

Universidade Federal Do Piauí

**Fluxo gênico de *Apis mellifera* L. nos estados do Piauí e Ceará:
uma análise molecular**

Eliene Pereira de Oliveira

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Piauí como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento para a obtenção do título de “Mestre”.

**Teresina
2017**

Eliene Pereira de Oliveira
Licenciada em Ciências Biológicas

**Fluxo gênico de *Apis mellifera* L. nos estados do Piauí e Ceará: uma análise
molecular**

Orientador: Dr. Fábio Barros Britto
Coorientador: Dr. Darcet Costa Souza

**Dissertação apresentada à Universidade
Federal do Piauí como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em Genética e
Melhoramento para a obtenção do título de
“Mestre”.**

Teresina
2017

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Piauí
Biblioteca Setorial do Centro de Ciências Agrárias
Serviço de Processamento Técnico

O48f Oliveira, Eliene Pereira de
Fluxo gênico de *Apis mellifera* L. nos estados dos Piauí e Ceará:
uma análise molecular. / Eliene Pereira de Oliveira - 2017.
49 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento)– Universi-
dade Federal do Piauí, Programa de Pós-Graduação, Teresina, 2017.
Orientação: Dr. Fábio Barros Britto

1. Abelhas africanizadas 2. Polimorfismo genético 3. SSR
4. Enxameação I.Título

CDD 638.1

Fluxo gênico de *Apis mellifera* L. nos Estados do Piauí e Ceará: uma análise molecular

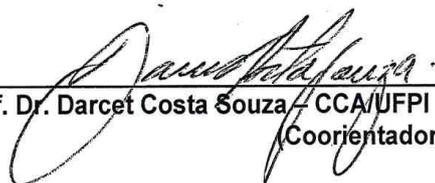
**Eliene Pereira de Oliveira
Licenciada em Ciências Biológicas**

Aprovada em 29/05/2017

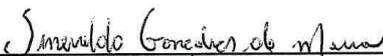
Comissão Julgadora:



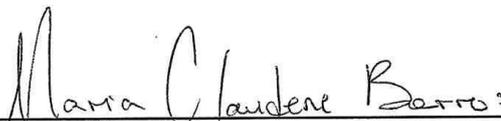
**Prof. Dr. Fábio Barros Britto CCN/UFPI
(Orientador)**



**Prof. Dr. Darcet Costa Souza – CCA/UFPI
(Coorientador)**



Prof. Dr. Sinivaldo Gonçalves de Moura – CPCE/UFPI



Profa. Dra. Maria Claudene Barros – UEMA

Ofereço,

Aos ex e futuros alunos, incentivo para busca do conhecimento.

Dedico aos amigos:

*José Filho (in memoriam) e Nena Barbosa (in memoriam), pelos exemplos de força,
de luta e de fé; pela alegria e pela vontade de viver;*

*Fernanda Gomes e Eugênia Cristina, pelo companheirismo, por todo o apoio, por
acreditarem e me fazerem acreditar que era possível;*

A todos vocês, por não me deixarem desistir.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela vida, pela família, pelos amigos, pelo amparo, por ter colocado verdadeiros “anjos” no meu caminho, por ser fonte de força e de amor;

À Universidade Federal do Piauí, à coordenação e aos professores do programa de Pós-Graduação em Genética e melhoramento, por todas as oportunidades e ensinamentos;

Ao professor Fábio Britto, pela paciência ao orientar, pela generosidade em compartilhar seus conhecimentos, pela disponibilidade em auxiliar no esclarecimento de tantas dúvidas, que foram surgindo durante cada etapa de execução deste trabalho, pela tranquilidade, pela confiança que nos anima naqueles momentos de cansaço e incertezas, por tudo, muito obrigada PROFESSOR!

