment and

- function of a highly divergent reproductive system in the female castes of the honey bee, *Apis mellifera*. *Apidologie*, 49, 49-70.
- Harwood, G., Amdam, G., & Freitak, D. (2019). The role of Vitellogenin in the transfer of immune elicitors from gut to hypopharyngeal glands in honey bees (*Apis mellifera*). *Journal of insect physiology*, 112, 90-100.
- Hasnat, M. A. (2018). Reproductive potential difference of artificially inseminated and naturally mated honey bee queens (*Apis mellifera* L.).
- Hatjina, F., Bienkowska, M., Charistos, L., Chlebo, R., Costa, C., Dražić, M. M., ... & Wilde, J. (2014). A review of methods used in some European countries for assessing the quality of honey bee queens through their physical characters and the performance of their colonies. *Journal of Apicultural Research*, 53(3), 337-363.
- Hauser, H., & Lensky, Y. (1994). The effect of the age of the honey bee (*Apis mellifera* L) queen on worker population, swarming and honey yields in a subtropical climate. *Apidologie*, 25(6), 566-578.
- He, X. J., Wei, H., Jiang, W. J., Liu, Y. B., Wu, X. B., & Zeng, Z. (2021). Honeybee (*Apis mellifera*) maternal effect causes alternation of DNA methylation regulating queen development. *Sociobiology*, 68(1), e5935-e5935.
- Hernández López, J., Schuehly, W., Crailsheim, K., & Riessberger-Gallé, U. (2014). Trans-generational immune priming in honeybees. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 281(1785), 20140454.
- Hernández-García, R., De la Rúa, P., & Serrano, J. (2009). Mating frequency in *Apis mellifera iberiensis* queens. *Journal of apicultural research*, 48(2), 121-125.
- Hoover, S. E., Keeling, C. I., Winston, M. L., & Slessor, K. N. (2003). The effect of queen pheromones on worker honey bee ovary development. *Naturwissenschaften*, 90, 477-480.
- Hsu, C. Y., Weng, Y. T., & Chen, C. H. (2022). The longevity of queen honey bees (*Apis mellifera*) is associated with the increase of cellular activities through the cAMP/PKA and RAS/MAPK signaling pathways. *Apidologie*, 53(6), 65.
- Jackson, J. T., Tarpy, D. R., & Fahrback, S. E. (2011). Histological estimates of ovariole number in honey bee queens, *Apis mellifera*, reveal lack of correlation with other queen quality measures. *Journal of insect science*, 11(1), 82.
- Katzav-Gozansky, T., Soroker, V., Ibarra, F., Francke, W., & Hefetz, A. (2001). Dufour's gland secretion of the queen honeybee (*Apis mellifera*): an egg discriminator pheromone or a queen signal?. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 51, 76-86.
- Khan, K. A., Rafique, M. K., Lashari, M. A., Iqbal, A., Mahmood, R., Ahmed, A. M., ... & Ghramh, H. A. (2022). Instrumental insemination: A nontraditional technique to produce superior quality honey bee (*Apis mellifera*) queens. *Journal of King Saud University-Science*, 34(5), 102077.
- Koch, H., Brown, M. J., & Stevenson, P. C. (2017). The role of disease in bee foraging ecology. *Current opinion in insect science*, 21, 60-67.
- Koeniger, G., Koeniger, N., Tingek, S., & Kelitu, A. (2000). Mating flights and sperm transfer in the dwarf honeybee *Apis andreniformis* (Smith, 1858). *Apidologie*, 31(2), 301-311.
- Koeniger, N., & Koeniger, G. (2007). Mating flight duration of *Apis mellifera* queens: As short as possible, as long as necessary. *Apidologie*, 38(6), 606-611.
- Kostarelou-Damianidou, M., Thrasyvoulou, A., Tselios, D., & Bladenopoulos, K. (1995). Brood and honey production of honey bee colonies requeened at various frequencies. *Journal of Apicultural Research*, 34(1), 9-14.

- Kozii, I. V., Barnsley, S., Silva, M. C. B. D., Wood, S. C., Klein, C. D., de Mattos, I. M., ... & Simko, E. (2021). Reproductive fitness of honey bee queens exposed to thiamethoxam during development. *Veterinary Pathology*, *58*(6), 1107-1118.
- Kozii, I. V., Wood, S. C., Koziy, R. V., & Simko, E. (2022). Histomorphological description of the reproductive system in mated honey bee queens. *Journal of Apicultural Research*, *61*(1), 114-126.
- Kucharski, R., Maleszka, J., Foret, S., & Maleszka, R. (2008). Nutritional control of reproductive status in honeybees via DNA methylation. *Science*, *319*(5871), 1827-1830.
- Kulhanek, K., Steinhauer, N., Rennich, K., Caron, D. M., Sagili, R. R., Pettis, J. S., ... & vanEngelsdorp, D. (2017). A national survey of managed honey bee 2015–2016 annual colony losses in the USA. *Journal of Apicultural Research*, *56*(4), 328-340.
- Laidlaw, H.H., & Page, R.E. (1997). *Queen Rearing and Bee Breeding*. Wicwas Press, Cheshire, CT.
- Le Conte, Y., Mohammedi, A., & Robinson, G. E. (2001). Primer effects of a brood pheromone on honeybee behavioural development. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, *268*(1463), 163-168.
- Lee, K., Steinhauer, N., Rennich, K., & Lengerich, E. (2015). A national survey of managed honey bee 2013–2014 annual colony losses in the USA. *Apidologie*, *292*-305.
- Levesque, M., Rousseau, A., & Giovenazzo, P. (2023). Impacts of indoor mass storage of two densities of honey bee queens (*Apis mellifera*) during winter on queen survival, reproductive quality and colony performance. *Journal of Apicultural Research*, *62*(2), 274-286.
- Li, H., & Zhang, S. (2017). Functions of vitellogenin in eggs. *Oocytes: maternal information and functions*, 389-401.
- Liao, C. H., He, X. J., Wang, Z. L., Barron, A. B., Zhang, B., Zeng, Z. J., & Wu, X. B. (2018). Short-term exposure to lambda-cyhalothrin negatively affects the survival and memory-related characteristics of worker bees *Apis mellifera*. *Archives of environmental contamination and toxicology*, *75*, 59-65.
- Liu, T. P. (1992). Oöcytes degeneration in the queen honey bee after infection by *Nosema apis*. *Tissue and Cell*, *24*(1), 131-138.
- Lodesani, M., Balduzzi, D., & Galli, A. (2004). Functional characterisation of semen in honeybee queen (*Am ligustica* S.) spermatheca and efficiency of the diluted semen technique in instrumental insemination. *Italian Journal of Animal Science*, *3*(4), 385-392.
- Loper, G. M., Wolf, W. W., & Taylor, O. R. (1993). Radar detection of drones responding to honeybee queen pheromone. *Journal of chemical ecology*, *19*, 1929-1938.
- Łopuch, S., & Tofilski, A. (2021). The effect of a lack of uncapped brood on social interactions between honey bee workers and the queen. *Apidologie*, *52*(6), 1346-1357.
- Makki, R., Cinnamon, E., & Gould, A. P. (2014). The development and functions of oenocytes. *Annual review of entomology*, *59*, 405-425.
- Martinez, O. A., & Soares, A. E. E. (2012). Melhoramento genético na apicultura comercial para produção da própolis. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, *13*, 982-990.
- Matheson, A. (1993). World bee health report. *Bee world*, *74*(4), 176-212.
- Mattiello, S., Rizzi, R., Cattaneo, M., Martino, P. A., & Mortarino, M. (2022). Effect of queen cell size on morphometric characteristics of queen honey bees (*Apis mellifera ligustica*). *Italian Journal of Animal Science*, *21*(1), 532-538.
- McAfee, A., Milone, J. P., Metz, B., McDermott, E., Foster, L. J., & Tarpy, D. R. (2021). Honey bee queen health is unaffected by contact exposure to pesticides commonly found in beeswax. *Scientific Reports*, *11*(1), 15151.

- Meixner, M. D. (2010). A historical review of managed honey bee populations in Europe and the United States and the factors that may affect them. *Journal of invertebrate pathology*, *103*, S80-S95.
- Moore, P. A., Wilson, M. E., & Skinner, J. A. (2015). Honey bee queens: evaluating the most important colony member. *Bee Health*, *7*(10).
- Moritz, R. F., & Kühnert, M. (1984). Seasonal effects on artificial insemination of honeybee queens (*Apis mellifera* L.). *Apidologie*, *15*(2), 223-231.
- Naumann, K., Winston, M. L., Slessor, K. N., Prestwich, G. D., & Webster, F. X. (1991). Production and transmission of honey bee queen (*Apis mellifera* L.) mandibular gland pheromone. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, *29*, 321-332.
- Njeru, L. K., Raina, S. K., Kutima, H. L., Salifu, D., Cham, D. T., Kimani, J. N. A. A., & Muli, E. M. (2017). Effect of larval age and supplemental feeding on morphometrics and oviposition in honey bee *Apis mellifera* scutellata queens. *Journal of Apicultural Research*, *56*(3), 183-189.
- Otis, G. W., Wheeler, D. E., Buck, N., & Mattila, H. R. (2004). Storage proteins in winter honey bees. *Apiacata*, *38*, 352-357.
- Page Jr, R. E., & Peng, C. Y. S. (2001). Aging and development in social insects with emphasis on the honey bee, *Apis mellifera* L. *Experimental gerontology*, *36*(4-6), 695-711.
- Paynter, E., Millar, A. H., Welch, M., Baer-Imhoof, B., Cao, D., & Baer, B. (2017). Insights into the molecular basis of long-term storage and survival of sperm in the honeybee (*Apis mellifera*). *Scientific Reports*, *7*(1), 40236.
- Pattamayutanon, P., Peng, C. C., Sinpoo, C., & Chantawannakul, P. (2018). Effects of pollen feeding on quality of royal jelly. *Journal of economic entomology*, *111*(6), 2974-2978.
- Pereira, F. W., Goncalves, R. B., & Ramos, K. D. S. (2021). Bee surveys in Brazil in the last six decades: a review and scientometrics. *Apidologie*, *52*(6), 1152-1168.
- Pettis, J S, (2013) Influence of pathogens and agro-chemicals on honey bee longevity and social behaviour. Proceedings of the XXXIII International Apicultural Congress, Kiev, Ukraine, 29 October - 3 November 2013
- Pinheiro, L.R.U., SILVA, G.S. Cartografia histórica e conceitual da bibliometria /cientometria no Brasil. In: Conferência Ibero-Americana de publicações eletrônicas no contexto da publicação científica, Rio de Janeiro, 2008. Disponível em: <http://ridi.ibict.br/bitstream/123456789/67/1/PinheiroCIPECC.pdf> Acessado em 17 de janeiro de 2024.
- Prešern, J., & Smodiš Škerl, M. I. (2019). Parameters influencing queen body mass and their importance as determined by machine learning in honey bees (*Apis mellifera* carnica). *Apidologie*, *50*(5), 745-757.
- Pritsch, G., & Bienefeld, K. (2002). Comparison of performance of bee colonies with naturally mated and artificially inseminated queens (*Am carnica*). *Apidologie*, *33*, 513.
- Prodělalová, J., Moutelíková, R., & Titěra, D. (2019). Multiple virus infections in western honeybee (*Apis mellifera* L.) ejaculate used for instrumental insemination. *Viruses*, *11*(4), 306.
- Randolt, K., Gimple, O., Geissendörfer, J., Reinders, J., Prusko, C., Mueller, M. J., ... & Beier, H. (2008). Immune-related proteins induced in the hemolymph after aseptic and septic injury differ in honey bee worker larvae and adults. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology: Published in Collaboration with the Entomological Society of America*, *69*(4), 155-167.
- Rangel, J., Keller, J. J., & Tarpy, D. R. (2013). The effects of honey bee (*Apis mellifera* L.) queen reproductive potential on colony growth. *Insectes sociaux*, *60*, 65-73.

- Reid, M. (1975). Storage of queen honeybees. *Bee World*, 56(1), 21-31.
- Rhodes, J. W., Somerville, D. C., & Harden, S. (2004). Queen honey bee introduction and early survival—effects of queen age at introduction. *Apidologie*, 35(4), 383-388.
- Ricke, D. F., Lin, C. H., & Johnson, R. M. (2021). Pollen treated with a combination of agrochemicals commonly applied during almond bloom reduces the emergence rate and longevity of honey bee (Hymenoptera: Apidae) queens. *Journal of Insect Science*, 21(6), 5.
- Roach, D. A., & Wulff, R. D. (1987). Maternal effects in plants. *Annual review of ecology and systematics*, 18(1), 209-235.
- Ronai, I., Oldroyd, B. P., & Vergoz, V. (2016). Queen pheromone regulates programmed cell death in the honey bee worker ovary. *Insect molecular biology*, 25(5), 646-652.
- Rousseau, A., Fournier, V., & Giovenazzo, P. (2015). *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) drone sperm quality in relation to age, genetic line, and time of breeding. *The Canadian Entomologist*, 147(6), 702-711.
- Ruttner, F. (1954). Mehrfache begattung der bienenkönigin. *Zool. Anz*, 153(5/6), 99-105.
- Salmela, H., Amdam, G. V., & Freitak, D. (2015). Transfer of immunity from mother to offspring is mediated via egg-yolk protein vitellogenin. *PLoS pathogens*, 11(7), e1005015.
- Schlüns, H., Moritz, R. F., Neumann, P., Kryger, P., & Koeniger, G. (2005). Multiple nuptial flights, sperm transfer and the evolution of extreme polyandry in honeybee queens. *Animal behaviour*, 70(1), 125-131.
- Şenel, E., & Demir, E. (2018). Bibliometric analysis of apitherapy in complementary medicine literature between 1980 and 2016. *Complementary therapies in clinical practice*, 31, 47-52.
- Seehuus, S. C., Norberg, K., Gimsa, U., Krekling, T., & Amdam, G. V. (2006). Reproductive protein protects functionally sterile honey bee workers from oxidative stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(4), 962-967.
- Seely, T. D. (1979). Queen substance dispersal by messenger workers in honeybee colonies. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 5, 391-415.
- Severson, D. W., & Erickson Jr, E. H. (1989). Seasonal constraints on mating and insemination of queen honey bees in a continental climate. *Apidologie*, 20(1), 21-27.
- Shawer, M. B., Elnabawy, E. M., Mousa, K. M., Gaber, S., & Ueno, T. (2020). Impact of different comb age on morphological and biological characteristics of honeybee workers (*Apis Mellifera* L.).
- Shawer, M. B., Taha, E. K. A., Mousa, K. M., Khan, K. A., Ibrahim, S., Hassan, S., & Elnabawy, E. S. M. (2021). Seasonal variations of colony activities linked to morphometric and glands characterizations of hybrid Carniolan honey bee (*Apis mellifera carnica* Pollmann) workers. *Journal of King Saud University-Science*, 33(6), 101543.
- Shi, Y. Y., Huang, Z. Y., Zeng, Z. J., Wang, Z. L., Wu, X. B., & Yan, W. Y. (2011). Diet and cell size both affect queen-worker differentiation through DNA methylation in honey bees (*Apis mellifera*, Apidae). *PloS one*, 6(4), e18808.
- Shimanuki, H. (1967). Brood diseases of honey bees. *SE McGregor et al. Beekeeping in the United States. Agric. Res. Serv. USDA, Agric. Handb*, 335, 86-92.
- Shin, S. W., Kokoza, V. A., & Raikhel, A. S. (2003). Transgenesis and reverse genetics of mosquito innate immunity. *Journal of Experimental Biology*, 206(21), 3835-3843.
- Silva, E.C.A.; Alves, M.L.T.M.F.; Silva, R.M.B.; Moreti, A.C.C.C. 1991. Longevidade de rainhas de abelhas africanas neotropicais (*Apis melífera* L). *Boletim de Indústria Animal*, 48: 57-62

- Simeunovic, P., Stevanovic, J., Cirkovic, D., Radojicic, S., Lakic, N., Stanisic, L., & Stanimirovic, Z. (2014). Nosema ceranae and queen age influence the reproduction and productivity of the honey bee colony. *Journal of Apicultural Research*, 53(5), 545-554.
- Simone-Finstrom, M., & Tarpy, D. R. (2018). Honey bee queens do not count mates to assess their mating success. *Journal of Insect Behavior*, 31, 200-209.
- Simon-Delso, N., Amaral-Rogers, V., Belzunces, L. P., Bonmatin, J. M., Chagnon, M., Downs, C., ... & Wiemers, M. (2015). Systemic insecticides (neonicotinoids and fipronil): trends, uses, mode of action and metabolites. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 5-34.
- Šimúth, J. (2001). Some properties of the main protein of honeybee (*Apis mellifera*) royal jelly. *Apidologie*, 32(1), 69-80.
- Slessor, K. N., Winston, M. L., & Le Conte, Y. (2005). Pheromone communication in the honeybee (*Apis mellifera* L.). *Journal of chemical ecology*, 31, 2731-2745.
- Soares Dutra, R. M., & Oliveira Souza, M. M. (2017). Agroextrativismo e geopolítica da natureza: alternativa para o Cerrado na perspectiva analítica da cienciometria. *Revista Ateliê Geográfico*, 11(3).
- Sokol, R. (1996). The influence of a multimonth persistence of Fluwarol in flahive of a honey bee colony. *Medycyna Weterynaryjna*, 52, 718-720.
- Sousa, A. R. S., Santana, E., Guedes, T. J. L., & Araújo, E. D. (2023). Bee glue scientometrics and therapeutics: phytochemical screening, methodological trends and prospects. *Journal of Apicultural Research*, 62(1), 148-161.
- Spinak, E. (1996). *Diccionario enciclopédico de bibliometría, cienciometría e informetría* (p. 245). Caracas: Unesco.
- Spinak, E. (1998). Indicadores cienciométricos. *Ciência da informação*, 27, 143.
- St Clair, A. L., Suresh, S., & Dolezal, A. G. (2022). Access to prairie pollen affects honey bee queen fecundity in the field and lab. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 6, 908667.
- Stanley, D. W., & Miller, J. S. (2006). Eicosanoid actions in insect cellular immune functions. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 119(1), 1-13.
- Strauss, K., Scharpenberg, H., Crewe, R. M., Glahn, F., Foth, H., & Moritz, R. F. (2008). The role of the queen mandibular gland pheromone in honeybees (*Apis mellifera*): honest signal or suppressive agent?. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 62, 1523-1531.
- Taha, E. K. A., Manosur, H. M., & Shower, M. B. (2010). The relationship between comb age and the amounts of mineral elements in honey and wax. *Journal of Apicultural Research*, 49(2), 202-207.
- Taha, E. K. A., Rakha, O. M., Elnabawy, E. S. M., Hassan, M. M., & Shower, D. M. (2021). Comb age significantly influences the productivity of the honeybee (*Apis mellifera*) colony. *Journal of King Saud University-Science*, 33(4), 101436.
- Tanaka, E. D., & Hartfelder, K. (2004). The initial stages of oogenesis and their relation to differential fertility in the honey bee (*Apis mellifera*) castes. *Arthropod Structure & Development*, 33(4), 431-442.
- Tanaka, É. D., Capella, I. C. S., & Hartfelder, K. (2017). Cell death in the germline—mechanisms and consequences for reproductive plasticity in social bees. *Journal of Morphological Sciences*, 23(1), 0-0.
- Tarpy, D. R., & Fletcher, D. J. (2003). “Spraying” behavior during queen competition in honey bees. *Journal of insect behavior*, 16, 425-437.
- Tarpy, D. R., & Mayer, M. K. (2009). The effects of size and reproductive quality on the outcomes of duels between honey bee queens (*Apis mellifera* L.). *Ethology Ecology & Evolution*, 21(2), 147-153.