Ao professor Darcet Souza, por todas as contribuições, pelas conversas produtivas e fundamentais para construção do conhecimento, agradeço também pela simpatia e atenção com que me auxiliou, sempre que busquei por sua ajuda;

Ao professor Lindenberg Sarmiento e a todos os funcionários e colegas do Laboratório de Genética, do departamento de Zootecnia. Especialmente Aurino, Soraya, Abigail, Ivamara e Bruna, pelo companheirismo e disponibilidade em ajudar;

À amiga Vanessa Neri, por ter compartilhado tantos momentos difíceis. Aprendemos a respeitar nossos limites, falhas, imperfeições e construímos uma amizade;

Ao grupo do Laboratório de Biologia Molecular do CCN, principalmente Gisele e Ana Maçal. Agradeço de forma especial à colaboração e companheirismo do amigo André, que esteve ao meu lado em momentos importantes do trabalho;

Ao Geice e a Débora por todas as contribuições e pelas conversas esclarecedoras;
Ao Jesuíno, pelo auxílio, ainda no início desta caminhada, e pelos bons conselhos;

Às secretarias de Educação do estado do Piauí (SEDUC-PI) e do município de Campo Maior (SEMEC-CM), por ter facilitado a realização do curso de mestrado;

A todos os colegas de profissão e aos meus ex-alunos, da Escola Patronato Nossa Senhora de Lourdes, que de forma muito carinhosa me incentivaram e acreditaram que eu seria capaz de concretizar este sonho;

Aos amigos de turma que foram essenciais nessa caminhada, pois eu não estaria aqui se não fosse pelo olhar carinhoso e protetor de Eugênia Cristina, que me acolheu e me mostrou que pelo trabalho e pela fé conseguimos alcançar nossos objetivos. Agradeço pela amizade sincera, a serenidade e a sabedoria de Fernanda Gomes, que me presenteou com sua companhia e mostrou que nós sempre podemos ir mais além. Ao apoio, tantas vezes ofertado por Jéssica Bárbara, sua generosidade e sua força, são exemplos que procuro seguir.

Obrigada Raquel Veras, pelas demonstrações de afeto, pelos momentos de risos que compartilhamos e também por dividirmos aqueles momentos em que o coração ficou apertado, mas logo foi acalentando por um afago verdadeiro. Agradeço a Yeda Gabriela pelas palavras de incentivo, a Marília Vieira e ao Pedro Neto pelos momentos de risos largos. Não poderia deixar de agradecer ao Max Brandão e José Eduardo por fazerem parte dessa história de forma tão positiva. Passamos por dificuldades e por bons momentos juntos;

Ao meu irmão José Neto, minha cunhada Arlene, amados sobrinhos Isaac e Davi, por terem aberto as portas da sua casa e muito mais que abrigo, terem me ofertado um lar; A minha cunhada Rosilene, minha irmã Erimara e aos amigos, Lavínia, Joane, Waldenrique, Waldânia, Ivonilde, Rutênio e Tayrone por todo o apoio e carinho. De modo especial a minha amiga Márcia, que mesmo distante se fez presente diariamente por meio de carinhosas mensagens e palavras de estímulo.

Aos eternos amigos José Filho (*in memoriam*) e Nena Barbosa (*in memoriam*), pelo exemplo e pela grande vontade de viver;

Aos meus irmãos Elizabeth, Graças, José Neto, Genival, Eliete e Erinete, pela cumplicidade e por todo amor, juntos sempre fomos mais fortes. Vocês sempre foram meus exemplos e minha maior força;

Aos meus amados sobrinhos Felipe, Lucas, Isabel, Raimundo Luís e Fernanda;

À Ana Karolline e Amanda Karine, por me ensinarem tanto e por me permitirem sentir um amor tão grande. Com vocês compreendi o que é amor materno;

Aos meus pais Genésio Pereira e Isabel Adélia (*in memoriam*), por terem ensinado que a educação é o único caminho e por terem me dado os melhores irmãos;

A todos vocês minha gratidão.

"Não é digno de saborear o mel aquele que se afasta da colmeia com medo das picadas das abelhas."