- Tarpy, D. R., & Page, Jr, R. E. (2000). No behavioral control over mating frequency in queen honey bees (*Apis mellifera* L.): implications for the evolution of extreme polyandry. *The American Naturalist*, *155*(6), 820-827.
- Tarpy, D. R., Hatch, S., & Fletcher, D. J. (2000). The influence of queen age and quality during queen replacement in honeybee colonies. *Animal behaviour*, *59*(1), 97-101.
- Tarpy, D. R., Keller, J. J., Caren, J. R., & Delaney, D. A. (2012). Assessing the mating 'health' of commercial honey bee queens. *Journal of economic entomology*, *105*(1), 20-25.
- Tibor, Szabo, I., Mills, P. F., & Heikel, D. T. (1987). Effects of honeybee queen weight and air temperature on the initiation of oviposition. *Journal of Apicultural Research*, *26*(2), 73-78.
- Torres, J. (1980). A stereological analysis of developing egg chambers in the honeybee queen, *Apis mellifera*. *Cell and Tissue Research*, *208*, 29-33.
- Traver, B. E., & Fell, R. D. (2012). Low natural levels of *Nosema ceranae* in *Apis mellifera* queens. *Journal of Invertebrate Pathology*, *110*(3), 408-410.
- Traynor, K. S., & Lamas, Z. S. (2021). Social disruption: Sublethal pesticides in pollen lead to *Apis mellifera* queen events and brood loss. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *214*, 112105.
- Underwood, R. M., & Currie, R. W. (2008). Indoor winter fumigation with formic acid does not have a long-term impact on honey bee (Hymenoptera: Apidae) queen performance. *Journal of apicultural research*, *47*(2), 108-112.
- Van Praagh, J. P., Brauße, J., & Titera, D. (2014). mixing and storing large volumes of honeybee (*Apis mellifera mellifera*) sperm integrated in breeding program. *Proc. Neth. Entomol. Soc. Meet*, *25*, 39-45.
- Wade, A., Lin, C. H., Kurkul, C., Regan, E. R., & Johnson, R. M. (2019). Combined toxicity of insecticides and fungicides applied to California almond orchards to honey bee larvae and adults. *Insects*, *10*(1), 20.
- Wallner, K. (1999). Varroacides and their residues in bee products. *Apidologie*, *30*(2-3), 235-248.
- Walsh, E. M., Khan, O., Grunseich, J., Helms, A. M., Nancy, H., & Rangel, J. (2021). Pesticide exposure during development does not affect the larval pheromones, feeding rates, or morphology of adult honey bee (*Apis mellifera*) queens. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 343.
- Walsh, E. M., Sweet, S., Knap, A., Ing, N., & Rangel, J. (2020). Queen honey bee (*Apis mellifera*) pheromone and reproductive behavior are affected by pesticide exposure during development. *Behavioral ecology and sociobiology*, *74*, 1-14.
- Wang, D. I., & Moeller, F. E. (1969). Histological comparisons of the development of hypopharyngeal glands in healthy and *Nosema*-infected worker honey bees. *Journal of Invertebrate pathology*, *14*(2), 135-142.
- Wang, D. I., & Moeller, F. E. (1971). Ultrastructural changes in the hypopharyngeal glands of worker honey bees infected by *Nosema apis*. *Journal of Invertebrate Pathology*, *17*(3), 308-320.
- Wang, Y., Jorda, M., Jones, P. L., Maleszka, R., Ling, X., Robertson, H. M., ... & Robinson, G. E. (2006). Functional CpG methylation system in a social insect. *Science*, *314*(5799), 645-647.
- Wanner, K. W., Nichols, A. S., Walden, K. K., Brockmann, A., Luetje, C. W., & Robertson, H. M. (2007). A honey bee odorant receptor for the queen substance 9-oxo-2-decenoic acid. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *104*(36), 14383-14388.

- Watson, L. R. (1928). Controlled mating in honeybees. *The Quarterly Review of Biology*, 3(3), 377-390.
- Webster, T. C., Thacker, E. M., Pomper, K., Lowe, J., & Hunt, G. (2008). Nosema apis infection in honey bee (*Apis mellifera*) queens. *Journal of apicultural research*, 47(1), 53-57.
- Wei, H., He, X. J., Liao, C. H., Wu, X. B., Jiang, W. J., Zhang, B., ... & Zeng, Z. J. (2019). A maternal effect on queen production in honeybees. *Current Biology*, 29(13), 2208-2213.
- Woyke, J. (1960). Naturalne i sztuczne unasienianie matek pszczelich. *Pszczelnicze Zeszyty Naukowe*, 4(3/4), 183-275.
- Woyke, J. (1971). Correlations between the age at which honeybee brood was grafted, characteristics of the resultant queens, and results of insemination. *Journal of Apicultural Research*, 10(1), 45-55.
- Woyke, J., & Jasinski, Z. (1978). Influence of age of drones on the results of instrumental insemination of honeybee queens. *Apidologie*, 9(3), 203-212.
- Wright, G. A., Nicolson, S. W., & Shafir, S. (2018). Nutritional physiology and ecology of honey bees. *Annual review of entomology*, 63, 327-344.
- Wu, X., Zhou, L., Zou, C., & Zeng, Z. (2018). Effects of Queen Cell Size and Caging Days of Mother Queen on Rearing Young Honey Bee Queens L. *Journal of Apicultural Science*, 62(2), 215-222.
- Wu-Smart, J., & Spivak, M. (2016). Sub-lethal effects of dietary neonicotinoid insecticide exposure on honey bee queen fecundity and colony development. *Scientific reports*, 6(1), 32108.
- Yu, L., He, X., Shi, X., Yan, W., & Wu, X. (2023). Honey bee maternal effects improve worker performance and reproductive ability in offspring. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 11, 1156923.

II. OBJETIVOS GERAIS

Explorar e analisar de forma abrangente os registros publicados na área de pesquisa com abelhas rainhas da espécie *Apis mellifera* no banco de dados Web of Science (WoS), fornecendo descrições detalhadas e insights sobre aspectos cruciais como a identificação de tendências de pesquisa, contribuições de diferentes países, instituições dos autores e, mapeamento de colaborações entre estes, análise dos trabalhos mais citados e destaque das principais agências de financiamento mencionadas nos documentos publicados.

Avaliar parâmetros quantitativos identificados na análise cienciométrica (peso da rainha, peso dos ovários e número de ovariolos por ovário), em abelhas rainhas descartadas por motivos como baixa produção de mel na safra, falhas na postura, colônias fracas ou por coleta de enxames, provenientes de apiários comerciais localizados nos municípios de Jupiá, São Lourenço do Oeste e Novo Horizonte, do estado de Santa Catarina- Brasil.

III. Parâmetros de avaliação qualitativa de abelhas rainhas *Apis mellifera*: uma revisão cienciométrica

(Journal of Apicultural Research - JAR)

Resumo

A pesquisa científica sobre abelhas rainhas da espécie *Apis mellifera* cresceu substancialmente nas últimas décadas, por um lado devido a necessidade dos apicultores de trocar anualmente a rainha e, por outro lado como tentativa de minimizar a perda de colônias reportada a nível global. Com este estudo, objetivamos realizar uma análise cienciométrica da pesquisa sobre qualidade de abelhas rainhas de 1973 até 2023. Com base em 43 palavras relacionadas a características de qualidade da rainha, o estudo recuperou 1091 documentos da base de dados Web of Science que, após refinamento resultaram em 278 documentos para análise. O país que mais pesquisou sobre qualidade de rainhas foram os Estados Unidos, com a North Carolina State University como a principal instituição e o David Tarpy que faz parte desta universidade como o autor com maior número de pesquisas publicadas. Por outro lado, a área que mais se interessou neste tipo de pesquisa foi a entomologia com a revista *Apidologie* liderando o ranking. Finalmente foram identificados *hot spots* relacionados com a evolução da abelha, armazenamento de espermatozoides na espermateca e expressão gênica. Esses resultados fornecem uma referência para pesquisadores e permitem identificar lacunas sobre a pesquisa com abelhas rainhas.

Palavras-chave: cienciométrica, Citespace, insights, perda de colônias, qualidade da rainha, Web Of Science

Abstract

Scientific research on *Apis mellifera* queen bees has grown substantially in recent decades, partly due to beekeepers' need to annually replace the queen and partly as an attempt to minimize colony losses reported globally. In this study, we aimed to conduct a scientometric analysis of research on queen bee quality from 1973 to 2023. Based on 43 keywords related to queen quality traits, the study retrieved 1,091 documents from the Web of Science database, which, after refinement, resulted in 278 documents for analysis. The country with the highest number of studies on queen quality was the United States, with North Carolina State University as the leading institution, and David Tarpy, affiliated with this university, as the author with the most published research. On the other hand, the field most interested in this type of research was entomology, with the journal “Apidologie” leading the ranking. Finally, hot spots related to bee evolution, sperm storage in the spermatheca, and gene expression were identified. These results provide a reference for researchers and help identify gaps in the study of queen bees.

Key-words: Citespace, colony loss, insights, scientometric analysis, quality of queen bee, Web Of Science

Introdução

A qualidade da abelha rainha está diretamente relacionada com a produtividade da colônia (Hauser & Lensky, 1994; Levesque et al., 2023). Por isto, ao longo do tempo, características morfométricas, fisiológicas, reprodutivas e genéticas destas rainhas têm sido avaliadas com a finalidade de entender e melhorar seu desempenho e, para gerar programas de seleção e melhoramento genético que favoreçam o desenvolvimento da apicultura.

Inicialmente, características como: tamanho da realeira, peso úmido, largura e comprimento do tórax, largura e comprimento da asa e volume do saco de veneno foram consideradas na avaliação das rainhas (Tarpy et al., 2000; Mattiello et al., 2022). Posteriormente, a idade da larva transferida na criação de rainhas e número de ovariólos por ovário, foram adicionadas, revelando que, apenas a transferência de larvas de primeiro e segundo ínstar resultaria na emergência de rainhas com alto número de ovariólos e, portanto, alta fecundidade (Dedej et al., 1998).

Existem outras características que tornariam uma rainha reprodutivamente superior como (1) o tamanho dos ovários, indicando mais ovariólos por ovário e/ou ovariólos mais longos; (2) tamanho da espermateca, isso porque espermatecas grandes permitem maior armazenamento de espermatozoides e, portanto, maior longevidade da rainha fértil. (3) viabilidade espermática e proporção de espermatozoides vivos e mortos e (4) metabolismo mais eficiente, o que permitiria uma maior taxa de assimilação de alimento e uma maior taxa de produção de ovócitos por ovariolo (Collins, 2000; Tarpy et al., 2000; Berger et al., 2016; Gąbka, 2022). Todos esses fatores supracitados podem ser medidos direta ou indiretamente por meio do peso e do tamanho corporal da rainha (Delaney et al., 2011).

Por outro lado, avaliações a campo tem considerado variáveis como área de cria com larvas de todas as idades, percentagem de operárias vs. zangões, área de cria operculada, número de alvéolos vazios e resistência a doenças, parasitas e agrotóxicos para medir o desempenho da rainha (Collins, 2004; Walsh et al., 2021).

Devido ao rápido crescimento do setor apícola e ao aumento das pesquisas em abelhas, o estudo do comportamento das pesquisas globais sobre qualidade das abelhas rainhas, por meio de uma abordagem cienciométrica utilizando o Web of Science, é

necessário para compreender e analisar de forma sistemática a evolução, as tendências e os padrões da pesquisa acadêmica sobre o assunto (Chen, 2014).

No que se refere a abelhas, tem sido publicadas análises cienciométricas que relacionam a contaminação por pesticidas e, o declínio da população de abelhas observado nos últimos anos (Abati et al., 2021). Também os métodos de amostragem preferidos nas práticas de identificação de espécies (Pereira, Gonçalves e Ramos, 2021). Usos e efeitos da própolis, para uso em farmacologia e terapêutica experimental (Sousa et al., 2023). Além do levantamento dos tipos de pólen descritos no Brasil (Souza, Abreu e Novais, 2019). E o uso médico de produtos das abelhas- Apiterapia (Şenel e Demir, 2018). No entanto, não existem documentos cienciométricos publicados que estudem a qualidade das abelhas rainhas.

Dessa forma, o presente artigo propõe-se explorar e analisar de forma abrangente a área de pesquisa com abelhas rainhas no banco de dados Web of Science (WoS) fornecendo descrições detalhadas e insights sobre aspectos cruciais como a identificação de tendências de pesquisa, contribuições de diferentes países, instituições e autores, mapeamento de colaborações entre países e autores, análise dos trabalhos mais citados e destaque das principais agências de financiamento mencionadas nos documentos publicados.

Material e métodos

Coleta e processamento de dados

A fonte de recuperação de artigos para a análise foi a Coleção Principal do Web of Science (WoS). Os termos de busca foram os seguintes: TS (Topic Search) = (queen* AND Apis mellifera * AND (“commercial honey bee*” OR “apiculture industry*” OR “aging” OR “egg production” OR “fertilized eggs” OR “hatching” OR “honey bee breeding” OR “juvenile hormone” OR “longevity” OR “morphological attributes” OR “number of eggs

laid” OR “oocyte” OR “oogenesis” OR “ovariole number” OR “ovary” OR “ovary activation” OR “ovary size” OR “physogastric queens” OR “protein vitellogenin” OR “queen age at introduction” OR “queen bee rearing” OR “queen failure” OR “queen fitness” OR “queen health” OR “queen performance” OR “queen physical characteristics” OR “queen quality” OR “queen replacement” OR “queen success” OR “queen longevity” OR “senescence” OR “sperm storage” OR “trophocyte” OR “vitellin” OR “vitellogenin” OR “wet weight” OR “wing length” OR “size” OR “thorax” OR “spermatheca”)) NOT (Title) worker* NOT (Title) ant* NOT (Title) Drosophila.

Para o levantamento dos dados foram incluídas todas as publicações sobre qualidade de abelhas rainhas desde 1973 (ano do primeiro registro de publicação na plataforma WoS) até 2023. No total, foram recuperados 1091 registros. Após essa primeira busca, foi realizado um *screening* em que 327 registros foram removidos por estarem duplicados, por títulos que não concordam com a pesquisa ou por terem sido realizados em outras espécies e não em abelhas. O segundo refinamento, consistiu em ler detalhadamente o resumo e, em algumas ocasiões a metodologia de cada artigo para identificar se realmente era uma pesquisa sobre qualidade de abelhas rainhas. Assim, foram removidos 477 registros que avaliaram características em operárias, variáveis reprodutivas em zangões ou diferença no desenvolvimento das castas, e foram incluídos os artigos que avaliassem características morfométricas, produtivas, reprodutivas ou moleculares nos diferentes estágios larvais, pupas ou na idade adulta das rainhas *Apis mellifera*. Posteriormente, dos 287 registros selecionados, foram identificados oito, que após leitura completa do texto não avaliaram características da rainha em si. Finalmente, um total de 278 registros, incluindo títulos, resumos e referências citadas, foram exportados para o CiteSpace para análise subsequente (Figura 1).

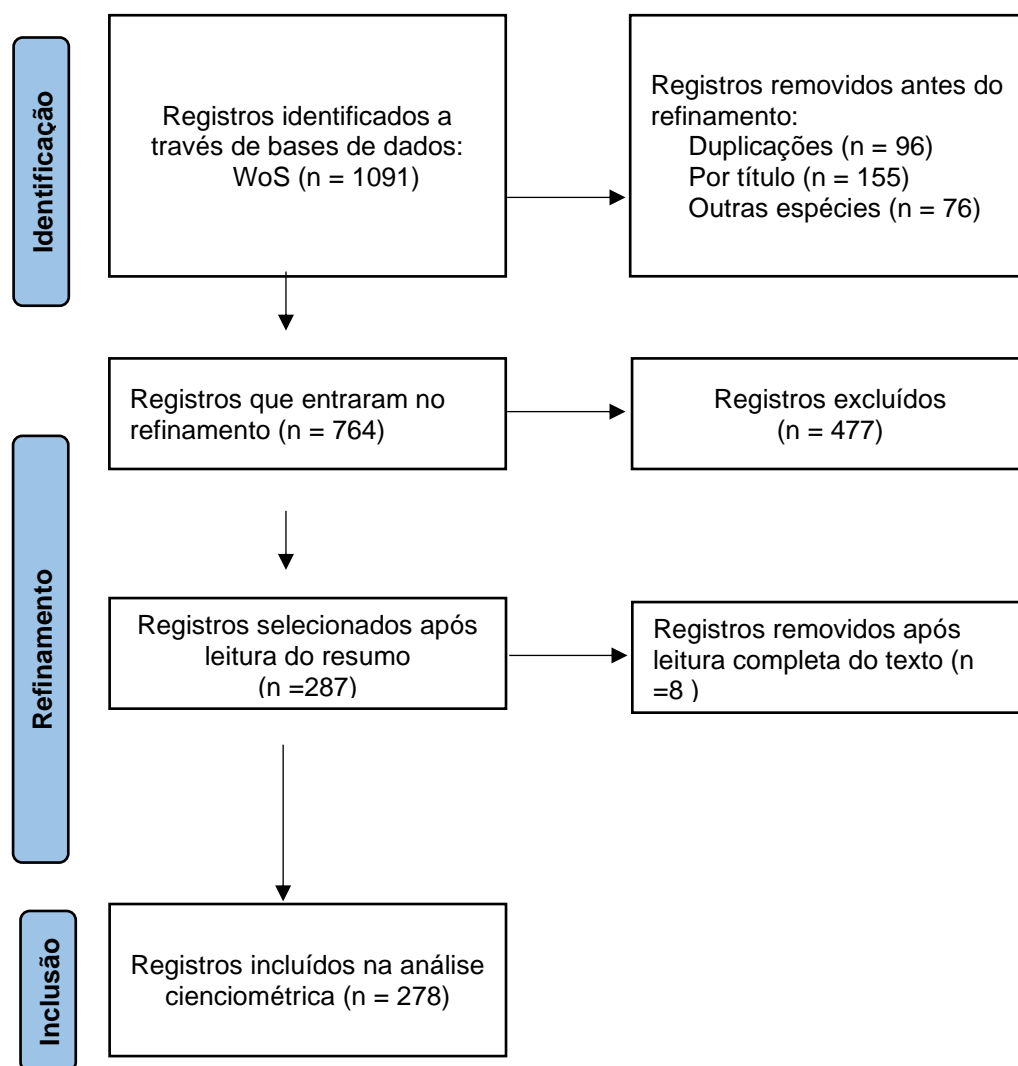


Figura 1. Fluxograma do prisma, mostrando o fluxo de obtenção dos registros sobre qualidade de abelhas rainhas.

Métodos de análise cienciométrica

O CiteSpace é um software de visualização científica baseado no Java, foi desenvolvido pelo Dr. Chaomei Chen em 2006, e tem por objetivo analisar e visualizar redes de modelagem que exploram a paisagem intelectual de uma área de conhecimento. Desse modo, este recurso ajuda a discernir quais perguntas os investigadores têm tentado responder e, quais os métodos e as ferramentas que eles desenvolveram para atingir seus objetivos. Neste estudo, foram rodadas e analisadas redes para identificar os tópicos atuais

da pesquisa sobre a qualidade de abelhas rainhas, os países com maior número de publicações e a cooperação entre eles, as instituições que executam as pesquisas, as áreas de pesquisa que se interessam pela qualidade das rainhas, as revistas que publicam sobre o assunto, os autores com mais registros publicados, as palavras-chave que definem os *hotspot*, os artigos com maior índice de citação e as principais agências financiadoras.

Ao visualizar os mapas, um nó representa um item como uma palavra-chave, revista ou referência. Além disso, os links descrevem a cocitação ou co-ocorrência entre esses nós. Cada nó é representado com uma série de anéis de cores diferentes, onde o azul indica o mais antigo e o amarelo indica o mais recente. O CiteSpace também torna mais fácil identificar pontos cruciais reconhecendo os nós com alta centralidade de intermediação (Freeman, 1977). Pontos cruciais são destacados com um anel roxo em uma rede visualizada e os círculos vermelhos em alguns mapas representam o citation burst.

Construção de mapas

Para visualizar melhor a distribuição do número de publicações que foram realizadas nos diferentes países, foi gerado um mapa om o pacote ggplot do Software R versão 4.2.3 (R Core Team, 2023) com o número de registros por país e distribuído por cores segundo a quantidade publicada. Sendo assim, a cor roxa foi usada para países com mais de cem documentos publicados, a azul escuro para países com 20 a 25 documentos publicados, a azul marinho para países com 15 a 20 documentos publicados, a verde para países com 10 a 15 documentos, a cor amarelo para países com 5 a 10 documentos e, a cor rosa para países com menos de 5 documentos publicados segundo o registro do Web of Science.

Resultados e Discussão

Características das publicações

Na Figura 2 são apresentados os resultados do número e do tipo de publicações registradas anualmente entre 1973 e 2023. O número total de publicações no Web of Science no período avaliado (1973 a 2023) foi de 278, passou de um registro em 1973 para 18 registros em 2023, e foram categorizadas em quatro tipos de documentos (artigo, revisão, capítulo de livro e early access). Os artigos são o tipo de publicação dominante, compreendendo 93,53% do total de publicações, seguidos por revisões com 6,48%, early access com 1,08% e capítulos de livro com 0,36%.