William Shakespeare

SUMÁRIO

RESUMO.....	8
ABSTRACT.....	9
LISTA DE FIGURAS.....	10
LISTA DE TABELAS.....	11
1 INTRODUÇÃO.....	12
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	14
2.1 <i>Apis mellifera</i>	14
2.2 Enxameação.....	16
2.3 Importância ambiental e econômica.....	17
2.4 Abelhas Africanizadas.....	18
2.5 Marcadores microssatélites na investigação de polimorfismo genético.....	19
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	22
3.1 Municípios amostrados.....	22
3.2 Material biológico.....	23
3.3 Extração de DNA.....	23
3.4 Marcadores microssatélites.....	25
3.5 Eletroforese e revelação das bandas.....	26
3.6 Análises estatísticas.....	26
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
5 CONCLUSÕES.....	39
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	40

RESUMO

OLIVEIRA, E.P. **Fluxo gênico de *Apis mellifera* L. nos estados do Piauí e Ceará: uma análise molecular.** 49p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento), UFPI, Teresina, 2017.

Pouco se conhece a respeito da dinâmica migratória da espécie *Apis mellifera*. Supõe-se que os vales das bacias hidrográficas possam influenciar de modo preferencial, no direcionamento de rotas migratórias, porém não existem trabalhos que confirmem essa hipótese ou que quantifiquem o fluxo gênico entre populações. Diante disso, objetivou-se com o presente estudo, analisar a estrutura populacional e o fluxo gênico de abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.) nos estados do Piauí e Ceará, bem como avaliar a influência do rio Gurgueia na dispersão dessas abelhas no estado do Piauí. Foram utilizados seis *loci* SSR para análise molecular de 106 operárias de colônias distintas, amostradas em municípios localizados dentro e fora dos domínios da bacia do Gurgueia, onde é observado potencial para prática apícola. Após verificação da qualidade da genotipagem foram calculados os valores de heterozigosidade, número de alelos, análise de variância molecular (AMOVA) e estatísticas F de Wright. O teste de Mantel foi executado para detectar a influência da distância geográfica (em km) na diferenciação genética entre cada par de localidades. Também foram realizadas análises de estrutura populacional e fluxo gênico, pelos softwares STRUCTURE e MIGRATE. Os resultados apontaram para alta taxa de heterozigosidade, ($H_O = 0,93$; $H_E = 0,92$), baixa diferenciação populacional ($F_{ST} = 0,02$) e elevada variabilidade genética (18,2 alelos por *locus*). As estimativas das taxas de migração foram altas, com média de 19,39 migrantes por geração entre localidades. O intenso fluxo gênico influencia diretamente na baixa diferenciação genética entre os grupos. Verificou-se que, rios, vales, elevações topográficas e distâncias geográficas, na área estudada, não representam barreiras que possam impedir a dispersão das abelhas africanizadas, que se organizam como um grande grupo, sem estruturação populacional bem definida. O teste de Mantel mostrou correlação positiva entre as distâncias genéticas (F_{ST} e Jost's D) e geográfica, porém apenas a distância de Jost's D apresentou valores significativos ($P < 0,05$). Os dados moleculares gerados permitem inferir que não existe estruturação populacional, esses dados também não revelaram fluxo migratório associado ao vale do rio Gurgueia.

Palavras-chave: Abelhas africanizadas, polimorfismo genético, SSR, enxameação

ABSTRACT

OLIVEIRA, E.P. **Inference of the gene flow of *Apis mellifera* L. by microsatellite markers in bee populations from Piauí and Ceará.** 49p. Dissertation (Master in Genetics and breeding), UFPI, Teresina, 2017.