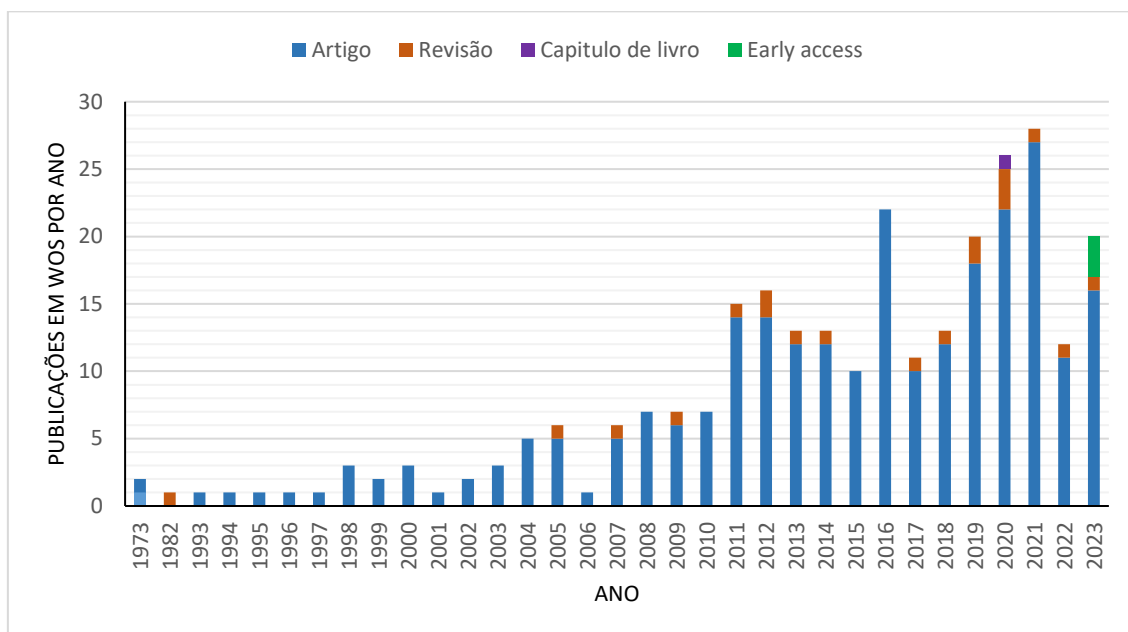


Figura 2. Número e tipo de publicações registradas anualmente entre 1973 e 2023.

Conforme podemos ver na Figura 3, uma linha crescente descreve o número acumulado anual de artigos de 1973 a 2023, pois aumentaram de um registro em 1973 para 278 registros em 2023. O número acumulado de artigos publicados em 2023 (278) foi aproximadamente três vezes maior do que em 2013 (104) e aproximadamente 13 vezes maior que em 2003 (21).

Em relação ao número de citações anuais, pode-se observar um crescimento contínuo que começa com uma citação no ano de 1993, aumenta a 989 citações no ano de 2021, ano com maior número de citações e, decresce no ano de 2022 com 661 registros (Figura

4). Posteriormente, para o ano de 2023, o número de publicações aumentou em 100 citações (Figura 4). Sendo assim, o banco de dados recebeu 6979 citações, uma média de 25,1 citações por item. Além disso, o índice H foi igual a 44, ou seja, existem 44 artigos que foram citados pelo menos 44 vezes.

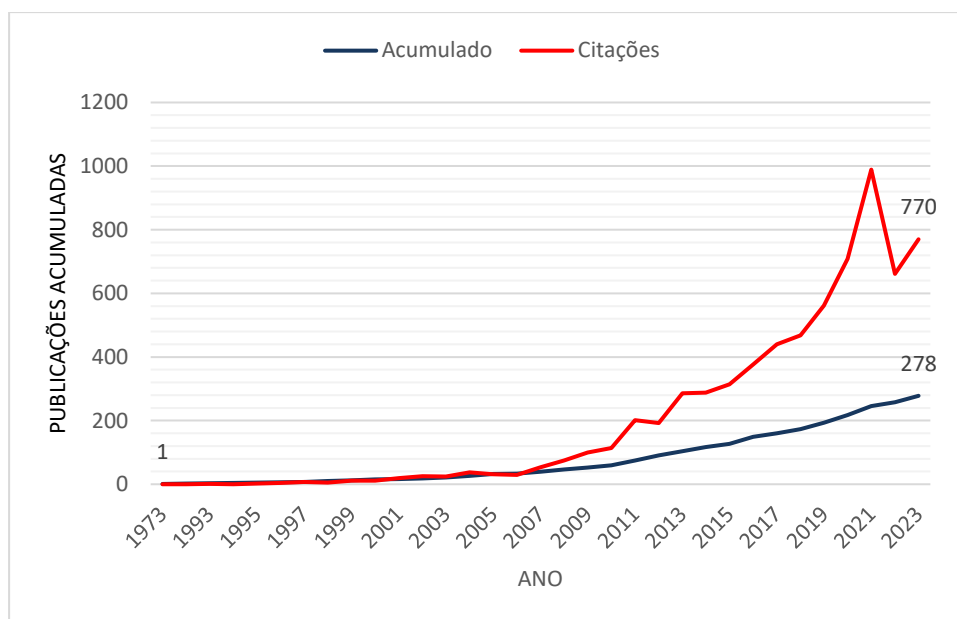


Figura 3. Produção científica sobre qualidade de abelhas rainhas. A linha vermelha representa o número de citações dos artigos publicados por ano e a linha azul o número acumulado de publicações.

Na sequência, pode-se destacar que os artigos foram publicados em três idiomas diferentes, 276 em inglês, um em alemão e um em Turco. O primeiro artigo identificado foi “An ionic basis for a possible mechanism of sperm survival in spermatheca of queen honey bee (*Apis-mellifera* L)” publicado na revista *Comparative biochemistry and physiology*” (Verma, 1973). Neste artigo, foram analisadas as concentrações iônicas do sêmen, hemolinfa e líquido espermático. Para o autor, os íons sódio e potássio estão mais concentrados no fluido da espermateca em comparação com os outros fluidos. Dessa forma, Verma verificou que a espermateca é um órgão separado com íons

diferentes a hemolinfa e, concluiu que as concentrações de cálcio e magnésio foram maiores na hemolinfa da rainha em comparação com o zangão.

Análise de cooperação entre países

Os dados dos países foram avaliados no período de 1994 a 2023. Os resultados demonstram que 57 países participam das pesquisas publicadas, a maioria, localizados na Ásia (China, Japão, Tailândia e Taiwan), na América do Norte (EUA e Canadá), na Europa (Polônia, Alemanha, França e Espanha) e na América do Sul (Brasil e Argentina). Observando-se a Figura 4, a cor de cada país no mapa representa o número de publicações. Os EUA, a Alemanha, a China, a Austrália e o Brasil compõem o top 5 com 108, 25, 25, 22 e 21 registros, respectivamente.

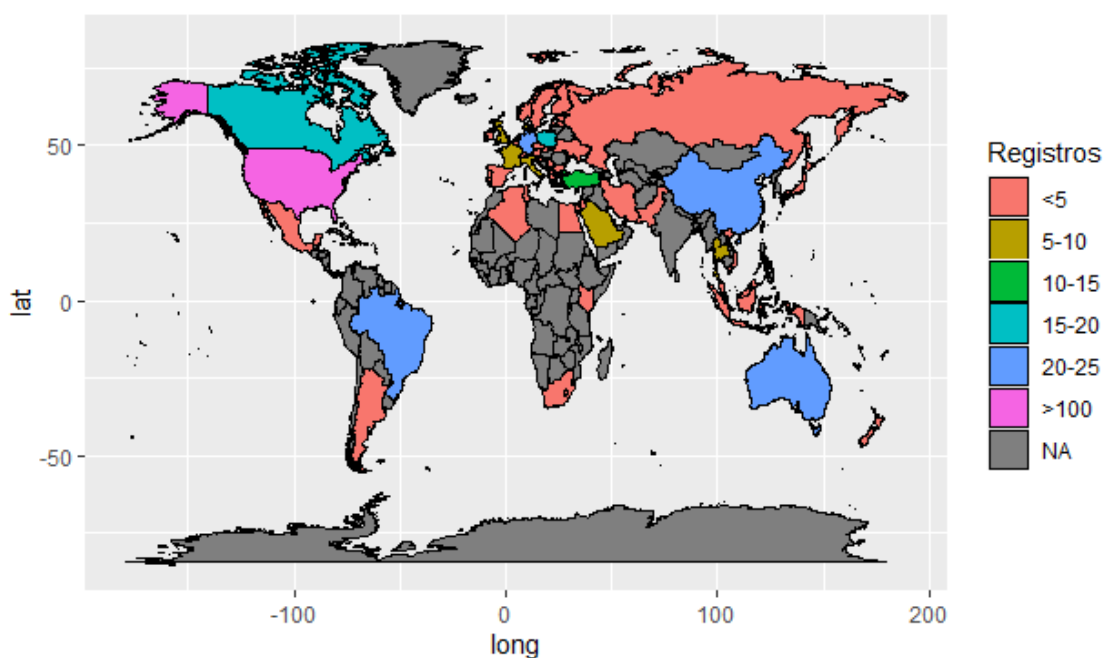


Figura 4. Países que publicam sobre qualidade de abelhas rainhas. Este mapa foi construído pela autora deste estudo usando o software R.

Os serviços de polinização por abelhas *Apis* foram estimados entre 11,68 e 19 bilhões de dólares nos EUA (Calderone, 2012; Khalifa et al., 2021). No entanto, tem se reportado

declínio na população de abelhas deste país (Ratnieks & Carreck, 2010) e uma das principais razões para a morte em massa das abelhas segundo os apicultores é a baixa qualidade das abelhas rainhas, seguido da presença de varroa na colônia (Aurell et al., 2023).

Ao longo de quatro anos de monitoramento, o programa de inspeção de apiários da Pensilvânia relatou que, em média, 2,36% de todas as colônias inspecionadas estavam sem rainha (van Engelsdorp et al., 2011; Lee et al., 2019). Por isto, o país tem investido no desenvolvimento de pesquisas que visem melhorar características físicas e reprodutivas das rainhas, técnicas de criação, inseminação instrumental, tolerância a diferentes temperaturas e principalmente a sobrevivência das rainhas a vírus, parasitas e ao uso de agrotóxicos (Delaney et al., 2011; Cobey, 2016; Souza et al., 2019; McAfee et al., 2020; McAfee et al., 2021; Lang et al., 2022).

Similarmente, a Europa é a principal consumidora de mel, representando mais de 20% do consumo global total. Em 2019, os consumidores de mel predominantes foram a Alemanha (69 mil toneladas), a França (52 mil toneladas) e o Reino Unido (45 mil toneladas) (Popescu et al., 2021). Em relação aos países produtores, a lista é encabeçada pela Espanha com 37 mil toneladas e a Alemanha ocupa a quarta posição com 26 mil toneladas (Popescu et al., 2021).

Popescu et al. (2021) assegura que, a produção de mel na União Europeia é uma das prioridades em sua Política Agrícola Comum (PAC), devido a que aumenta a produção agrícola por meio da polinização e, contribui para a manutenção da biodiversidade e dos ecossistemas. Em consequência, a União Europeia implementa programas para promoção da apicultura com orçamentos de até 240 milhões de euros ao ano, e realiza pesquisas relacionadas com a qualidade das rainhas usadas nestas atividades apícolas.

Estas pesquisas, tem foco principal, o uso e a armazenagem de esperma na espermateca, a longevidade da rainha e os efeitos do calor e dos agrotóxicos nas características da rainha (Kressin et al., 1996; Haberl & Tautz, 1998; Korb, 2016; Traynor & Lamas, 2021; Medina et al., 2023).

Por outro lado, a China é o maior produtor e exportador de mel e de geleia real no mundo, respondendo por mais de 25 e 90% do mercado global respectivamente (Popescu et al., 2021). Em 2014, o valor total da geleia exportada pela China atingiu os 39.457.197 dólares representando cerca de 743.000 kg de geleia fresca e 220.000 kg de geleia em pó (Cao et al., 2016).

Na apicultura comercial, rainhas velhas são periodicamente substituídas por rainhas recém-emergidas porque a reprodução e a produtividade da colônia diminuem à medida que as rainhas envelhecem (Simeunovic et al., 2014). Na China, essa substituição de rainhas geralmente ocorre uma ou duas vezes por ano e tem um efeito positivo na sobrevivência das colônias (Tang et al., 2023).

Para atingir esses resultados, o país investiu no desenvolvimento e na seleção de uma linhagem de abelhas para alta produção de geleia real criada a partir de abelhas italianas (*A. m. ligustica*) (Wu et al., 2019) e, no avanço de pesquisas de genética molecular relacionadas ao efeito materno, a regulação da expressão gênica, a epigenômica, a epigenética e a transcriptômica.

Essas análises permitem entender os mecanismos regulatórios da diferenciação de castas, o papel da genética no armazenamento de esperma, a regulação genômica das vias de desenvolvimento das rainhas, além de identificar genes candidatos associados à atividade ovariana e genes diferencialmente expressos em rainhas virgens e fecundadas (Wang et al., 2012; Wu et al., 2012; Niu et al., 2014; He et al., 2017; Yin et al., 2018; Chen & Shi, 2020).

No entanto, as contribuições feitas por países emergentes como Brasil, Mexico, Rússia e Indonésia sugerem que os avanços da pesquisa sobre a qualidade de rainhas não se limitam às potências tradicionais e, indica o potencial de colaboração transfronteiriça de troca de conhecimento, demonstrando a importância da cooperação internacional para o desenvolvimento e avanço da pesquisa na apicultura mundial.

Quanto a centralidade, a Figura 5 apresenta um círculo de cor roxo ao redor do nó dos países com publicações relevantes, sendo que a Alemanha (0,33), os Estados Unidos (0,18), a Bélgica (0,18), a Croácia (0,14) e a China (0,13) fazem parte do top 5 em centralidade. Quando analisado o número de publicações e centralidade em conjunto, percebe-se que os Estados Unidos, a Alemanha e a China são os países que mais desenvolvem pesquisa em relação ao tema de interesse.

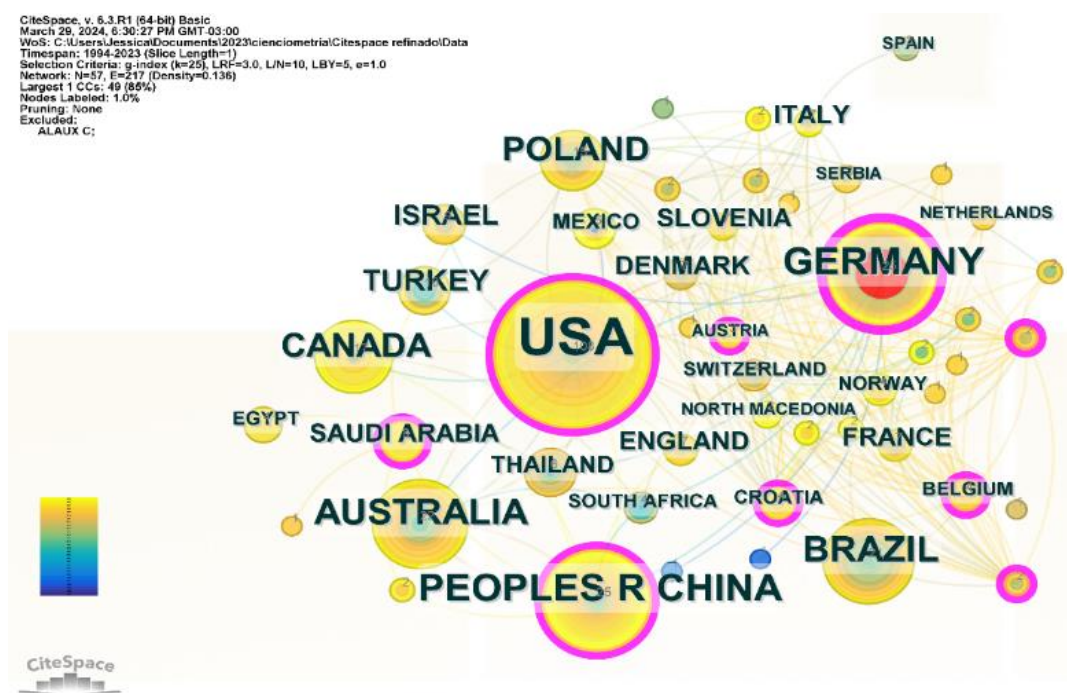


Figura 5. Mapa de cocitação de países que desenvolvem pesquisas sobre qualidade de abelhas rainhas. Cada círculo representa um país, em que, cores mais escuras (azul e verde) representam publicações de anos mais antigos e cores mais claras (laranja e amarelo) publicações mais recentes, começando no ano 1994 e finalizando no ano de 2023. Imagem criada pela autora deste estudo usando o software CiteSpace.

Top 20 Instituições

O mapa de instituições que participam das pesquisas relacionadas a qualidade de rainhas gerou 225 nós que representam 225 instituições e 431 links que representam as parcerias entre estas instituições (Figura 6). Em termos de centralidade, o top 5 de instituições inclui a North Carolina State University (0,28), a Agricultural Institute Slovenia (0,28), a Mississippi State University (0,28), a Swiss Federal Research Station Agroscope (0,14) e a United States Department of Agriculture (USDA) (0,11). Como observado na Figura 6, os vínculos entre as instituições são tênues, indicando que a cooperação é fraca.

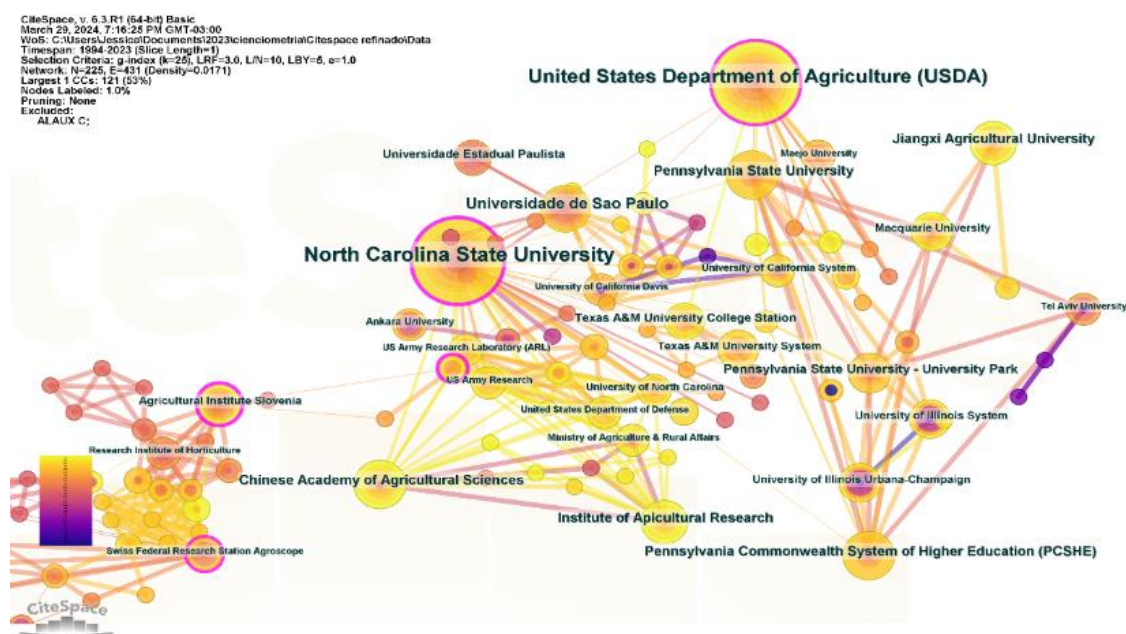


Figura 6. Mapa de cocitação de instituições que desenvolvem pesquisas sobre qualidade de abelhas rainhas. Na legenda cores mais escuras (azul e roxo) representam publicações de anos mais antigos e cores mais claras (vermelho, laranja e amarelo) publicações mais recentes, começando no ano 1994 e finalizando no ano de 2023. Imagem criada pela autora deste estudo usando o software CiteSpace.