The migratory dynamics of the *Apis mellifera* specie is not well understood. It is assumed that the river valleys may influence the migratory behavior, mainly in the migratory routes direction, but there is no work confirming this hypothesis or quantifying the gene flow between populations. This study aimed to analyze the population structure and migratory dynamics in Africanized bees (*Apis mellifera* L.) from Piauí and Ceará, as well as to evaluate the influence of the Gurgueia river in the dispersion of the bees in the state of Piauí. Six SSR loci were used for molecular analysis of 106 workers from different colonies, sampled in municipalities located inside and outside the Gurgueia basin domains, in where is observed a potential for beekeeping practice. After checking the quality of the genotyping, the values of heterozygosity, number of alleles, analysis of molecular variance (AMOVA) and Wright's F-statistics were calculated. The Mantel test was performed to detect the influence of geographic distance (in km) on genetic differentiation between each pair of locations. In addition, it were carried out analyzes of population structure and genetic flow using STRUCTURE and MIGRATE software. The results indicated high heterozygosity ($H_O = 0.93$, $H_E = 0.92$), low population differentiation ($F_{ST} = 0.02$) and high genetic variability (18.2 alleles per locus). The estimates of migration rates were high, averaging 19.39 migrants per generation among localities. The intense gene flow directly influences the low genetic differentiation between the groups. It was verified that the rivers, valleys, topographic elevations and geographic distances presented in the field area studied, do not represent barriers that can prevent the dispersion of the africanized bees, which are organized like a great group without well defined population structuring. The Mantel test showed a positive correlation between genetic distances (F_{ST} and Jost's D) and geographic distances but only the Jost's D distance showed significant values ($P < 0.05$). The molecular data from this study allowed to infer that there is no population structure, these data also did not reveal migratory flow associated with the Gurgueia river valley.

Keywords: Africanized bees, genetic polymorphism, SSR, swarming

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1-** Municípios de coleta nos estados do Piauí e Ceará. Em destaque a chapada do Araripe e os rios Parnaíba e Gurgueia.....**22**
- Figura 2-** Polimorfismo genético observado nos seis *loci* analisados. Visualização em gel de poliacrilamida.....**29**
- Figure 3-** Número efetivo médio de migrantes em cada localidade amostrada.....**38**

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1-** Estudos realizados com *Apis mellifera* por meio de marcadores microssatélites.....**21**
- Tabela 2-** Número de amostras (colônias) de abelhas *Apis mellifera* por população e suas posições geográficas.**23**
- Tabela 3-** Marcadores utilizados para análise molecular em *Apis mellifera* e suas respectivas referências.....**25**
- Tabela 4-** Distâncias geográficas entre os locais de coletas de *Apis mellifera* (Km). Corrente (COR), Cristino Castro (CCT), Floriano (FLO), Caldeirão do Piauí (CDP), Santana do Cariri (SDC) e Nova Olinda (NOL).**27**
- Tabela 5-** Análise de diversidade genética de seis marcadores SSR em *Apis mellifera*. Número de alelos (Na), Número de alelos efetivos (Ne), Heterozigosidade Observada (Ho), Heterozigosidade Esperada (He), Conteúdo de informação polimórfica (PIC), Índice de Fixação (F), Estimativa da probabilidade de ocorrência de alelos nulos (A.Nul.), índices de diferenciação populacional (F_{ST} e R_{ST}).**30**
- Tabela 6-** Cálculo da distância genética* (F_{ST} e Jost's D) entre pares de localidades. Valores de F_{ST} aparecem acima da diagonal, enquanto valores de Jost's D aparecem abaixo. Em negrito, comparações com P valores menores que 0,05. Corrente (COR), Cristino Castro (CCT), Floriano (FLO), Caldeirão do Piauí (CDP), Santana do Cariri (SDC) e Nova Olinda (NOL).**32**
- Tabela 7-** Análise de variância molecular (AMOVA) realizada entre as seis populações de *Apis mellifera*.....**35**
- Tabela 8-** Determinação do valor mais provável de K, de acordo com as estimativas de probabilidade à posteriori calculadas a partir de $\ln P(K)$**36**
- Tabela 9-** Estimativa de máxima verossimilhança para theta de cada população e taxa média de migração bidirecional escalonada (M) entre populações de *Apis mellifera* dos estados do Piauí e Ceará. Nova Olinda (NOL), Santana do Cariri (SDC), Caldeirão do Piauí (CDP), Floriano (FLO), Cristino Castro (CCT) e Corrente (COR).....**37**

1 INTRODUÇÃO

Apis mellifera apresenta grande capacidade adaptativa podendo ser encontradas em diversas áreas geográficas. Sua alta variabilidade genética a permite prosperar em regiões com diferentes configurações ambientais (CONTE; NAVAJAS, 2008; PIRES et al., 2016). Presente na fauna do semiárido nordestino brasileiro, está entre as espécies mais comuns da caatinga (FREITAS; SOUSA; BOMFIM, 2007) podendo ser exploradas, nestas regiões, para fins econômicos e sociais.