Conforme a Tabela 1, as instituições com maior número de publicações foram a North Carolina State University que contribuiu com 34 documentos, a United States

Department of Agriculture -USDA com 32, a Universidade de São Paulo com 13, a Pennsylvania State University e a Pennsylvania Commonwealth System of Higher Education – PCSHE com 10 documentos cada uma. É importante observar, que 10 das 20 principais instituições estão localizadas nos Estados Unidos, demonstrando contribuições extraordinárias de institutos deste país no campo de qualidade de rainhas. Instituições da China (3), Brasil (2), Alemanha (2), Austrália (1), Taiwan (1) e Eslovênia (1) também fazem parte do top 20.

Tabela 1. Top 20 das instituições com maior número de publicações na área.

Ranking	Instituição	Publicações	Índice H
1	North Carolina State University	34	19
2	United States Department of Agriculture (USDA)	32	16
3	Universidade de São Paulo	13	6
4	Pennsylvania State University	10	9
5	Pennsylvania Commonwealth System of Higher Education (PCSHE)	10	9
6	Chinese Academy of Agricultural Sciences	10	5
7	Institute of Apicultural Research	9	5
8	Jiangxi Agricultural University	9	6
9	Pennsylvania State University - University Park	8	9
10	Chang Gung University	8	5
11	Texas A&M University College Station	7	6
12	Universidade Estadual Paulista	7	3
13	Agricultural Institute Slovenia	6	5
14	Texas A&M University System	6	6
15	Macquarie University	6	5
16	University of Illinois System	6	6
17	University of Illinois Urbana-Champaign	6	6
18	Martin Luther University Halle Wittenberg	5	4
19	Goethe University Frankfurt	5	5
20	University of California System	5	6

O programa de apicultura da Universidade Estadual de Carolina do Norte, coordenado pelo Professor Doutor David Tarpy tem sido líder em pesquisa, extensão e assistência técnica sobre abelhas melíferas. Parte de sua missão é auxiliar os apicultores

ajudando a desenvolver e divulgar informações sobre novas técnicas de manejo para melhorar a saúde e a produtividade das colônias (North Carolina Africanized Honey Bee Action Plan, 2016).

As principais pesquisas do programa incluem tópicos como desenvolvimento ovariano de rainhas em laboratório e, outros indicadores de qualidade, como as análises reprodutivas em zangões, a quantificação de feromônios, as exposições larvais a diferentes pesticidas e os efeitos dos tratamentos de ácaros e da temperatura de transporte, na aceitação e sobrevivência das rainhas (Lee et al., 2019; Metz & Tarpy, 2019; Withrow et al., 2019; McAfee et al., 2020; Traynor & Lamas, 2021). Além disso, a universidade possui uma clínica de rainhas e de doenças para que os apicultores avaliem a qualidade reprodutiva de rainhas (e zangões), incluindo peso, tamanho da cabeça e do tórax, quantidade de esperma e viabilidade espermática, níveis de doenças em suas colônias e a frequência de paternidade efetiva da rainha (número de acasalamentos).

Análise de clusters para áreas de pesquisa

A análise de cluster pode agrupar objetos similares que representam áreas de estudo. Foram identificados nove clusters, numerados na ordem decrescente em relação ao seu tamanho, começando pelo maior cluster #0, o segundo maior #1, e assim por diante. Observando-se a Figura 7, com base no algoritmo LLR e usando as palavras-chave para caracterizar os clusters, vê-se que a maior área (cluster #0 com o maior número de referências) foi a entomologia, com pesquisas realizadas em temas relacionados a qualidade, idade e peso da rainha, criação de rainhas, e mais recentemente, efeitos maternos e atratividade.

A segunda maior foi a ecologia (cluster #1) com temas como *Varroa destructor*, ativação dos ovários em abelhas operárias, reprodução, comportamento higiênico e mais

recentemente resistência a agrotóxicos como coumafós e fluvalinato (Figura 7). A terceira área observada foi geriatria e a gerontologia (cluster #2) com temas como hormônio juvenil, diferenciação de castas, divisão do trabalho, expressão gênica e plasticidade fenotípica.

A quarta maior área foi a biologia reprodutiva (cluster #3) com temas relacionados a inseminação instrumental, espermatozoides e armazenamento do esperma, seleção, genes diferencialmente expressos e feromônios da glândula mandibular (Figura 7). A última área observada do top 5 foi a agricultura e as ciências animais (cluster #4) com temas como sêmen, sobrevivência, saúde, mortalidade e perda de abelhas. Portanto, agora se tem uma ideia geral do que constituiu a pesquisa sobre qualidade de abelhas rainhas durante o período 2013 e 2023 (Figura 7).

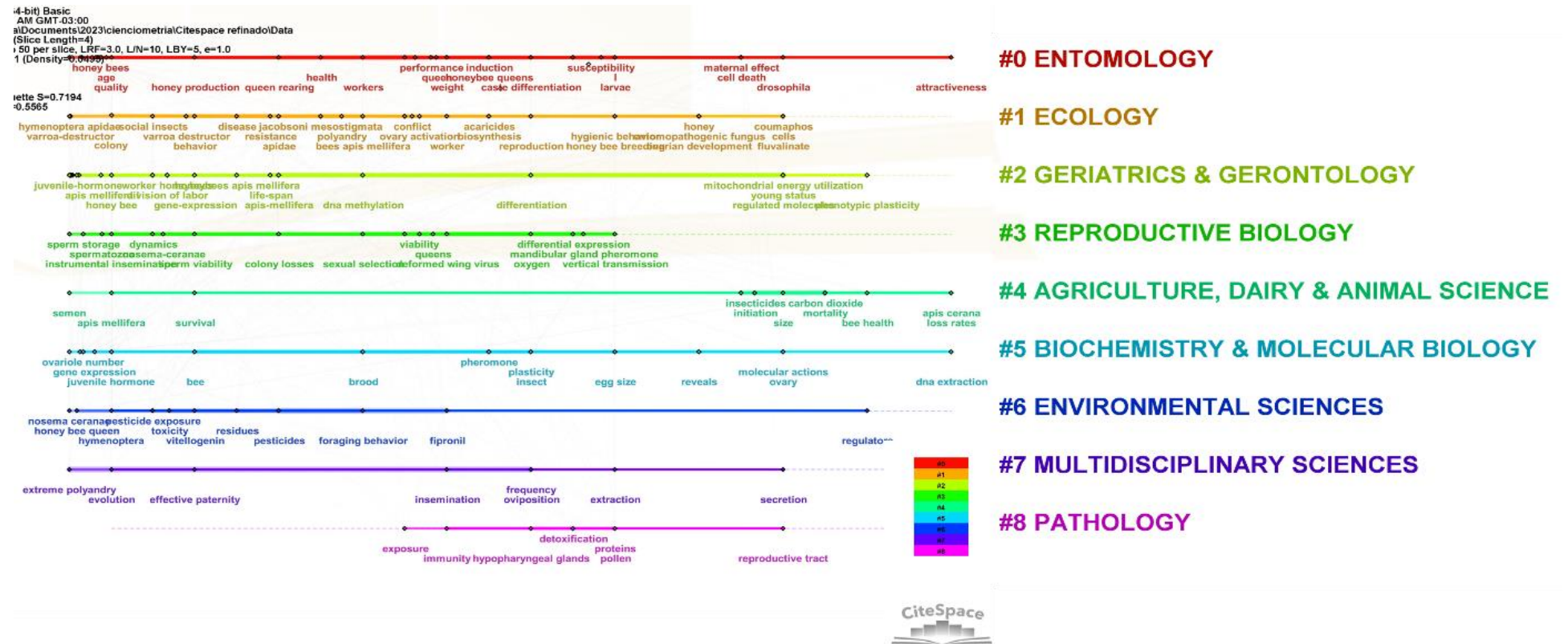


Figura 7. Análise de clusters para áreas de pesquisa que se interessam pela qualidade das abelhas rainhas. Na legenda cores mais escuras (Azul e verde) representam publicações de anos mais antigos e cores mais claras (laranja e vermelho) publicações mais recentes, começando no ano 1994 e finalizando no ano de 2023. Imagem criada pela autora deste estudo usando o software CiteSpace.

Análise e cocitações de revistas

Estudos sobre a qualidade de abelhas rainhas estão disseminados em 111 revistas. A Tabela 2 contém as 10 revistas que mais publicam na área. As revistas com maior número de publicações e cocitações foi *Apidologie* com 37 registros publicados e 203 links de cocitação. Em seguida vem o *Journal of Apicultural Research* com 34 registros e 167 links de cocitação e a *Plos One* com 16 publicações e 158 links de cocitações.

Sem dúvida, no nível Fator de Impacto da revista (FI) que representa o número médio de citações de artigos publicados naquela revista em um período de 2 anos (Garfield, 2006), calculado na base de dados Web of Science como:

$$\frac{\text{Citações no ano de 2022 para documentos publicados em 2020 + documentos publicados em 2021}}{\text{Número de documentos publicados em 2020 + documentos publicados em 2021}}$$

se destacam nomes como a *Nature Sustainability* (27,6), a *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)* (11,1), a *Science of the Total Environment* da editora Elsevier (9,8), a *Current Biology* (9,2), a *Environmental Pollution* (8,9), a *Elife* (7,7), a *Entomologia Generalis* (6,9), a *Ecotoxicology And Environmental Safety* (6,8), a *Geroscience* (5,6) e a *Frontiers in Cell and Developmental Biology* (5,5) que tiveram uma profunda influência na pesquisa relacionada.

Tabela 2. Top 10 das revistas que mais publicaram sobre qualidade de abelhas rainhas.

Ranking	Revista	Publicações	% do total	País	Fator de Impacto (FI) 2022
1	Apidologie	37	13,4	Francia	2,4
2	Journal of Apicultural Research	34	12,6	Reino Unido	1,9
3	Plos One	16	4,8	USA	3,7
4	Scientific Reports	12	4,5	Reino Unido	4,6
5	Insects	9	3,4	Suíça	3
6	Journal of Economic Entomology	9	3,4	USA	2,2
7	Insectes Sociaux	7	2,6	Suíça	1,3
8	Journal of Apicultural Science	7	2,6	Polonia	0,6
9	Journal of Insect Physiology	7	2,6	Reino Unido	2,2
10	Insect Molecular Biology	6	2,2	Reino Unido	2,6

Para obter mais informação sobre as revistas envolvidas na pesquisa sobre qualidade de abelhas rainhas, foi realizada uma rede de cocitação considerando o Top 50 no período 2013-2023, cada nó na rede representa uma revista, o tamanho do nó representa o número de citações e as linhas que conectam os nós são links de co-citações (Figura 8).

A Current Biology (0,21), a Annual Review of Entomology (0,13), a Experimental Gerontology (0,12), a Scientific Reports (0,11), a Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS) (0,10) e a Journal of Cell Science (0,1) foram as revistas de maior destaque com centralidade maior ou igual a 0,1 indicando que são revistas importantes no tópico qualidade de rainhas.

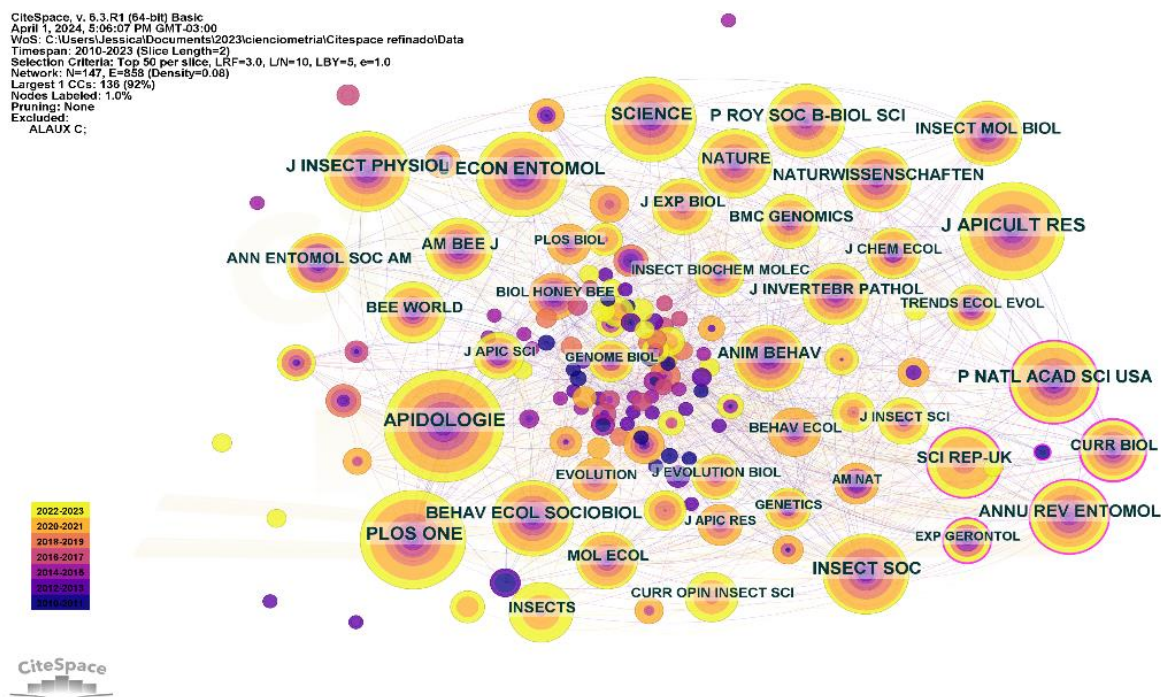


Figura 8. Mapa de cocitação de revistas. Na legenda cores mais escuras (Azul e roxo) representam publicações de anos mais antigos e cores mais claras (laranja e amarelo) publicações mais recentes, distribuída em períodos de dois anos começando no período 2010-2011 e finalizando no período 2022-2023. Imagem criada pela autora deste estudo usando o software CiteSpace.

Autores e análise de citações

O número total de autores que participaram dos 278 documentos publicados foi de 857. A Tabela 3 contém o top 10 de autores em relação ao número de documentos publicados. Encabeçando a lista aparece David Tarpy com 32 documentos publicados e, a posição número dez é ocupada por Carminda da Cruz Landim, autora brasileira com seis artigos publicados. Para a análise de cocitação foram avaliados os autores e os países em que foi realizada a pesquisa dividido em dois períodos, de 1994 a 2008 e de 2009 a 2023, usando um intervalo de tempo de dois anos, e com o g-index como critério de seleção.

Tabela 3. Top 10 dos autores com maior número de publicações.

Ranking	Autor	Documentos publicados	%
1	Tarpy DR	32	11.5
2	Grozinger CM	9	3.2
3	Pettis JS	9	3.2
4	Rangel J	9	3.2
5	Hsu CY	8	2.9
6	Zeng ZJ	8	2.9
7	Baer B	7	2.5
8	Niño EL	7	2.5
9	Barron AB	6	2.2
10	Cruz-landim C	6	2.2

Para o período 1994 a 2008, foram realizados clusters de tópicos de pesquisa, em que se observa claramente quatro grupos. O primeiro (#0 commercial queen) que agrupa autores dos Estados Unidos e do México que trabalharam em pesquisas relacionadas a produção comercial de rainhas. Vale destacar aqui a Anita M. Collins autora afiliada ao Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) a qual no primeiro período avaliado teve cinco documentos publicados, dois deles na *Apidologie* e três no *Journal of Apicultural Research* (Figura 9).

Seu artigo com maior número de citações (57) se intitula “Performance of honey bee (*Apis mellifera*) queens reared in beeswax cells impregnated with coumaphos”, seu índice H é 30 e possui um total de 97 publicações (Figura 9). O valor do índice H é baseado em uma lista de publicações classificadas em ordem decrescente pelo número de citações. Um índice H significa que existem H artigos que foram citados pelo menos H vezes cada um. O índice H é baseado nas citações da Web of Science Core Collection das publicações mostradas no registro do autor.

O segundo grupo, contém autores da Turquia e da Polônia que trabalharam principalmente no uso do método Doolittle (1889) para transferência de larvas (Figura 9). Destaca-se o autor turco Ahmet Dodologlu que publicou três artigos no período avaliado, e seu artigo com maior número de citações (15) foi “Comparison of some characteristics of queen Honey Bees (*Apis mellifera* L.) reared by using Doolittle method and natural queen cells”, publicado em 2004, seu índice H é 9 e tem 18 documentos publicados.

Na Figura 9, observa-se também que o terceiro grupo está composto por autores de diferentes nacionalidades que trabalharam com pesquisas relacionadas ao hormônio juvenil. Os autores Kimberly Hughes da Universidade Estadual da Florida e, Miguel Corona da Universidade Nacional da Colômbia se destacam por seu artigo publicado em 2007 na revista Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, intitulado “Vitelogenina, Hormonio juvenil, insulina e longevidade da rainha” que acumula 481 citações.

O último grupo deste período reúne autores do Canadá que direcionaram suas pesquisas nas características reprodutivas das abelhas. Neste grupo vale a pena nomear ao reconhecido Mark Winston autor do livro “A biologia da abelha” (Winston, 1991), com índice H de 49 e 154 registros de publicações. No ano de 2007, Winston em companhia da autora estado- unidense Christina Grozinger publicaram o artigo intitulado “Genome-wide analysis reveals differences in brain gene expression patterns associated with caste and reproductive status in honey bees (*Apis mellifera*)” que acumula um total de 167 citações.

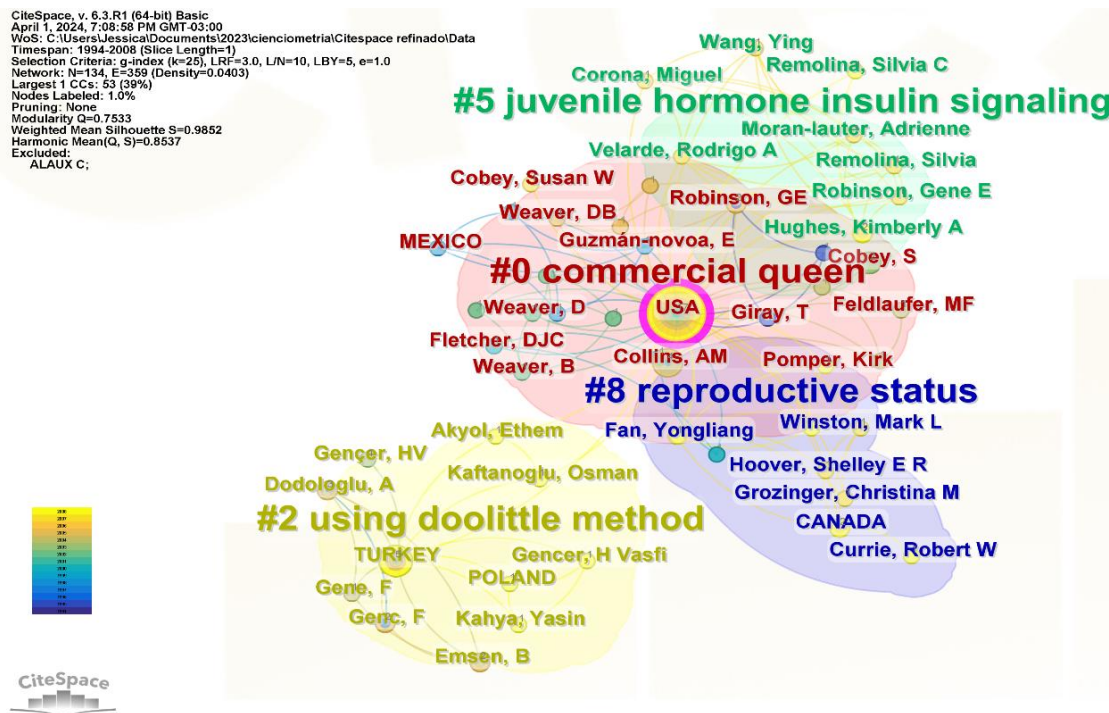


Figura 9. Cocitação de autores que pesquisam sobre qualidade de abelhas rainhas no período 1994-2008. Imagem criada pela autora deste estudo usando o software CiteSpace.

No período 2009- 2023 oito clusters foram formados, sendo o # 0 apis melífera, que reúne países como os EUA e a Tailândia (Figura 10). Quanto aos autores, o cluster apresenta por um lado, ao David Tarp, da Universidade da Carolina do Norte nos Estados Unidos, quem tem o maior número de citações, seu índice H é de 42 e tem 131 publicações no total. Além disso, tem o maior número de links no mapa, o que significa que ele realizou várias parcerias.

Por outro lado, aparece o Jeffery Pettis com índice H de 35 e 88 documentos publicados no total, em que, 32 foram sobre qualidade de abelhas, este autor tem feito grandes contribuições em relação a viabilidade espermática, o tamanho da rainha, o conteúdo da espermoteca e as alterações da fertilidade causadas por calor e por exposição a acaricidas (Collins e Pettis, 2013; McAfee et al., 2020; McAfee et al., 2021).