É a espécie que mais se destaca como agente polinizador em ecossistemas naturais. Na agricultura, a maior parte da polinização também é realizada por *A. mellifera* (SIMONE-FINSTROM et al., 2016).

No Brasil, a espécie está amplamente representada pelo híbrido conhecido como abelha africanizada. Esta tornou-se componente essencial da apicultura no país, sendo o reflexo de décadas de introgressão entre diferentes subespécies europeias e a subespécie africana *Apis mellifera scutellata* (VANDAME et al., 2002).

A grande diversidade destas abelhas, bem como seu relevante papel ambiental associado ao seu potencial para exploração econômica, elencam um conjunto de características que justificam a necessidade de mais estudos sobre a espécie, com o intuito de obter maior aproveitamento das suas potencialidades. Além disso a espécie é destaque em estudos científicos, constituindo um excelente modelo experimental (SOLIGNAC et al., 2007).

Questões remanescentes sobre a biologia migratória da espécie podem ser avaliadas com o auxílio de ferramentas genéticas. Neste cenário os marcadores microsatélites apresentam-se como uma alternativa eficiente para acessar as informações do DNA, sendo indicados para entender a história evolutiva de populações ou subespécies (FRANCK et al., 2000). Esses marcadores são frequentemente utilizados em estudos de investigação da estruturação genética de populações naturais (BALLOUX; LUGON-MOULIN, 2002).

Os primeiros marcadores microsatélites específicos para *A. mellifera* foram caracterizados em 1993 por Estoup e colaboradores e utilizados pela primeira vez em abelhas em 1995, em uma análise de nove populações pertencentes a sete subespécies europeias e africanas. A partir de então, esses marcadores nucleares,

vêm sendo empregados com sucesso em estudos com abelhas a nível populacional (ESTOUP et al., 1995).

Ainda não se conhecem os reais fatores que interferem no deslocamento das abelhas africanizadas por determinadas rotas migratórias. Entretanto, acredita-se que *A. mellifera* se dispersa com maior facilidade em ambientes com formações vegetais menos densas, áreas urbanas ou formações vegetais que sofreram intervenção antrópica (OLIVEIRA; CUNHA, 2005).

No Piauí, imagina-se que os vales dos rios sejam rotas preferenciais de dispersão de abelhas africanizadas, no entanto, não existe na literatura, nenhum registro sobre tal suposição, sendo necessário maiores investigações sobre essa questão.

Tendo em vista a necessidade de conhecer o comportamento migratório da espécie e fornecer informações que possam melhorar seu gerenciamento e, conseqüentemente, diminuir a perda de colônias pelos apicultores, objetivou-se com o presente estudo, analisar a estrutura populacional e o fluxo gênico de abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.) nos estados do Piauí e Ceará, bem como avaliar a influência do rio Gurgueia na dispersão dessas abelhas no estado do Piauí.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Apis mellifera*

Taxonomicamente as abelhas pertencem à mesma ordem das vespas, tendo destas se originado há mais de 100 milhões de anos, concomitante ao surgimento das angiospermas que as ofertaram pólen e néctar como nova fonte alimentar (COFFEY, 2007).

As abelhas estão organizadas em 10 ou 11 famílias, com aproximadamente 700 gêneros e cerca de 20 mil espécies vivas (MALYSHEV, 1968; MICHENER, 1969; MICHENER; GREENBERG, 1980)

O gênero *Apis* é constituído por cinco espécies: *A. dorsata*, *A. laboriosa*, *A. florea*, *A. cerana*, de origem asiática e *A. mellifera* de origem europeia, esta destaca-se por apresentar enxames populosos e distribuição em variadas regiões (COFFEY; BREEN 1997; PARKER, et al, 2010).

Apis mellifera são organismos eussociais que pertencem à ordem Hymenoptera, subordem Apocrita, superfamília Apoidea, família Apidae e subfamília Apinae e gênero *Apis* (TRIPLEHORN; JONNISON, 2011).

A referida espécie conta com mais de 26 subespécies originadas a partir de linhagens evolutivas da África, Oriente Médio, Etiópia, Oeste e Sudeste da Europa (FERREIRA et al., 2009).

São insetos organizados em sistema de castas, com clara divisão de funções dentro da sociedade, de maneira que aos zangões cabe, exclusivamente, fecundar a rainha, às operárias compete o trabalho de alimentar, proteger e construir a colônia, enquanto a rainha, fêmea fértil, exerce papel de controle reprodutivo e social do grupo (STRAUSS et al., 2008).

O desenvolvimento dessas abelhas é caracterizado por metamorfose completa, onde há graduada evolução da fase de ovo para larva, seguindo para pupa até que o inseto chegue à fase reprodutiva (MICHELETTE; SOARES, 1993; SEELEY, 2006; WINSTON, 2003). O tipo de alimentação ofertada pelas operárias, durante o desenvolvimento da prole determinará qual das fêmeas será a rainha da colônia (LINKSVAYER et al., 2011), o fato das operárias estarem envolvidas nesse processo de construção da rainha denota que elas exercem um certo controle sobre a escolha da matriarca colonial (TARPY; SIMONE-FINSTROM; LINKSVAYER, 2016).

Operarias e rainhas assemelham-se pelo grau de importância como membros da sociedade, porém diferem nos aspectos reprodutivo, laboral, social e também em anatomia, fisiologia e tempo de vida (GROZINGER et al., 2007).

As rainhas de *A. mellifera* apresentam um requisito bastante significativo para constituição de uma prole variada, seu comportamento poliândrico, tais fêmeas podem acasalar com até mais de 20 machos durante o vôo nupcial (TARPY; NIELSEN, 2002; KRAUS; NEUMANN; MORTIZ, 2005), trazendo em seus ovidutos laterais uma faixa de 80 a 90 milhões de espermatozoides (WOYKE, 1962). Desta forma as fêmeas reprodutoras apresentam grande possibilidade de constituir uma colônia com maior variabilidade genética.

A qualidade reprodutiva das fêmeas é uma questão complexa que depende de um conjunto de fatores como a idade da rainha, idade em que a larva foi escolhida para assumir a função de rainha, volume de inseminação. Depende inclusive de fatores externos (RANGEL et al., 2016b).

Enquanto as fêmeas se originam por meio do processo de fertilização, os machos dessa espécie se desenvolvem a partir de ovócitos não fecundados, (CARANTÓN, 2012) fenômeno reprodutivo conhecido por partenogênese. Durante a postura a rainha controla o número de ovócitos fecundados e não fecundados que serão liberados, determinando a quantidade de machos em relação a quantidade de fêmeas que irão compor a sua prole (HACHINOHE; ONISHI, 1952).

Mesmo que na colônia ocorra uma baixa concentração de machos a taxa de cruzamentos não sofre significativa redução (TARPY; DELANEY, 2015), já que os zangões podem ter origens distintas e que a fertilização ocorre sempre fora da colmeia, em locais específicos, denominados área de congregação de zangões, locais estes, onde a rainha terá disponibilidade suficiente de machos para fecundá-la (LOPER; WOLF; TAYLOR JR, 1992).

2.2 Enxameação

Outra característica bastante relevante a ser considerada, em estudos com *A. mellifera*, é sua capacidade de enxameação, que pode acontecer por diferentes ocasiões, a saber: saída natural, de uma rainha, com parte das operárias, por falta de espaço na colmeia (ROCHA, 2008), enxameação provocada por falta de recursos nutricionais e de condições ambientais propícias a sustentabilidade da colônia (CORREIA – OLIVEIRA et al., 2012). Evento que provoca a saída do grupo inteiro, ou de parcela considerável deste, e por consequência causa grande dispersão dos animais na natureza.