O cluster #1 agrupa os países e os autores que realizam pesquisas em biologia reprodutiva da abelha como China, Arabia Saudita, Egito e Turquia. Autores chineses como Chen Xiao e Chen Chao com índice H de 8 e 11 respectivamente, se destacam no cluster com pesquisas na área de biologia molecular para avaliar processos de ativação dos ovários e oviposição (Figura 10).

O cluster #3 reúne autores que trabalharam com exposição das abelhas a diferentes contaminantes principalmente no Canadá, onde novamente o autor David Tarpy teve grandes contribuições. Outra autora que aparece neste cluster é a Juliana Rangel, colombiana afilhada a Universidade do Texas A&M nos Estados Unidos que possui oito registros no banco de dados analisado (Figura 10). A autora, possui artigos que analisaram o efeito de acaricidas e pesticidas na expressão gênica, no desenvolvimento larval e nas características reprodutivas das rainhas *Apis mellifera* (Dickey et al., 2023; Rangel et al., 2021).

Finalmente, no cluster #4 estão reunidos os autores Brasileiros que vem trabalhando na contagem de ovariolos das rainhas. Os nomes com maior contribuição são Carminda da Cruz Landim, autora do livro “Abelhas: Morfologia e função de sistemas” quem faz grandes contribuições histológicas do desenvolvimento ovárico de rainhas *Apis mellifera* virgens e fecundadas e outras espécies como *Melipona quadrifasciata* (Figura 10).

Outros autores como Bruno Berger que trabalha em parceria com Cruz Landim, Daiana Souza, que faz pesquisa em relação a características morfométricas e reprodutivas das abelhas e, o grupo conformado por Michele Potrich, Fabiana Martins Costa-Maia e Fernanda Raulino que contribuem com artigos que, por um lado descrevem o método para otimizar a contagem de ovariolos e por outro, realizam a avaliação de entomopatogenos em abelhas *Apis mellifera* africanizadas. Na Figura 10 é possível ver que os grupos de

autores trabalham dentro dos grupos principais, mas não realizam parcerias com os grupos externos.

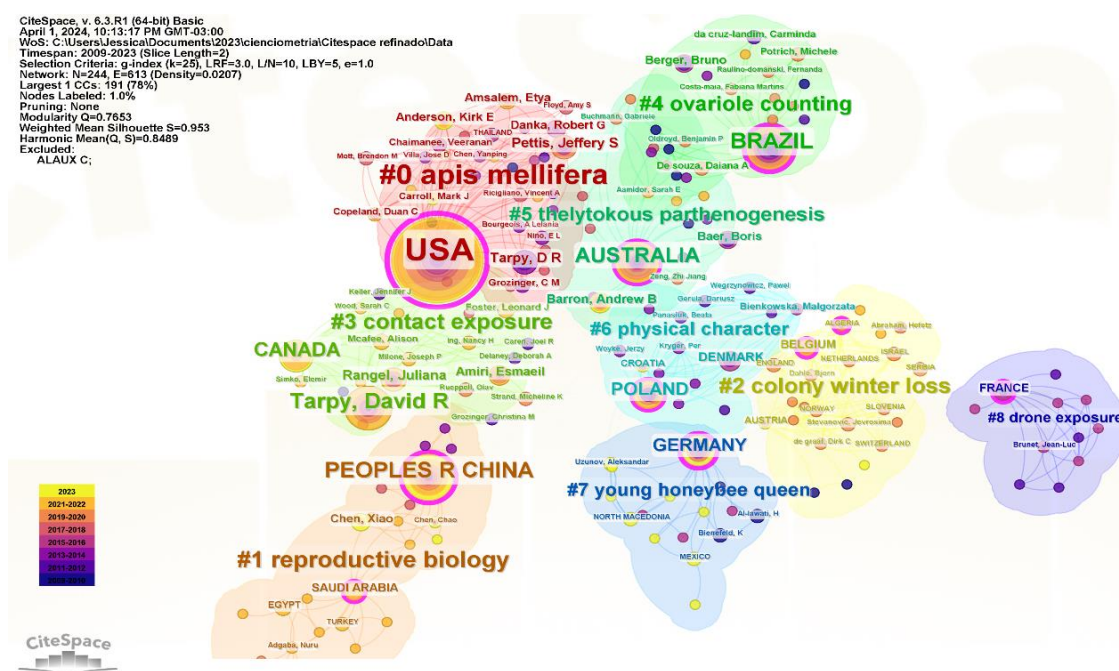


Figura 10. Cocitação de autores que pesquisam sobre qualidade de abelhas rainhas no período 2009-2023. Imagem criada pela autora deste estudo usando o software CiteSpace

Análise de co-ocorrência de palavras-chave

As palavras-chave podem ser consideradas a alma de um artigo, pois são palavras descritivas, e diferenciadas, sendo utilizadas para compilar e compreender os conceitos e conteúdo dos artigos, além de facilitar a busca de conteúdo na literatura. Neste estudo um total de 287 palavras-chave foram encontradas para o período de 1994-2023. A análise de co-ocorrência de palavras-chave é o método mais informativo usado em revisões cienciométricas, pois mostra as tendências e carências no estado da arte de um determinado campo.

A Figura 11a mostra a rede de cocitação. A inter-relação das palavras é determinada com base no número de documentos em que elas ocorrem juntas. O termo “*Apis mellifera*” é a palavra-chave que apresenta maior frequência de citação (110) e centralidade (0,17) sendo, portanto, o termo mais efetivo e mais visível dentre as malhas

pesquisadas por ser o nome científico da espécie em estudo. Nós acreditamos que esse resultado também esteja relacionado com o crescimento populacional de colônias de abelhas *Apis* manejadas que foi estimado em 72,6 milhões em 2007 e passou a 91,6 milhões em 2022 (FAO, 2024). Este aumento global no número de colônias, gera alta demanda de produção e fornecimento de rainhas aos apicultores

Fora as palavras relacionadas à classificação taxonômica das abelhas (Hymenoptera, apidae, *Apis mellifera*, genus *Apis*, *Cerana*) e aos diferentes nomes usados para se referir a elas (honey bee, bee, bees honey bees), as palavras com maior frequência e centralidade foram: evolução (f = 44, c = 0,15), colônia (f = 41, c = 0,10), hormônio juvenil (f = 25, c = 0,13), comportamento (f = 21, c = 0,05), espermatozoide (f = 19, c = 0,05), vitelogenina (f = 17, c = 0,07), expressão gênica (f = 13, c = 0,08), divisão do trabalho (f = 11, c = 0,08) e armazenamento de esperma (f = 2, c = 0,03). Estas palavras representam os *hot spots* da época e observa-se que elas se relacionam com a produção e seleção das abelhas rainhas (Figura 11a).

A figura 11b contém o top 15 em termos de frequência e centralidade das palavras-chave mais usadas na literatura científica sobre qualidade de abelhas rainhas. A centralidade da palavra *Apis mellifera* no período avaliado foi superior a 0,1, indicando que a maior parte das pesquisas foram desenvolvidas nesta espécie.

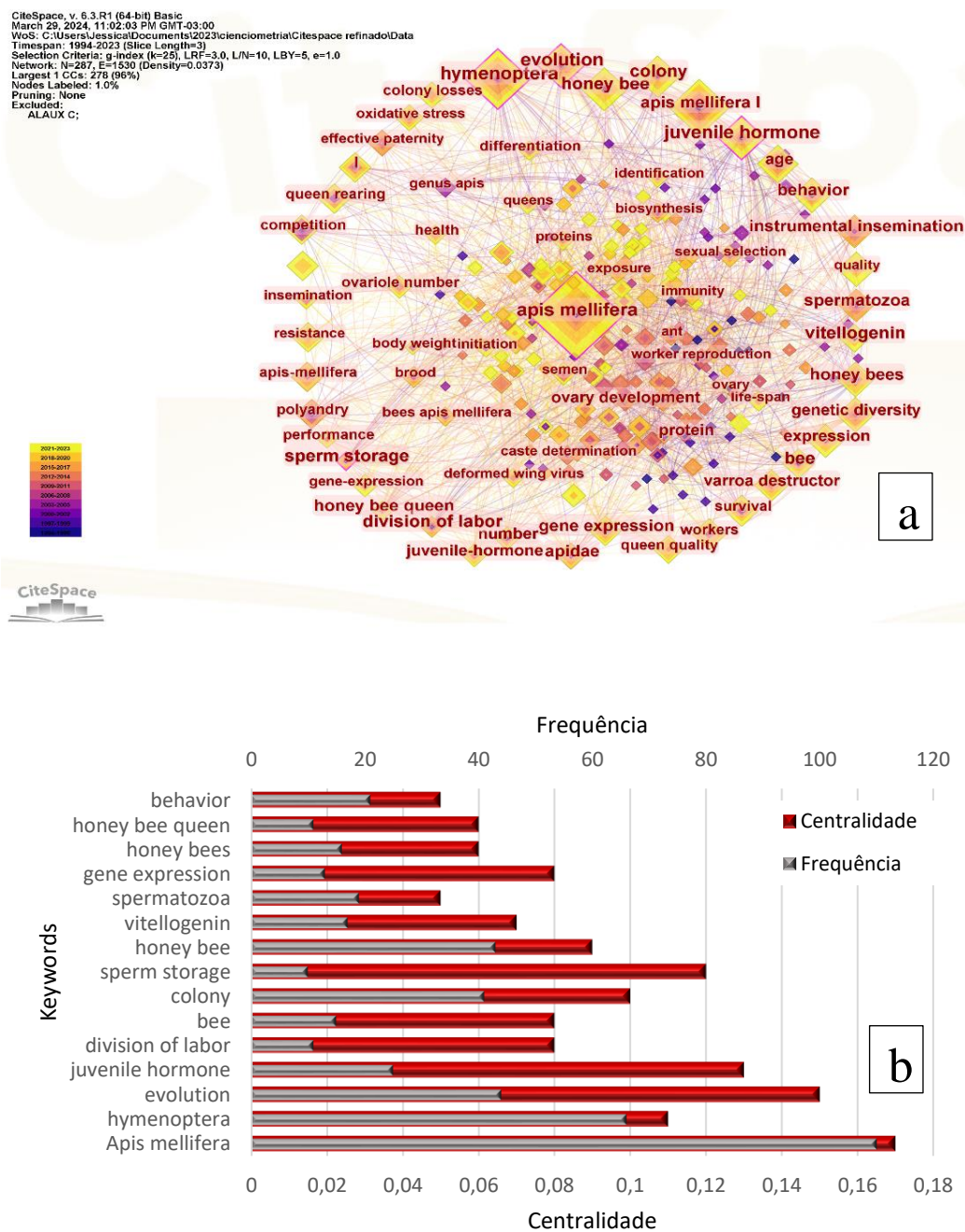


Figura 11. Análise de cocitação de palavras chaves no período 1994-2023. a. Mapa de cocitação, b. Gráfico de frequência e centralidade. Imagem criada pela autora deste estudo usando o software CiteSpace.

Artigos com maior índice de citação

Como observado na Tabela 4, o artigo com maior índice de citação foi publicado no ano de 2007 pelo autor Miguel Corona, que acumula um total de 482 citações com média de 25,9 citações por ano. O último do top 10 intitulado “*Sexual selection in Apis bees*” foi publicado na revista Apidologie pelo autor B Baer e acumula um total de 105 citações. É interessante observar que a maioria dos artigos classificados no top 10 abordam temas relacionados com a influência da expressão gênica das abelhas a diferentes agentes contaminantes como inseticidas neonicotinoides.

Tabela 4. Top 10 de artigos com maior número de citações.

Ranking	Título	Autores	Revista	Citações /ano	Total de citações	Referência
1	Vitellogenin, juvenile hormone, insulin signaling, and queen honey bee longevity	Corona, Miguel; Velarde, Rodrigo; Remolina, Silvia; Moran-Lauter, Adrienne; Wang, Ying; Hughes, Kimberly; Robinson, Gene	The Proceedings of the National Academy of Sciences	25,9	482	Corona et al., 2007
2	Royalactin induces queen differentiation in honeybees	Kamakura, Masaki	Nature	29,5	429	Kamakura, 2011
3	Genome-wide analysis reveals differences in brain gene expression patterns associated with caste and reproductive status in honey bees (<i>Apis mellifera</i>)	Grozinger, Christina; Fan, Yongliang; Hoover, Shelley; Winston, Mark	Molecular Ecology	9,9	167	Grozinger et al., 2007
4	Neonicotinoid pesticides severely affect honey bee queens	Williams, Geoffrey; Troxler, Aline, Retschnig, Gina; Roth, Kaspar; Yanez, Orlando; Shutler, Dave; Neumann, Peter; Gauthier, Laurent	Scientific Reports	15,8	162	Williams et al., 2015
5	Impact of Chronic Neonicotinoid Exposure on Honeybee Colony Performance and Queen Supersedure	Sandrock, Christoph; Tanadini, Matteo; Tanadini, Lorenzo; Fauser-Misslin, Aline; Potts, Simon; Neumann, P	Plos One	13	149	Sandrock et al., 2014
6	Gene expression patterns associated with queen honey bee longevity	Corona, M; Hughes, K; Weaver, DB; Robinson, GE	Mechanisms Of Ageing And Development	7,6	148	Corona et al., 2005
7	Sub-lethal effects of dietary neonicotinoid insecticide exposure on honey bee queen fecundity and colony development	Wu-Smart, Judy) [1] ; Spivak, M (Spivak, Marla	Scientific Reports	17,4	144	Wu-Smart e Spivak, 2016
8	Effects of fluvalinate and Coumaphos on queen honey bees (Hymenoptera: Apidae)	Haarmann, T; Spivak, M; Weaver, D; Weaver, B; Glenn, T	Journal Of Economic Entomology	6,05	122	Haarmann et al., 2002

	in two commercial queen rearing operations					
9	Sperm viability and gene expression in honey bee queens (<i>Apis mellifera</i>) following exposure to the neonicotinoid insecticide imidacloprid and the organophosphate acaricide coumaphos	Chaimanee, Veeranan; Evans, Jay; Chen, Yanping; Jackson, Caitli; Pettis, Jeffery	Journal Of Insect Physiology	11,4	107	Chaimanee et al., 2016
10	Sexual selection in <i>Apis</i> bees	Baer, B	Apidologie	5,7	105	Baer, 2005

Agências de financiamento

Instituições e agências que financiam as pesquisas sobre qualidade de rainhas estão listadas na Tabela 5. O United States Department of Agriculture – USDA dos Estados Unidos, financiou 30 pesquisas e ocupou a primeira posição no top 10. Em seguida, aparece a National Natural Science Foundation of China – NSFC com 16 pesquisas e, o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq com 12 pesquisas. O National Institute of Food and Agriculture ficou no décimo lugar na lista com seis pesquisas financiadas. No que se refere as instituições brasileiras, apesar de ocuparem os primeiros lugares o que significa que é feito grande investimento no desenvolvimento de pesquisas, seu índice H é baixo o que indica que os documentos publicados são pouco citados na literatura.

Tabela 5. Top 10 agências que financiam as pesquisas sobre qualidade de abelhas rainhas.

Ranking	Agência financiadora	País	Publicações	Índice H
1	United States Department of Agriculture (USDA)	USA	35	22
2	National Natural Science Foundation of China (NSFC)	China	17	9
3	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)	Brasil	12	5
4	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)	Brasil	10	4
5	National Science Foundation (NSF)	USA	10	7
6	Australian Research Council	Australia	8	6
7	Chang Gung Memorial Hospital	Taiwan	8	5
8	National Institute of Food and Agriculture (NIFA)	China	8	7
9	USDA Agricultural Research Service	USA	8	5
10	Earmarked Fund for China Agriculture Research System	USA	7	6

Conclusões

Este estudo cienciométrico destaca a tendência crescente na pesquisa sobre qualidade de abelhas rainhas *Apis mellifera* em todo o mundo, revelando interesse por parte de países desenvolvidos e em desenvolvimento, das diferentes áreas de pesquisa, principalmente, a

entomologia e de autores norte americanos e chineses. Além disso, foi possível identificarmos os temas de interesse dos diferentes grupos de pesquisa e que estas pesquisas têm sido realizadas principalmente com abelhas *Apis mellifera* devido a sua grande parcela de contribuição econômica. Esse estudo não só ofereceu um instantâneo do cenário atual da pesquisa sobre qualidade de rainhas, mas também lança luz sobre tendências emergentes e áreas temáticas de interesse como a genética molecular, proteômica e transcriptômica. O Brasil investe bastante em pesquisa com grande número de publicações e a presença das instituições e agências financiadoras nos primeiros lugares do ranking. No entanto, estas pesquisas não são citadas na literatura internacional pelo qual propõe-se redirecionar os tópicos de pesquisa utilizados.

Referências

- Aamidor, S. E., Cardoso-Júnior, C. A., Harianto, J., Nowell, C. J., Cole, L., Oldroyd, B. P., & Ronai, I. (2022). Reproductive plasticity and oogenesis in the queen honey bee (*Apis mellifera*). *Journal of Insect Physiology*, *136*, 104347. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2021.104347>
- Aurell, D., Bruckner, S., Wilson, M., Steinhauer, N., & Williams, G. R. (2023). A national survey of managed honey bee colony losses in the USA: Results from the Bee Informed Partnership for 2020–21 and 2021–22. *Journal of Apicultural Research*, *63*(1), 1–14. <https://doi.org/10.1080/00218839.2023.2264601>
- Berger, B., Poiani, S. B., & Cruz-Landim, C. (2016). Beekeeping practice: effects of *Apis mellifera* virgin queen management on ovary development. *Apidologie*, *47*, 589-595. <https://doi.org/10.1007/s13592-015-0404-8>
- Bruckner, S., Wilson, M., Aurell, D., Rennich, K., Vanengelsdorp, D., Steinhauer, N., & Williams, G. R. (2023). A national survey of managed honey bee colony losses in the

- USA: results from the Bee Informed Partnership for 2017–18, 2018–19, and 2019–20. *Journal of Apicultural Research*, 62(3), 429-443.
- Calderone, N. W. (2012). Insect pollinated crops, insect pollinators and US agriculture: trend analysis of aggregate data for the period 1992–2009. *PloS one*, 7(5), e37235. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0037235>
- Cao, L. F., Zheng, H. Q., Pirk, C. W., Hu, F. L., & Xu, Z. W. (2016). High royal jelly-producing honeybees (*Apis mellifera ligustica*) (Hymenoptera: Apidae) in China. *Journal of Economic Entomology*, 109 (2), 510-514. <https://doi.org/10.1093/jee/tow013>
- Chen, C. (2003). Mapping scientific frontiers: The quest for knowledge visualization. Springer-Verlag.
- Chen, Chaomei (2014) The *CiteSpace* Manual. <http://cluster.cis.drexel.edu/~cchen/citespace/>
- Chen, C., & Leydesdorff, L. (2014). Patterns of connections and movements in dual-map overlays: A new method of publication portfolio analysis. *Journal of the association for information science and technology*, 65(2), 334-351. <https://doi.org/10.1002/asi.22968>
- Chen, X., & Shi, W. (2020). Genome-wide characterization of coding and non-coding RNAs in the ovary of honeybee workers and queens. *Apidologie*, 51(5), 777-792. <https://doi.org/10.1007/s13592-020-00760-7>
- Cobey, S. W. (2016). An introduction to instrumental insemination of honey bee queens. *Bee World*, 93(2), 33-36. <https://doi.org/10.1080/0005772X.2016.1222790>
- Collins, A. M. (2000). Relationship between semen quality and performance of instrumentally inseminated honey bee queens. *Apidologie*, 31(3), 421-429. <https://doi.org/10.1051/apido:2000132>