Em razão do seu alto poder de enxameação entende-se que a espécie pode chegar aos mais variados ambientes, segundo Soares (2012), essas abelhas conseguem se deslocar a uma velocidade de até 500 km por ano. Em virtude da sua grande capacidade adaptativa, acredita-se que a espécie pode se instalar e se reproduzir nos mais variados ambientes. Populações de abelhas apresentam características metabólicas apropriadas a diferentes regiões climáticas, conferindo potencialmente características fenotípicas benéficas (PARKER et al., 2010).

Antes da enxameação reprodutiva algumas operárias saem com o propósito de selecionar um novo local para estabelecer o ninho, este trabalho é um desafio, onde os grandes enxames têm a vantagem de enviarem um maior número de abelhas para desempenharem este trabalho e conseqüentemente aumentam as chances de encontrar melhores locais em menores intervalos de tempo (SCHAERF et al., 2013).

Embora a rainha não participe diretamente da escolha do local de nidificação, sua presença é fundamental durante o fenômeno de enxameação, por meio de alterações em seus feromônios as operárias podem mudar de comportamento durante o trajeto, podendo inclusive abandonar o enxame caso percebam a ausência da matriarca, no grupo. Trata-se de mais um trabalho coletivo, onde ocorre sintonia entre as atividades da rainha e milhares de operárias (GROZINGER; RICHARDS; MATTILA, 2014; RICHARDS et al., 2015).

A enxameação é um excelente modelo para estudo de comportamento coletivo, porém são muitas as questões que envolvem esse importante evento, é preciso considerar, na sua análise, desde as causas que estimulam o grupo a sair do seu local de origem, até os mecanismos químicos, genéticos e fisiológicos, que coordenam o movimento (GROZINGER; RICHARDS; MATTILA, 2014).

2.3 Importância ambiental e econômica

Provavelmente as abelhas já estavam presentes no início da evolução das angiospermas, tendo sido um importante fator a contribuir na diversificação das eudicotiledôneas, um grupo que inclui mais de 75 % das angiospermas (CARDINAL; DANFORTH, 2013).

É possível perceber que plantas e abelhas vivem em importante relação de simbiose, onde abelhas dependem do néctar e do pólen para se alimentarem e em troca transportam o pólen das plantas para diversos locais, contribuindo para sua dispersão (SANTOS, 2002), dentre as abelhas polinizadoras, destaque para *A. mellifera*, espécie de grande importância para sustentação da produção em muitos agroecossistemas (SIMONE-FINSTROM et al., 2016).

Sendo assim, é fácil perceber que, além de todos os produtos apícolas, as abelhas merecem destaque especialmente pelo seu papel como agentes polinizadores. Estão diretamente relacionadas com a produção e dispersão natural de variadas fruteiras, contribuindo para diversidade dos ecossistemas. Também agem no fortalecimento da agricultura, segundo Simone-Finstrom et al. (2016), na Califórnia a maior parte da polinização na agricultura é realizada por *A. mellifera*.

Compreende-se a verdadeira dimensão do quão importante são as abelhas para o ambiente, quando se percebe o tamanho da sua relevância enquanto polinizadores, tanto para sistemas agrícolas, quanto para os demais ecossistemas naturais, o que faz delas, responsáveis pela conservação de espécies vegetais e animais, que estão interligadas em uma grande teia alimentar (DE FREITAS et al., 2016).

Se por algum motivo a polinização fosse interrompida, ocorreriam problemas graves; tais como risco de colapso para empresas agrícolas a nível global, bem como comprometimento à saúde e nutrição humana (DYNES et al., 2017).

A Apicultura, também deve ser verificada neste contexto, pois a criação de abelhas, é uma atividade com características peculiares, que pode ser realizada concomitantemente a outros ofícios no campo. Causa baixo impacto ambiental e tem rápido retorno do investimento empregado (BACHA JÚNIOR; FELIPE-SILVA; PEREIRA, 2009).