- Collins, A. M., Pettis, J. S., Wilbanks, R., & Feldlaufer, M. F. (2004). Performance of honey bee (*Apis mellifera*) queens reared in beeswax cells impregnated with coumaphos. *Journal of Apicultural Research*, 43(3), 128-134. <https://doi.org/10.1080/00218839.2004.11101123>
- Corona, M., Velarde, R. A., Remolina, S., Moran-Lauter, A., Wang, Y., Hughes, K. A., & Robinson, G. E. (2007). Vitellogenin, juvenile hormone, insulin signaling, and queen honey bee longevity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(17), 7128-7133. <https://doi.org/10.1073ypnas.0701909104>
- Dedej, S., Hartfelder, K., Aumeier, P., Rosenkranz, P., & Engels, W. (1998). Caste determination is a sequential process: effect of larval age at grafting on ovariole number, hind leg size and cephalic volatiles in the honey bee (*Apis mellifera carnica*). *Journal of Apicultural Research*, 37(3), 183-190. <https://doi.org/10.1080/00218839.1998.11100970>
- Delaney, D. A., Keller, J. J., Caren, J. R., & Tarpy, D. R. (2011). The physical, insemination, and reproductive quality of honey bee queens (*Apis mellifera* L.). *Apidologie*, 42, 1-13. <https://doi.org/10.1051/apido/2010027>
- Dickey, M., Walsh, E. M., Shepherd, T. F., Medina, R. F., Tarone, A., & Rangel, J. (2023). Transcriptomic analysis of the honey bee (*Apis mellifera*) queen brain reveals that gene expression is affected by pesticide exposure during development. *Plos one*, 18(4), e0284929. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0284929>
- Doolittle, G (1889). *Scientific queen rearing*. Chicago: Thomas G. Newman & Son.
- Freeman, L. C. (1977). A set of measures of centrality based on betweenness. *Sociometry*, 35-41.
- Gąbka, J. (2022). Effect of the number of spermatozoa entering the spermatheca on the onset of oviposition in naturally mated and instrumentally inseminated queen honey

- bees. *Journal of Apicultural Research*, 61(2), 206-212.
<https://doi.org/10.1080/00218839.2021.1994258>
- Grozinger, C. M., Fan, Y., Hoover, S. E., & Winston, M. L. (2007). Genome-wide analysis reveals differences in brain gene expression patterns associated with caste and reproductive status in honey bees (*Apis mellifera*). *Molecular ecology*, 16(22), 4837-4848. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-294X.2007.03545.x>
- Haberl, M., & Tautz, D. (1998). Sperm usage in honey bees. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 42, 247-255. <https://doi-org.ezproxy.unal.edu.co/10.1007/s002650050436>
- Hauser, H., & Lensky, Y. (1994). The effect of the age of the honey bee (*Apis mellifera* L) queen on worker population, swarming and honey yields in a subtropical climate. *Apidologie*, 25(6), 566-578. <https://doi.org/10.1051/apido:19940607>
- He, X. J., Zhou, L. B., Pan, Q. Z., Barron, A. B., Yan, W. Y., & Zeng, Z. J. (2017). Making a queen: an epigenetic analysis of the robustness of the honeybee (*Apis mellifera*) queen developmental pathway. *Molecular Ecology*, 26(6), 1598-1607. <https://doi.org/10.1111/mec.13990>
- Katzav-Gozansky, T., Soroker, V., Ibarra, F., Francke, W., & Hefetz, A. (2001). Dufour's gland secretion of the queen honeybee (*Apis mellifera*): an egg discriminator pheromone or a queen signal?. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 51, 76-86. <https://doi.org/10.1007/s002650100406>
- Khalifa, S. A., Elshafiey, E. H., Shetaia, A. A., El-Wahed, A. A. A., Algethami, A. F., Musharraf, S. G., ... & El-Seedi, H. R. (2021). Overview of bee pollination and its economic value for crop production. *Insects*, 12(8), 688. <https://doi.org/10.3390/insects12080688>

- Korb, J. (2016). Why do social insect queens live so long? Approaches to unravel the sociality-aging puzzle. *Current opinion in insect science*, *16*, 104-107. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cois.2016.06.004>
- Kressin, M., Sommer, U., & Schnorr, B. (1996). The spermathecal epithelium of the honey bee queen (*Apis mellifera*): ultrastructure, age-dependent alterations, and cellular junctions. *Journal of Veterinary Medicine, Series C*. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0264.1996.tb00056.x>
- Lee, K. V., Goblirsch, M., McDermott, E., Tarpy, D. R., & Spivak, M. (2019). Is the brood pattern within a honey bee colony a reliable indicator of queen quality?. *Insects*, *10*(1), 12. <http://dx.doi.org/10.3390/insects10010012>
- Levesque, M., Rousseau, A., & Giovenazzo, P. (2023). Impacts of indoor mass storage of two densities of honey bee queens (*Apis mellifera*) during winter on queen survival, reproductive quality and colony performance. *Journal of Apicultural Research*, *62*(2), 274-286. <https://doi.org/10.1080/00218839.2022.2126613>
- Mattiello, S., Rizzi, R., Cattaneo, M., Martino, P. A., & Mortarino, M. (2022). Effect of queen cell size on morphometric characteristics of queen honey bees (*Apis mellifera ligustica*). *Italian Journal of Animal Science*, *21*(1), 532-538. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2022.2043790>
- McAfee, A., Chapman, A., Higo, H., Underwood, R., Milone, J., Foster, L. J., ... & Pettis, J. S. (2020). Vulnerability of honey bee queens to heat-induced loss of fertility. *Nature Sustainability*, *3*(5), 367-376. <https://doi.org/10.1038/s41893-020-0493-x>
- McAfee, A., Tarpy, D. R., & Foster, L. J. (2021). Queen honey bees exhibit variable resilience to temperature stress. *PLoS one*, *16*(8), e0255381. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0255381>

- Medina, R. G., Paxton, R. J., Arjona-Torres, M., Aké-Villanueva, J. R., Medina-Medina, L. A., & Quezada-Euán, J. J. G. (2023). Effects of simulated tropical heat waves during development on the morphological and reproductive traits of Africanized honey bee. *Insectes Sociaux*, *70*(3), 327-338. <https://doi.org/10.1007/s00040-023-00927-2>
- Metz, B. N., & Tarpy, D. R. (2019). Reproductive senescence in drones of the honey bee (*Apis mellifera*). *Insects*, *10*(1), 11. <https://doi.org/10.1093/jisesa/ieab048>
- Nicodemo, D., Malheiros, E. B., De Jong, D., & Couto, R. H. N. (2014). Increased brood viability and longer lifespan of honeybees selected for propolis production. *Apidologie*, *45*, 269-275. <https://doi.org/10.1007/s13592-013-0249-y>
- Niu, D., Zheng, H., Corona, M., Lu, Y., Chen, X., Cao, L., ... & Hu, F. (2014). Transcriptome comparison between inactivated and activated ovaries of the honey bee *Apis mellifera* L. *Insect molecular biology*, *23*(5), 668-681. <https://doi.org/10.1111/imb.12114>
- Patrício, K., Cruz-Landim, C., & Machado-Santelli, G. M. (2011). Cytoskeletal organization of bee ovarian follicles during oogenesis. *Micron*, *42*(1), 55-59. <https://doi.org/10.1016/j.micron.2010.08.002>
- Popescu, A., Dinu, T. A., Stoian, E., & Șerban, V. (2021). Honey production in the European Union in the period 2008-2019-a statistical approach.
- Rangel, J., Shepherd, T. F., Gonzalez, A. N., Hillhouse, A., Konganti, K., & Ing, N. H. (2021). Transcriptomic analysis of the honey bee (*Apis mellifera*) queen spermathecae reveals genes that may be involved in sperm storage after mating. *PLoS One*, *16*(1), e0244648. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0244648>
- R Core Team (2023). R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing

- Ratnieks, F. L., & Carreck, N. L. (2010). Clarity on honey bee collapse?. *Science*, 327(5962), 152-153. <https://doi.org/10.1126/science.1185563>
- Simeunovic, P., Stevanovic, J., Cirkovic, D., Radojicic, S., Lakic, N., Stanisic, L., & Stanimirovic, Z. (2014). Nosema ceranae and queen age influence the reproduction and productivity of the honey bee colony. *Journal of Apicultural Research*, 53(5), 545-554. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.53.5.09>
- Souza, D. A., Hartfelder, K. H., & Tarpy, D. R. (2019). Effects of larval age at grafting and juvenile hormone on morphometry and reproductive quality parameters of in vitro reared honey bees (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Economic Entomology*, 112(5), 2030-2039. <https://doi.org/10.1093/jee/toz14>
- Spinak, E. (1998). Indicadores cienciométricos. *Ciência da informação*, 27, 143
- Tang, J., Ji, C., Shi, W., Su, S., Xue, Y., Xu, J., ... & Chen, C. (2023). Survey results of honey bee colony losses in winter in China (2009–2021). *Insects*, 14(6), 554. <https://doi.org/10.3390/insects14060554>
- Tarpy, D. R., Hatch, S., & Fletcher, D. J. (2000). The influence of queen age and quality during queen replacement in honeybee colonies. *Animal behaviour*, 59(1), 97-101. <https://doi.org/10.1006/anbe.1999.1311>
- Traynor, K. S., & Lamas, Z. S. (2021). Social disruption: Sublethal pesticides in pollen lead to *Apis mellifera* queen events and brood loss. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 214, 112105. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112105>
- Verma, L. R. (1973). An ionic basis for a possible mechanism of sperm survival in the spermatheca of the queen honey bee (*Apis mellifera* L.). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 44(4), 1325-1331. [https://doi.org/10.1016/0300-9629\(73\)90272-7](https://doi.org/10.1016/0300-9629(73)90272-7)

- Walsh, E. M., Khan, O., Grunseich, J., Helms, A. M., Nancy, H., & Rangel, J. (2021). Pesticide exposure during development does not affect the larval pheromones, feeding rates, or morphology of adult honey bee (*Apis mellifera*) queens. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 343. <https://doi.org/10.3389/fevo.2021.681506>
- Wang, Z. L., Liu, T. T., Huang, Z. Y., Wu, X. B., Yan, W. Y., & Zeng, Z. J. (2012). Transcriptome analysis of the Asian honey bee *Apis cerana cerana*. *Plos one*, 7(10), e47954. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047954>
- Winston, M L (1991). *The biology of the honeybee*. Massachusetts: Harvard University Press.
- Withrow, J. M., Pettis, J. S., & Tarpy, D. R. (2019). Effects of temperature during package transportation on queen establishment and survival in honey bees (Hymenoptera: Apidae). *Journal of economic entomology*, 112(3), 1043-1049. <https://doi.org/10.1093/jee/toz003>
- Wu, F., Ma, C., Han, B., Meng, L., Hu, H., Fang, Y., ... & Li, J. (2019). Behavioural, physiological and molecular changes in alloparental caregivers may be responsible for selection response for female reproductive investment in honey bees. *Molecular Ecology*, 28(18), 4212-4227. <https://doi.org/10.1111/mec.15207>
- Wu, L., Wuxiang, D., Zheng, H., Li, J., & Pan, G. (2012). A new gene, SRP16, differentially expressed in the spermathecae of honeybee queens (*Apis mellifera*) related with reproduction status. *Molecular biology reports*, 39, 10325-10330. <https://doi.org/10.1007/s11033-012-1909-0>
- Yin, L., Wang, K., Niu, L., Zhang, H., Chen, Y., Ji, T., & Chen, G. (2018). Uncovering the changing gene expression profile of honeybee (*Apis mellifera*) worker larvae transplanted to queen cells. *Frontiers in Genetics*, 9, 416. <https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00416>

IV. Avaliação do peso vivo, peso dos ovários e contagem de ovariolos como estimativas de qualidade de abelhas rainhas *Apis mellifera* em apiários comerciais localizados em Santa Catarina

(Journal of Apicultural Research)

Resumo

Características morfológicas como peso vivo, peso dos ovários e número de ovariolos são índices importantes na fecundidade da rainha e, estão relacionados à origem, bem como, as condições de reprodução das abelhas rainhas. Neste estudo, 137 abelhas rainhas *Apis mellifera* africanizadas de descarte provenientes de 28 apiários comerciais localizados nos municípios de Jupiá, São Lourenço do Oeste e Novo Horizonte, estado de Santa Catarina- Brasil, foram avaliadas durante o ano de 2021. A coleta seguiu as orientações dos apicultores, descartando principalmente, rainhas com baixa produção de mel na safra, rainhas com falha na postura, rainhas que vieram de coleta de enxames ou rainhas de colônias fracas. As características de peso da rainha, peso do ovário direito e esquerdo e a contagem de ovariolos de ambos os ovários foram avaliadas sem encontrar diferenças estatísticas entre apiários (Kruskal Wallis, $p > 0,05$). O peso das rainhas variou entre 115,5 e 230,4 mg, com mediana de 191,4 mg. O peso do ovário esquerdo variou de 2 a 37,70 mg com mediana de 22,70 e de 1,90 a 39,7 com mediana de 39,79 mg para o ovário direito. Quanto à contagem de ovariolos, os valores variaram de 58 a 340 ovariolos para o ovário esquerdo e de 68 a 290 para o direito. Esses resultados, quando comparados a estudos prévios, indicam que as rainhas descartadas ainda podem ser consideradas como de boa qualidade. Este estudo destaca a importância de levar registros a campo e realizar avaliações para estabelecer um padrão de qualidade para abelhas *Apis mellifera* africanizadas no Brasil e, para evitar trocas antecipadas de rainhas que possam trazer prejuízo econômico ao produtor.

Palavras-chave: parâmetros de qualidade, rainhas de descarte, reprodução, substituição de rainhas

Abstract

Morphological characteristics such as live weight, ovary weight, and number of ovarioles are important indicators of queen fecundity and are related to the queen bee's origin as well as reproductive conditions. In this study, 137 discarded Africanized *Apis mellifera* queens from 28 commercial apiaries located in the municipalities of Jupiá, São Lourenço do Oeste, and Novo Horizonte, in the state of Santa Catarina, Brazil, were evaluated during the year 2021. The collection followed the beekeepers' guidelines, primarily discarding queens with low honey production during the season, queens with laying failures, queens collected from swarms, or queens from weak colonies. The characteristics of queen weight, right and left ovary weight, and the ovariole count of both ovaries were evaluated, with no statistical differences found between apiaries (Kruskal Wallis, $p > 0.05$). The queens' weight ranged from 115.5 to 230.4 mg, with a median of 191.4 mg. The left ovary weight ranged from 2 to 37.70 mg with a median of 22.70 mg, and from 1.90 to 39.7 mg with a median of 39.79 mg for the right ovary. Regarding ovariole count, the values ranged from 58 to 340 ovarioles for the left ovary and from 68 to 290 for the right ovary. These results, when compared to previous studies, indicate that the discarded queens can still be considered of good quality. This study highlights the importance of maintaining field records and conducting evaluations to establish a quality standard for Africanized *Apis mellifera* queens in Brazil, as well as to avoid premature queen replacement that could result in economic losses for producers.

Keywords: discarded queens, quality parameters, queen replacement, reproduction

Introdução

O sistema reprodutivo da abelha rainha apresenta uma complexa organização, com ovários pareados, que ocupam a maior parte de sua cavidade abdominal, conectados por

cálices aos ovidutos laterais, que se amalgamam para formar um oviduto mediano. Esse oviduto estabelece conexões vitais, vinculando-se dorsalmente à espermateca e caudalmente à porção terminal do trato reprodutivo (Kozii et al., 2022). Cada um dos ovários da rainha contém entre 110 e 211 ovariolos (Dedej et al, 1998; Jackson et al., 2011; Hatjina et al., 2014; Wei et al., 2019), estes, destacam-se por sua notável capacidade de produzir até 2000 ovos diariamente (Page & Erickson, 1988; Macedo et al., 2016).

Cada ovariolo exibe uma complexa organização em quatro regiões distintas: um filamento terminal curto, um germário de comprimento intermediário e um vitelário longo que culmina com o pedículo ovariano, todos revestidos por uma bainha epitelial (Aamidor et al., 2022). O filamento terminal, consiste em uma continuação da membrana peritoneal, contendo no interior, pilhas de células poliédricas pobres em organelas, com um grande núcleo central e um grande nucléolo (Berger & Cruz Landim, 2009). As células germinativas-tronco provavelmente estão localizadas na ponta do ovariolo no filamento terminal (Tanakae & Hartfelder, 2004).

No germário encontram-se células germinativas e somáticas. As células somáticas são as pré-foliculares e as germinativas são as ovogônias primárias e secundárias. O germário consiste em uma massa de células indiferenciadas, as quais, ao longo do desenvolvimento, dão origem a oócitos, células nutridoras e células foliculares (Kozii et al., 2022). As células nutridoras, nutrem os oócitos durante o crescimento inicial, enquanto as células foliculares atuam no aumento dos oócitos. A morfologia e tamanho do germário variam de acordo com a idade da rainha. Em rainhas recém-emergidas, o germário ocupa uma pequena porção na região basal do ovariolo enquanto em rainhas com 5 dias de idade ou mais, o germário ocupa quase 2/3 de seu comprimento (Berger & Cruz Landim, 2009).

Na porção distal do germário, os oócitos são organizados em uma única fileira, separados por câmaras de células nutridoras, marcando a transição para o vitelário (Aamidor et al., 2022). O vitelário possui oito estágios definidos pelo surgimento do oócito, pela formação de uma camada de células foliculares somáticas ao seu redor, as células nutridoras acompanhantes que formam uma câmara de células nutridoras e, os núcleos dos oócitos que são posicionados na parte anterior-dorsal (Wilson et al., 2011).

Nas rainhas africanizadas *A. mellifera* há um padrão de desenvolvimento ovariano bastante específico, o qual se divide em dois períodos: pré-vitelogênico ou antes do acasalamento (Tanaka & Hartfelder, 2004; Berger & Abdalla, 2005) e vitelogênico, após o acasalamento (Patrício & Cruz-Landim, 2002; Berger & Abdalla, 2005). Uma vez que a rainha tenha se acasalado, as células foliculares passam por vitelogênese, aumentando de tamanho (Tanaka & Hartfelder, 2004; Hartfelder et al., 2018).

Em um ovário de abelha rainha ativado, cada ovariolo contém vários oócitos (ovos imaturos) em diferentes estágios de desenvolvimento (Snodgrass, 1956; Büning, 1994). O número de ovariolos é um índice importante da fecundidade da rainha (Woyke, 1970) que não se altera ao longo da vida e está relacionado a origem, bem como, as condições de reprodução da mesma (Woyke, 1971; Gilley et al., 2003). Quanto mais ovariolos, mais ovos a rainha pode potencialmente colocar (Hatjina et al., 2014).

Também foi demonstrado que esta variável está correlacionada com outras características que determinam a qualidade da rainha, que incluem o peso e tamanho da rainha (Woyke, 1971; Huang & Zhi, 1985; He et al., 2017; Wei et al., 2019). Em *Drosophila melanogaster*, o número de ovariolos em moscas fêmeas está positivamente correlacionado com a produção de ovos (Boulétreau-Merle et al., 1982).

Características físicas, como peso da rainha e reprodutivas, como peso dos ovários e contagem de ovariolos por terem ligação com variáveis de desempenho da colônia como

produção de crias, produção de mel, peso da colônia e taxa de sobrevivência das rainhas, são usadas em países como a Grécia, a Eslovênia, a Itália, a Alemanha e os Estados Unidos, para fazer controle de qualidade das rainhas disponíveis no mercado (Jackson et al., 2011; Hatjina et al., 2014). Considerando a importância destas variáveis para qualificar uma rainha, pretende-se com este estudo, avaliar o peso vivo, o peso dos ovários e o número de ovariolos por ovário de rainhas *Apis mellifera* africanizadas descartadas de apiários comerciais localizados no estado de Santa Catarina (BR).

Material e métodos

Coleta de rainhas

Foram coletadas durante o ano de 2021, 137 abelhas rainhas *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) de descarte, procedentes de 28 apiários comerciais. Os apiários estão localizados nos municípios de Jupiá, São Lourenço do Oeste e Novo Horizonte estado de Santa Catarina (BR) e o número de rainhas coletadas por apiário variou de duas até 15 abelhas (Figura 1). A coleta das rainhas foi realizada seguindo as instruções do apicultor que indicou quais as colônias que poderiam ser orfanadas. O motivo do descarte da rainha foi principalmente a baixa produção de mel da colônia na safra, colônia fraca, falhas na postura da rainha ou rainhas que vieram de enxames coletados na natureza.



Figura 1. Localização dos apiários utilizados na pesquisa, municípios de Jupirá, São Lourenço do Oeste e Novo Horizonte, estado de Santa Catarina- Brasil (Adaptado de Krug et al., 2010).

O procedimento de orfanção foi realizado utilizando um cone com tela excludora de rainhas que permite o passo das operárias, mas impede o passo da rainha. Uma vez capturadas, as abelhas rainhas foram alocadas em gaiolas contendo 10 a 12 abelhas operárias acompanhantes da mesma colônia e, alimento *cândi* que consiste em uma mistura de mel com açúcar de confeitiro. Cada gaiola foi identificada com o nome do produtor, número da colmeia e motivo do descarte, e posteriormente, colocada em caixas de papelão arejadas. Durante a coleta e o transporte, as abelhas engaioladas tiveram acesso a água mediante um algodão embebido com água destilada. Finalmente, as rainhas foram transportadas até a unidade Experimental de Apicultura (UNEPE) da Universidade Tecnológica e Federal do estado do Paraná (UTFPR) para sua dissecação e processamento.

Dissecção e processamento das amostras

Para obtenção do peso das rainhas, elas foram acondicionadas em frascos de vidro de 20 mL e avaliadas em balança de precisão de 0,001 g (SHIMADZU/AX200, Quioto, Japão) (Figura 2A). Posteriormente, as rainhas foram eutanasiadas por decapitação e foram dissecadas utilizando um microscópio estereoscópio (DI-224, Piracicaba, São Paulo - Brasil). Para isso, o tórax e o abdômen das rainhas foram fixados dorsalmente em placa de Petri, contendo cera de abelha solidificada, com o auxílio de alfinetes niquelados, tamanho 29.

A dissecção do abdômen foi realizada com o auxílio de uma pinça e, consistiu em inserir uma tesoura na porção terminal, seguindo em direção ao tórax. Depois do corte, a região ventral do exoesqueleto foi removida, expondo os órgãos internos (Figura 1B). Os ovários foram removidos, pesados e armazenados em microtubos contendo solução fixadora *Bouin* para análises histológicas.

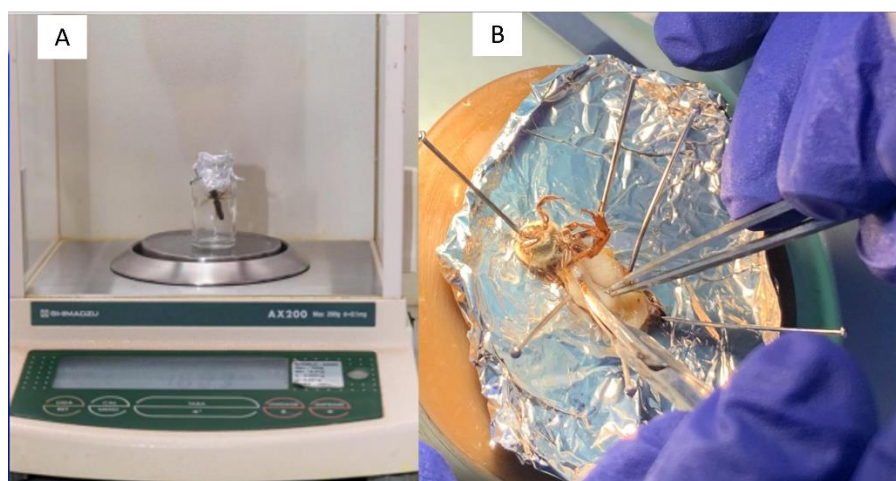


Figura 2. Avaliação das abelhas rainhas. (A) Pesagem em balança analítica e (B) dissecção do abdome e remoção dos ovários (Fonte: própria autora).

Para a quantificação dos ovaríolos foi seguida a metodologia proposta por Raulino-Domanski et al. (2019), a qual consiste na fixação dos ovários em solução de *Bouin*

alcoólico por uma hora a temperatura ambiente, posterior lavagem em álcool 70% (três vezes de 15 minutos), desidratação gradual em álcool (80%, 90%, e 95% por 10 minutos e duas trocas em álcool 100% com duração de 30 minutos cada), diafanização (álcool:xilol 1:1, por 30 minutos, e duas trocas de xilol com duração de 30 minutos cada), inclusão (parafina: xilol por 30 minutos, parafina por três horas) e infiltração em parafina. Após a obtenção dos cortes na porção mediana do ovário em micrótomo rotativo manual, as lâminas foram coradas em Hematoxilina/Eosina (Ribeiro et al., 2012) e quantificadas a partir do software Zen 3.5 Blue Edition (Figura 3A e B).

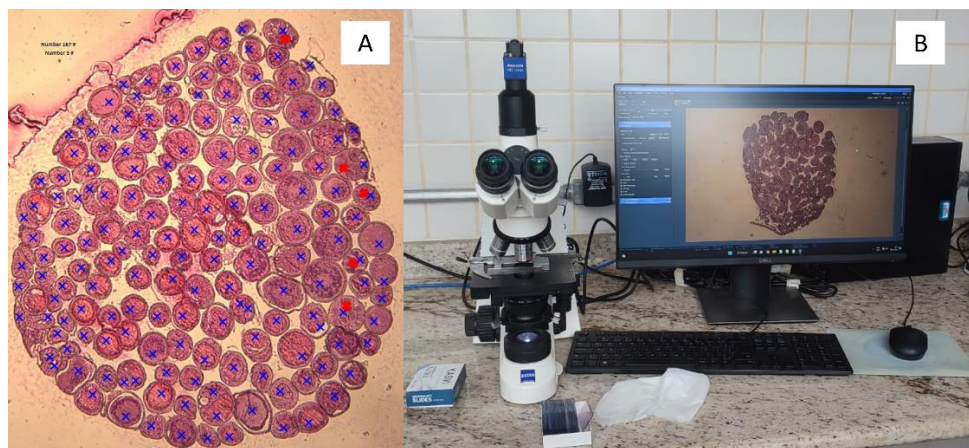


Figura 3. Processo de contagem de ovariolos. (A) Corte histológico do ovário e (B) contagem realizada no software Zen 3.5 Blue Edition. (Fonte: própria autora).

Análises estatísticas

As variáveis dependentes consideradas neste estudo foram a característica morfométrica da rainha, o peso da rainha e as características reprodutivas como o peso dos ovários esquerdo e direito e a contagem de ovariolos. Já o apiário foi considerado como variável independente. Todas as análises foram realizadas utilizando o programa R versão 4.2.3 (R Core Team, 2023). Para todas as características foram quantificadas a medida de posição e as diferenças nas dispersões de valores, visando compreender a

amplitude de distribuição das características avaliadas. Para isso, foi apresentado os valores de mediana, valores mínimos e máximos.

Para as análises de comparação, foram utilizadas duas classes de parâmetros: medida de tendência central e variação. A análise de tendência central foi realizada a partir dos valores da mediana, para as três características pois os dados não apresentavam normalidade dos resíduos. O teste de Kruskal-Wallis foi utilizado para comparação entre os apiários das variáveis avaliadas. Para todas as características foi aplicado o pós teste de Dunn, a fim de verificar quais apiários diferem entre si. Os resultados foram considerados estatisticamente diferentes quando $p < 0,05$.

Visando avaliar o peso e os parâmetros reprodutivos (peso dos ovários e contagem de ovariolos) e como estas variáveis se correlacionam entre si, foi montada uma matriz de correlação de Spearman. A análise foi conduzida a partir do coeficiente de correlação de Spearman, por este não precisar atender pressupostos lineares.

Resultados e Discussão

Os valores de mediana, mínimo e máximo das variáveis avaliadas por apiário são apresentados na Tabela 1, os apiários são representados por letras da A até Z2. Não foi observada diferença significativa entre apiários para a variável peso (Kruskal-Wallis test: $p = 0,68$) e nem para os parâmetros reprodutivos, peso do ovário direito (Kruskal-Wallis test: $p = 0,35$), peso do ovário esquerdo (Kruskal-Wallis test: $p = 0,25$), número de ovariolos no ovário direito (Kruskal-Wallis test: $p = 0,35$) e número de ovariolos no ovário esquerdo (Kruskal-Wallis test: $p = 0,28$).

A variável peso, é influenciada pelo método de criação das rainhas (Dodologlu, Emsen & Genc, 2004), idade da larva (Tarpay et al., 2000) e tamanho da cúpula usada na transferência (Mattiello et al., 2022). Tornando-se um critério utilizado para a seleção de

rainhas de alta qualidade devido à sua correlação positiva com vários outros parâmetros, como a produção de cria ($r = 0,90$), o número de espermatozoides na espermateca ($r = 0,97$), o diâmetro ($r = 0,98$) e, o volume da espermateca (0.258) (Gilley et al., 2003; Dodologlu et al., 2004; Akyol et al., 2008; Arslan et al., 2015; Arslan et al., 2021).

Tabela 1. Descrição das variáveis avaliadas por apiário a partir dos valores de mediana, mínimo e máximo para abelhas rainhas (*A. mellifera*) africanizadas.

Apiário	Rainhas (n)		Peso (mg)	Ovariolos esquerdo (n)	Ovariolos direito (n)
A	5	Mediana	186,3	186	157
		Mínimo	151	90	85
		Máximo	206,8	289	164
B	9	Mediana	197,7	139	162
		Mínimo	153,5	58	105
		Máximo	217,7	217	287
C	8	Mediana	194,9	148	168
		Mínimo	190,5	115	111
		Máximo	214,1	302	250
D	3	Mediana	187,6	145	107
		Mínimo	181,4	115	102
		Máximo	201,4	159	126
E	2	Mediana	192,55	235,5	176,5
		Mínimo	189,1	209	174
		Máximo	196	262	179
F	11	Mediana	197,3	159	152
		Mínimo	143	70	108
		Máximo	219,4	276	194
G	2	Mediana	197,05	80	133,5
		Mínimo	189,1	80	91
		Máximo	205	80	176
H	1	Mediana	186,3	84	70
		Mínimo	186,3	84	70
		Máximo	186,3	84	70
I	1	Mediana	155,8	141	155,8
		Mínimo	155,8	141	155,8
		Máximo	155,8	141	155,8
J	2	Mediana	211	166	122
		Mínimo	208,4	147	108
		Máximo	213,6	185	136

K	3	Mediana	185,7	185	102
		Mínimo	152,5	161	86
		Máximo	209,5	209	286
L	5	Mediana	198,4	150	173
		Mínimo	165,8	119	139
		Máximo	215,1	162	188
M	4	Mediana	184,75	172,5	153
		Mínimo	167,5	141	125
		Máximo	214,4	200	195
N	8	Mediana	184,15	156	138,5
		Mínimo	164	105	88
		Máximo	202,6	190	231
O	3	Mediana	185,8	165	164
		Mínimo	178	132	159
		Máximo	217,3	235	181
P	6	Mediana	189	162,5	140,5
		Mínimo	156,9	122	93
		Máximo	202,8	272	160
Q	2	Mediana	178,4	150,5	145
		Mínimo	163,8	91	130
		Máximo	193	210	160
R	2	Mediana	183,7	228	266,5
		Mínimo	169,3	212	243
		Máximo	198,1	244	290
S	2	Mediana	192,9	132	135
		Mínimo	175,8	132	135
		Máximo	210	132	135
T	4	Mediana	199,85	139	150
		Mínimo	147,3	58	89
		Máximo	208,6	217	184
U	7	Mediana	200,35	163	155,5
		Mínimo	168,1	127	93
		Máximo	217,5	167	250
V	6	Mediana	199,9	162	160
		Mínimo	182,3	123	130
		Máximo	214,1	198	186
W	15	Mediana	174,4	140	149
		Mínimo	115,5	76	225
		Máximo	230,4	280	135
X	2	Mediana	193	136,5	115
		Mínimo	181,2	105	138
		Máximo	204,8	168	103,5
Y	3	Mediana	187,1	158	174
		Mínimo	139,8	151	132
		Máximo	197,3	197	194
Z	9	Mediana	187	243	156

		Mínimo	161,1	148	142
		Máximo	199,5	340	198
Z1	2	Mediana	198,65	141	134,5
		Mínimo	195,5	141	91
		Máximo	201,8	141	178
Z2	9	Mediana	183,7	166	158
		Mínimo	157,7	81	68
		Máximo	222,1	240	226

Para as 137 rainhas avaliadas, a variável peso vivo apresentou valores compreendidos entre 115,5 e 230,4 mg com mediana de 191,4 mg (Tabela 2). Akyol et al. (2008) classificaram as rainhas em diferentes categorias com base em seus pesos à emergência, resultando na formação de três grupos: leve (<185 mg), médio (185–199 mg) e pesada (>200 mg). Nessa perspectiva, o peso obtido neste experimento classifica as rainhas na categoria médio o que é um resultado bom quando considerarmos que são rainhas de descarte.

As rainhas com peso igual ou superior a 200 mg são consideradas de alta qualidade, elas exibem uma taxa de aceitação aproximadamente 10% maior na colônia, iniciam a postura aproximadamente um dia antes, apresentam um maior diâmetro da espermateca, armazenam mais espermatozoides nesse órgão e produzem mais crias 30 dias após o início da postura. Além disso, têm significativamente mais chances de sobreviver em lutas fatais durante as épocas reprodutivas da colônia conforme relatado por Tarpy & Mayer (2009).

A capacidade de produção de crias é um dos principais fatores que regula a expansão e reprodução da colônia e, gera colônias populosas e fortes. Além da viabilidade da prole, o sucesso na produção de crias é atribuído à eficiência da colônia em converter alimento em biomassa (Page, 1980). Em abelhas *Apis mellifera* africanizadas, as rainhas pesadas (>200mg) melhoram a área de cria e, assim, a taxa de expansão populacional. O aumento da população, faz com que colônias de rainhas pesadas precisem ser transferidas para

colmeias maiores cerca de 24 dias antes, em comparação com colônias de rainhas leves (Souza et al., 2013).

Tabela 2. Descrição das características morfométricas e reprodutivas para a população total de rainhas de descarte.

Rainhas (n = 137)	Peso (mg)	Peso do ovário esquerdo (mg)	Peso do ovário direito (mg)	Ovariólos/ Ovário esquerdo (n)	Ovariólos/ Ovário direito (n)
Mediana	191,4	22,70	21,90	159,0	153,5
Mínimo	115,5	2,00	1,90	58,0	68,0
Máximo	230,4	37,70	39,70	340,0	290,0

Do mesmo modo, as variáveis peso dos ovários e número de ovariólos por ovário também são consideradas medidas de qualidade reprodutiva da rainha. Com relação ao peso dos ovários, houve uma variação de 2 a 37,7 mg com mediana de 22,7 mg para o ovário esquerdo e, variação de 1,90 a 39,70 mg com mediana de 21,90 mg para o ovário direito (Tabela 2). Estes resultados diferem do relatado por Kahya, Gençer & Woyke (2008) para rainhas acasaladas. O peso dos ovários de rainhas classificadas segundo o peso a emergência, como leve (186,5 mg), moderado (194,4 mg) e pesado (209,0 mg) foi de 52, 54,8 e 54,4 mg respectivamente sem diferenças significativas entre grupos.

No entanto, quando os autores avaliaram a rainha segundo o peso aos 30 dias após a oviposição, leve (<210 mg), moderado (210-220 mg) e pesadas (220 mg), o peso dos ovários teve diferenças significativas com 50,8 mg, 53,1 mg e 58,3m g, respectivamente (Kahya, Gençer & Woyke, 2008). O peso dos ovários não depende apenas do número de ovariólos, mas também do número e estágio de desenvolvimento dos ovos nos ovariólos, que por sua vez dependem da taxa de atividade de postura de ovos de uma rainha (Hatjina et al., 2015).

Avetisyan (1961) e Woyke (1971) afirmam que, o número de ovariolos, é uma característica que não se altera durante toda a vida da rainha e, está relacionado à sua origem, bem como às condições de reprodução. Quanto mais ovariolos, mais ovos a rainha potencialmente pode colocar (Cohet & David, 1978). Vários fatores podem afetar o número de ovariolos, incluindo o peso corporal (Kahya et al. 2008), o peso a emergência (Woyke, 1971), a idade da larva transferida (Dedej et al. 1998), a redução na expressão do gene 4-coumarate--CoA Ligase (*4CL*, *Loc726040*) (Zhang et al., 2022) o uso de neonicotinoides (Kozii et al., 2021) e estressores, como doenças, que podem causar deterioração ovariana (Gauthier et al., 2011; Amiri et al., 2017).

Uma rainha de qualidade deve ter cerca de 150 ovariolos (Ruttner, 1983; Carreck et al., 2013). Hatjina et al. (2014) relataram que abelhas rainhas *Apis mellífera carnica* de qualidade tinham em média $160,94 \pm 14,97$ ovariolos no ano de 2006 e $149,09 \pm 15,57$ ovariolos no ano 2008. As rainhas avaliadas no presente estudo, apresentaram valores que variaram de 58 a 340 ovariolos para o ovário esquerdo, com mediana de 159 e para o ovário direito o número de ovariolos foi de 68 a 290 com mediana de 153,5 ovariolos (Tabela 2). Segundo Delaney et al. (2011) e Jackson et al. (2011), o número de ovariolos por ovário, varia de 100 a 180. No Brasil, rainhas africanizadas avaliadas cinco meses após o acasalamento apresentaram $115,2 \pm 64,3$ ovariolos no ovário direito e $118,0 \pm 40,2$ ovariolos no ovário esquerdo (Raulino-Domanski et al., 2019). Comparado com estes estudos, os nossos resultados indicam que as rainhas que foram descartadas pelos apicultores no estado de Santa Catarina, ainda se encaixam nos valores esperados para rainhas de qualidade.

A criação de rainhas é uma atividade importante na apicultura que garante a disponibilidade de rainhas de qualidade. Com base nisso, criar rainhas produtivas é uma prioridade para o setor apícola. Os resultados do número total de ovariolos estão

representados no boxplot da Figura 4. O eixo vertical representa a contagem de ovariólos que resultou da soma dos ovariólos do ovário esquerdo e direito, enquanto no eixo horizontal estão representados os apiários onde foi realizada a coleta das rainhas, representados por letras, de A para o primeiro apiário até a Z2 para o 28º apiário. A linha horizontal dentro do box indica a mediana do número total de ovariólos em cada apiário e, a extensão do box representa o intervalo inter quartil que fornece uma medida da dispersão dos dados ao redor da mediana. As maiores medianas foram observadas nos apiários R, E, Z, C e K. No entanto, não houve diferenças significativas entre as medianas dos 28 apiários. Observou-se as maiores dispersões nos apiários C, F, K, U e Z, e as menores nos apiários D, E, J, R e V. Também foi observada a presença de outliers no apiário B.

O número total de ovariólos nas 137 rainhas variou de 154 a 532 com mediana de 318,5 ovariólos (Figura 4). Em consonância, Jackson et al. (2011) reportaram uma variação de 233 a 438 ovariólos com mediana de 320 ovariólos para rainhas obtidas de apiários comerciais localizados nas regiões Sudeste e Oeste dos Estados Unidos. Cada um destes ovariólos pode produzir entre 3 e 5 ovos por dia (Gauthier, 2011). Isso significa que todos os dias a rainha poderia colocar até 2000 ovos, os quais, em peso, correspondem ao peso médio da própria rainha (Büchler et al., 2013).

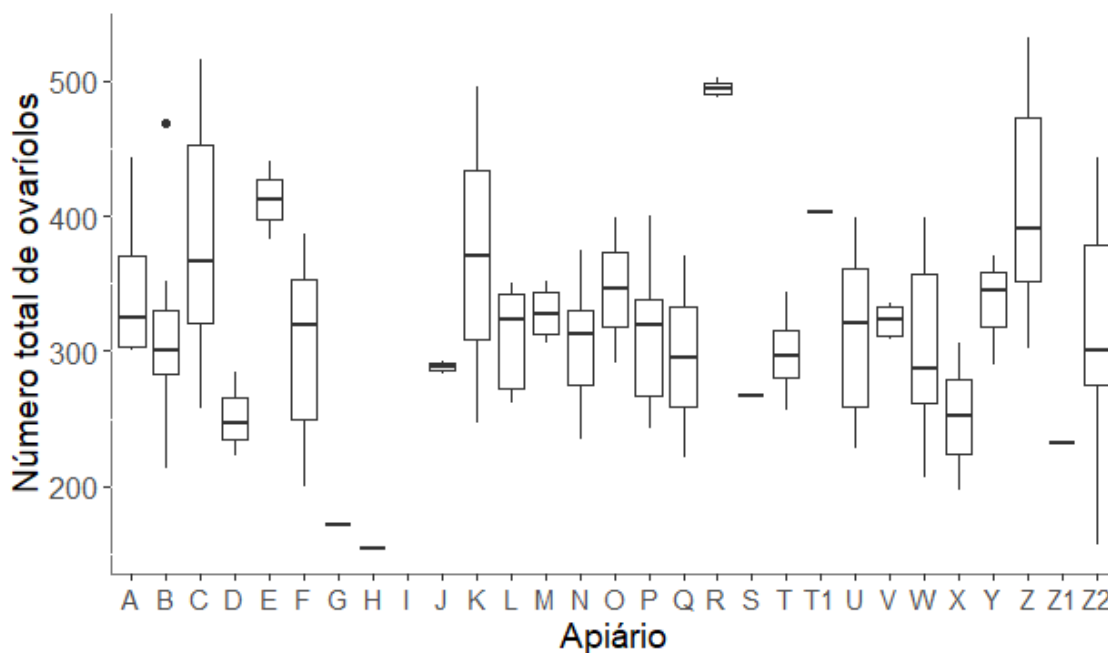


Figura 4. Boxplot do número total de ovariólos (soma das contagens dos ovários direito e esquerdo) em uma amostra de 137 rainhas *Apis mellifera* obtidas de apiários comerciais.

Para Porporato et al. (2015), abelhas *Apis mellifera ligustica* comerciais recém acasaladas, apresentavam peso corporal e número de ovariólos de 186 mg e 74,45 ovariólos (contagem realizada unicamente no ovário direito), respectivamente. Porém, rainhas velhas, com baixa produtividade e consideradas pelos apicultores como rainhas de descarte, tiveram peso de 210 mg e 81,63 ovariólos no ovário direito. Os autores ainda ressaltam que 75% das rainhas de descarte, apresentavam até seis defeitos por rainha, incluindo defeitos físicos aparentes como coloração anormal e tamanho reduzido e, mostravam anomalias anatômicas y funcionais como melanosis, atrofia ou hipoplasia ovariana e anormalidades na espermateca (Porporato et al., 2015).

Além disso, os efeitos maternos em abelhas rainhas são vitais para o desenvolvimento da rainha e para a aptidão geral da colônia. Rainhas criadas a partir de ovos provenientes de realeiras tem maior peso corporal, mais ovariólos e níveis de expressão gênica e metilação de DNA diferentes quando comparadas às rainhas criadas com ovos ou larvas jovens provenientes de células de operárias (Wei et al., 2019; He et

al., 2021). Igualmente, o número de ovariolos foi mais alto e significativamente diferente em rainhas criadas a partir de ovos de realeiras quando comparadas com rainhas criadas a partir de ovos e larvas de operária com dois dias de idade (Yu et al., 2023).

Gregorc e Škerl (2015), estabeleceram, com base em 888 abelhas rainhas (*Apis mellifera carnica*) fecundadas, um padrão para a criação e acasalamento de rainhas de qualidade na Eslovênia. Em que, as rainhas devem estar livres de *Nosema*, pesar 206 mg, ter uma média de 149 ovariolos e ser capazes de armazenar em média cerca de 4 milhões de espermatozoides.

Correlação de Spearman

A relação entre peso da rainha e peso do ovário esquerdo e direito foi de 8,43 mg e 8,74 mg, respectivamente. A proporção do peso dos ovários esquerdo e direito em relação ao peso total da rainha foi de 11,86% e 11,44%, respectivamente. Na Figura 5 observa-se que a correlação, apresentou uma variação de 0,03 a 0,81, houve correlação baixa entre o peso da rainha e o peso do ovário direito ($r = 0,2$, $p < 0,05$), mas, não foi encontrada correlação entre peso da rainha e o peso do ovário esquerdo ($r = 0,17$, $p > 0,05$). De acordo com Kahya et al. (2008), o peso corporal da rainha um mês após o início da oviposição está correlacionado com o peso do ovário fresco ($r = 0,688$, $p < 0,01$). Assim, o fator peso poderia ser usado para prever altas taxas de produção, o que é de interesse para programas de melhoramento genético, por exemplo.

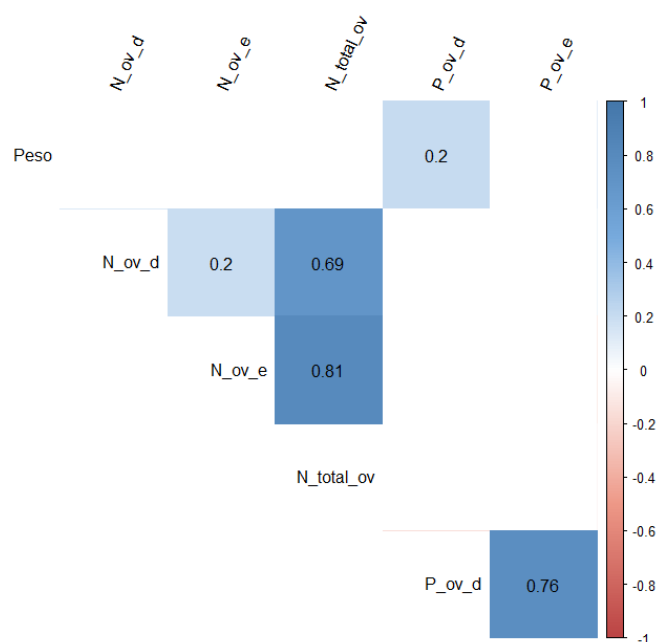


Figura 5. Correlação de Spearman para as variáveis peso da rainha (Peso), número de ovariolos no ovário direito (N_ov_d) e esquerdo (N_ov_e), número total de ovariolos (N_total_ov) e peso do ovário direito (P_ov_d) e esquerdo (P_ov_e). A cor azul indica correlação positiva e vermelho correlação negativa, quanto maior a intensidade da cor, maior é a força da correlação. O branco indica ausência de correlação.

Da mesma forma, não houve correlação entre o peso da rainha e a contagem de ovariolos no ovário esquerdo ($r = 0,030$, $p > 0,05$) e entre o peso da rainha e a contagem de ovariolos no ovário direito ($r = 0,081$, $p > 0,05$) ou total ($r = 0,0539$, $p > 0,05$). Similarmente, o peso do ovário direito e o número de ovariolos direito ($r = -0,048$, $p > 0,05$) não tiveram correlação e nem o peso do ovário esquerdo e número de ovariolos esquerdo ($r = -0,035$, $p > 0,05$) (Figura 5).

Levesque et al. (2023), reportaram correlação positiva alta entre o peso da rainha e o peso dos ovários (Spearman $r = 0,73$, $p = 0,04$) para rainhas fecundadas estocadas em colônias banco e em abelhas controle alocadas em colmeias com uma única rainha (Spearman $r = 0,86$, $p < 0,0001$) no Canadá. Gregorc e Škerl. (2015) na avaliação de 888

rainhas comerciais de cinco regiões da Eslovênia nos anos, 2006, 2008 e 2010, também relataram correlações de Pearson positivas entre o peso da rainha e o peso do ovário ($r = 0,5243$, $p < 0,001$) e, entre o peso do ovário e o número de ovariolos ($r = 0,2641$, $p < 0,05$).

Williams et al. (2015) não encontraram correlações significativas entre o peso a emergência e o número de ovariolos em abelhas *Apis mellifera carnica* suplementadas com pólen tratado com neonicotinoides. Jackson et al. (2010) também relataram que não houve correlação entre o peso da rainha e o número total de ovariolos (Spearman $r = -0,226$, $p = 0,053$) de 75 abelhas *A. mellifera* comerciais nos Estados Unidos.

No entanto, muitos estudos têm mostrado que o peso e o tamanho corporal da rainha estão fortemente correlacionados com o número de ovariolos, o que influencia a fecundidade e a qualidade da rainha (He et al., 2017; Wei et al., 2019). Hatjina et al. (2014) encontraram uma correlação estatisticamente significativa entre o peso da rainha e o número de ovariolos para rainhas inseminadas instrumentalmente ($n = 27$, $R^2 = 0,325$, $p < 0,01$), mas não para as rainhas acasaladas naturalmente ($n = 47$, $R^2 = 0,002$, $p = 0,766$).

Em nossos resultados, houve correlação positiva e alta entre o número de ovariolos esquerdo e direito ($r = 0,81$, $p < 0,05$) e o número de ovariolos total ($r = 0,69$, $p < 0,05$), provavelmente, devido ao fato de que o número de ovariolos total resultou da soma dos ovariolos em cada ovário.

Conclusões

O estudo de características morfológicas e reprodutivas das abelhas rainhas e como estas se correlacionam, permite estabelecer um padrão de qualidade de rainha que por sua vez pode permitir o desenvolvimento de um protocolo para descarte adequado das rainhas. Neste estudo não houve diferença significativa entre apiários para nenhuma das variáveis

avaliadas em abelhas *Apis mellifera* africanizadas e, os valores de mediana para peso vivo, peso dos ovários e contagem de ovariolos encontram-se dentro do esperado em rainhas de qualidade. Assim, conclui-se que deve ser realizado um maior controle dos registros a campo destas rainhas nos apiários para evitar trocas desnecessárias que atrasem o desempenho das colônias e, prejudiquem o sucesso econômico na apicultura.

Referências

- Aamidor, S. E., Cardoso-Júnior, C. A., Harianto, J., Nowell, C. J., Cole, L., Oldroyd, B. P., & Ronai, I. (2022). Reproductive plasticity and oogenesis in the queen honey bee (*Apis mellifera*). *Journal of Insect Physiology*, *136*, 104347. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2021.104347>
- Amiri, E., Strand, M. K., Rueppell, O., & Tarpy, D. R. (2017). Queen quality and the impact of honey bee diseases on queen health: potential for interactions between two major threats to colony health. *Insects*, *8*(2), 48. <https://doi.org/10.3390/insects8020048>
- Arslan, S., Cengiz, M. M., Gül, A., & Sayed, S. (2021). Evaluation of the standards compliance of the queen bees reared in the Mediterranean region in Turkey. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *28*(5), 2686-2691. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.03.009>
- Arslan, S., Güler, A., & Arslan, H. S. (2015). Quality criteria and standards compliance with grown queen bee at Mediterranean region in Turkey. In *International Conference on Engineering and Natural Science* (pp. 211-220). <https://doi.org/10.31467/uluaricilik.710209>
- Akyol, E., Yeninar, H., & Kaftanoglu, O. (2008). Live weight of queen honey bees (*Apis mellifera* L.) predicts reproductive characteristics. *Journal of the Kansas Entomological Society*, *81*(2), 92-100. <https://doi.org/10.2317/JKES-705.13.1>

- Berger, B., & Abdalla, F. C. (2005). Programmed germ cell differentiation during ovary stages of oogenesis in caged virgin and fecundated queens of *Apis mellifera* Linné, 1758 (Hymenoptera, Apini). *Braz. J. Morphol. Sci*, 22(1), 1-4.
- Berger, B., & Cruz-Landim, C. (2009). Ultrastructural analysis of the effect of mating delay on cell death in the ovaries of virgin honey bee (*Apis mellifera* L.) queens. *Journal of apicultural research*, 48(1), 60-66.
<https://doi.org/10.3896/IBRA.1.48.1.12>
- Büchler, R., Andonov, S., Bienefeld, K., Costa, C., Hatjina, F., Kezic, N., ... & Wilde, J. (2013). Standard methods for rearing and selection of *Apis mellifera* queens. *Journal of Apicultural Research*, 52(1), 1-30. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.52.1.07>
- Boulétreau-Merle, J., Allemand, R., Cohet, Y., & David, J. R. (1982). Reproductive strategy in *Drosophila melanogaster*: significance of a genetic divergence between temperate and tropical populations. *Oecologia*, 53, 323-329.
<https://doi.org/10.1007/BF00389008>
- Büning, J. (1994). *The insect ovary: ultrastructure, previtellogenic growth and evolution*. Springer Science & Business Media.
<http://dx.doi.org/10.1080/07924259.1995.9672486>
- Carreck, N. L., Andree, M., Brent, C. S., Cox-Foster, D., Dade, H. A., Ellis, J. D., ... & Van Engelsdorp, D. (2013). Standard methods for *Apis mellifera* anatomy and dissection. *Journal of Apicultural Research*, 52(4), 1-40.
<https://doi.org/10.3896/IBRA.1.52.4.03>
- Dedej, S., Hartfelder, K., Aumeier, P., Rosenkranz, P., & Engels, W. (1998). Caste determination is a sequential process: effect of larval age at grafting on ovariole number, hind leg size and cephalic volatiles in the honey bee (*Apis mellifera*

- carnica*). *Journal of Apicultural Research*, 37(3), 183-190.
<https://doi.org/10.1080/00218839.1998.11100970>
- Dodologlu, A., Emsen, B., & Gene, F. (2004). Comparison of some characteristics of queen honey bees (*Apis mellifera* L.) reared by using Doolittle method and natural queen cells. *Journal of Applied Animal Research*, 26(2), 113-115.
<https://doi.org/10.1080/09712119.2004.9706518>
- Gauthier L. (2011) La qualité des reines (et des mâles). *Revue Suisse d'Apiculture* 4: 16-24.
- Gilley, D. C., Tarry, D. R., & Land, B. B. (2003). Effect of queen quality on interactions between workers and dueling queens in honeybee (*Apis mellifera* L.) colonies. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 55, 190-196.
<https://doi.org/10.1007/s00265-003-0708-y>
- Gregorc, A., & Škerl, M. I. S. (2015). Characteristics of honey bee (*Apis mellifera carnica*, Pollman 1879) queens reared in Slovenian commercial breeding stations. *Journal of apicultural science*, 59(2), 5-12. <https://doi.org/10.1515/JAS-2015-0016>
- Hartfelder, K., Tiberio, G. J., Lago, D. C., Dallacqua, R. P., & Bitondi, M. M. G. (2018). The ovary and its genes developmental processes underlying the establishment and function of a highly divergent reproductive system in the female castes of the honey bee, *Apis mellifera*. *Apidologie*, 49, 49-70. <https://doi.org/10.1007/s13592-017-0548-9>
- Hatjina, F., Bienkowska, M., Charistos, L., Chlebo, R., Costa, C., Dražić, M. M., ... & Wilde, J. (2014). A review of methods used in some European countries for assessing the quality of honey bee queens through their physical characters and the performance of their colonies. *Journal of Apicultural Research*, 53(3), 337-363.
<https://doi.org/10.3896/IBRA.1.53.3.02>

- He, X. J., Zhou, L. B., Pan, Q. Z., Barron, A. B., Yan, W. Y., & Zeng, Z. J. (2017). Making a queen: an epigenetic analysis of the robustness of the honeybee (*Apis mellifera*) queen developmental pathway. *Molecular Ecology*, 26(6), 1598-1607. <https://doi.org/10.1111/mec.13990>
- Jackson, J. T., Tarpy, D. R., & Fahrbach, S. E. (2011). Histological estimates of ovariole number in honey bee queens, *Apis mellifera*, reveal lack of correlation with other queen quality measures. *Journal of insect science*, 11(1), 82. <https://doi.org/10.1673/031.011.8201>
- Kahya, Y., Gençer, H. V., & Woyke, J. (2008). Weight at emergence of honey bee (*Apis mellifera caucasica*) queens and its effect on live weights at the pre and post mating periods. *Journal of Apicultural Research*, 47(2), 118-125. <https://doi.org/10.1080/00218839.2008.11101437>
- Krug, C., Alves-dos-Santos, I., & Cane, J. (2010). Visiting bees of *Cucurbita* flowers (Cucurbitaceae) with emphasis on the presence of *Peponapis fervens* Smith (Eucerini-Apidae)–Santa Catarina, southern Brazil. *Oecologia Australis*, 14(1), 128-139.
- Kozii, I. V., Wood, S. C., Koziy, R. V., & Simko, E. (2022). Histomorphological description of the reproductive system in mated honey bee queens. *Journal of Apicultural Research*, 61(1), 114-126. <https://doi.org/10.1080/00218839.2021.1900636>
- Levesque, M., Rousseau, A., & Giovenazzo, P. (2023). Impacts of indoor mass storage of two densities of honey bee queens (*Apis mellifera*) during winter on queen survival, reproductive quality and colony performance. *Journal of Apicultural Research*, 62(2), 274-286. <https://doi.org/10.1080/00218839.2022.2126613>
- Macedo, L. M. F., Nunes, F. M. F., Freitas, F. C. D. P., Pires, C. V., Tanaka, E. D., Martins, J. R., ... & Simões, Z. L. P. (2016). MicroRNA signatures characterizing

- caste-independent ovarian activity in queen and worker honeybees (*Apis mellifera* L.). *Insect molecular biology*, 25(3), 216-226. <https://doi.org/10.1111/imb.12214>
- Mattiello, S., Rizzi, R., Cattaneo, M., Martino, P. A., & Mortarino, M. (2022). Effect of queen cell size on morphometric characteristics of queen honey bees (*Apis mellifera* ligustica). *Italian Journal of Animal Science*, 21(1), 532-538. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2022.2043790>
- Page Jr, R. E. (1980). The evolution of multiple mating behavior by honey bee queens (*Apis mellifera* L.). *Genetics*, 96(1), 263-273. <https://doi.org/10.1093/genetics/96.1.263>
- Patrício, K., & Cruz-Landim, C. (2002). Mating influence in the ovary differentiation in adult queens of *Apis mellifera* L. (Hymenoptera, Apidae). *Brazilian Journal of Biology*, 62, 641-649. <https://doi.org/10.1590/S1519-69842002000400012>
- Porporato, M., Grillone, G., Patetta, A., Manino, A., & Laurino, D. (2015). Survey of the health status of some honey bee queens in Italy. *Journal of apicultural science*, 59(2), 27-36. <https://doi.org/10.1515/JAS-2015-0022>
- R Core Team (2023). R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing.
- Raulino-Domanski, F., Potrich, M., Freitas, P. F., Abdalla, F. C., Martins, E. N., Lourenco, D. A., & Costa-Maia, F. M. (2019). Optimized histological preparation of ovary for ovariole counting in Africanized honey bee queens (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Insect Science*, 19(2), 12. <https://doi.org/10.1093/jisesa/iez01>
- Ribeiro, C. O., Reis Filho, H. S., & Grotzner, S. R. (2012). Técnicas e métodos para utilização prática em microscopia. São Paulo: GEN-Grupo Editorial Nacional, Editora Santos, 1, 440.

- Ruttner, F. (1983). Queen rearing: Biological basis and technical instruction Apimondia Publishing House. *Bucharest, Romania*.
- Snodgrass, R. E. (1956). *Anatomy of the honey bee*. Cornell University Press.
- Souza, D. A., Bezzerla-Laure, M. A. F., Francoy, T. M., & Gonçalves, L. S. (2013). Experimental evaluation of the reproductive quality of Africanized queen bees (*Apis mellifera*) on the basis of body weight at emergence. *Genetics and Molecular Research, 12*(4), 5382-5391. <http://dx.doi.org/10.4238/2013.November.7.13>
- Tanaka, E. D., & Hartfelder, K. (2004). The initial stages of oogenesis and their relation to differential fertility in the honey bee (*Apis mellifera*) castes. *Arthropod Structure & Development, 33*(4), 431-442 <https://doi.org/10.1016/j.asd.2004.06.006>
- Tarpy, D. R., Hatch, S., & Fletcher, D. J. (2000). The influence of queen age and quality during queen replacement in honeybee colonies. *Animal behaviour, 59*(1), 97-101. <https://doi.org/10.1006/anbe.1999.1311>
- Tarpy, D. R., & Mayer, M. K. (2009). The effects of size and reproductive quality on the outcomes of duels between honey bee queens (*Apis mellifera* L.). *Ethology Ecology & Evolution, 21*(2), 147-153. <https://doi.org/10.1080/08927014.2009.9522503>
- Wei, H., He, X. J., Liao, C. H., Wu, X. B., Jiang, W. J., Zhang, B., ... & Zeng, Z. J. (2019). A maternal effect on queen production in honeybees. *Current Biology, 29*(13), 2208-2213. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.05.059>
- Wilson, M. J., Abbott, H., & Dearden, P. K. (2011). The evolution of oocyte patterning in insects: multiple cell-signaling pathways are active during honeybee oogenesis and are likely to play a role in axis patterning. *Evolution & development, 13*(2), 127-137. <https://doi.org/10.1111/j.1525-142X.2011.00463.x>
- Woyke, J. (1971). Correlations between the age at which honeybee brood was grafted, characteristics of the resultant queens, and results of insemination. *Journal of*

Apicultural Research, 10(1), 45-55.

<https://doi.org/10.1080/00218839.1971.11099669>

Yu, L., He, X., Shi, X., Yan, W., & Wu, X. (2023). Honey bee maternal effects improve worker performance and reproductive ability in offspring. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 11, 1156923. <https://doi.org/10.3389/fcell.2023.1156923>