O mel é o produto apícola mais popular e também o mais comercializado, a produção de mel é uma atividade que demanda baixos investimentos e apresenta

boa lucratividade, podendo configurar-se como fonte de renda extra, para o trabalhador rural (FREITAS; KHAN; SILVA, 2004).

No Brasil a atividade apícola teve grande avanço após o processo de africanização das abelhas *A. mellifera*, tendo como principal produto o mel, este é mundialmente conhecido, por sua variedade e qualidade. Os últimos dados divulgados, referentes aos anos de 2013 e 2014, apontam o Brasil como oitavo maior exportador de mel em termos de valores. Neste período o país subiu seis posições no ranking mundial de exportações de mel (ABEMEL, 2017).

Apicultura é uma atividade de grande relevância, em um momento onde o mundo volta suas atenções para crise ambiental. Além de gerar emprego e renda, no campo, contribui indiretamente, para aumentar a diversidade dos ecossistemas, impulsionar a produção agrícola e minimizar os efeitos negativos que outras atividades poderiam gerar, ao explorar os recursos naturais.

No entanto, para o fortalecimento da indústria apícola é preciso maiores investimentos em programas de conservação e melhoramento genético de abelhas *A. mellifera*, com práticas que visem o aumento de características de interesse, tal como o aumento dos níveis de produção nas colmeias (MARTINEZ; SOARES, 2012)

2.4 Abelhas Africanizadas

As abelhas *A. mellifera* presentes no Brasil são híbridos denominados abelhas africanizadas, provenientes do cruzamento entre as linhagens *A. mellifera scutellata*, que chegaram da África em 1956, com grupos europeus já estabelecidos no país desde o século XIX, são elas; *A. mellifera mellifera* da Alemanha, *A. mellifera carnica* da Áustria e *A. mellifera ligustica* da Itália (KER, 1967).

A história das abelhas africanizadas está relacionada com a tentativa de fortalecimento da apicultura no Brasil, principalmente porque foi com o objetivo de impulsionar a apicultura, com o aumento da produtividade, que as abelhas africanas, foram trazidas para o país (KERR, 1967) e deu início ao processo de africanização.

As rainhas de algumas colmeias africanas que estavam sendo introduzidas no município de Rio Claro – SP, se dispersaram pelo ambiente, cruzaram naturalmente com alguns zangões europeus e o resultado deste evento foi o surgimento de abelhas com grande adaptabilidade ambiental, ciclo reprodutivo curto e alto potencial defensivo (KER, 1967; GONÇALVES, 1974).

A princípio a estratégia de introduzir *Apis mellifera scutellata* tornou-se um entrave ao desenvolvimento apícola no Brasil. Primeiro devido a dispersão descontrolada do grupo africano e segundo porque ocorriam inúmeros acidentes provocado pelas abelhas africanizadas, resultantes do cruzamento entre o grupo africano e europeu (GONÇALVES, 1994). Por não conhecerem formas eficientes de manejo com essas recém-chegadas abelhas, muitos apicultores diminuíram suas produções ou até mesmo abandonaram a atividade (GONÇALVES, 1974).

As abelhas africanizadas apresentam claras marcas herdadas dos seus antepassados africanos, como alto poder defensivo e dispersivo, sendo atualmente, as abelhas mais comumente encontradas no Brasil, norte da Argentina, México e sul dos Estados Unidos (KADRI et al., 2016). Além dessas características herdaram ainda, resistência a doenças e agressividade (DE JONG, 1992).

Apesar da forte influência Africana é necessário esclarecer que a abelha africanizada é um híbrido, mesmo que a maioria de seus genes mitocondriais sejam de ascendência africana, seu DNA genômico continua sendo uma mistura estável de genes europeus e africanos. Provavelmente tenha sido esta mistura a grande responsável para o sucesso destas abelhas às fortes pressões ambientais (RANGEL et al., 2016a).

As abelhas africanizadas, possuem considerável importância sobre vários aspectos, sejam eles; econômicos, ambientais ou científicos. Já foram temidas pelos apicultores, consideradas “abelhas assassinas”, atualmente são usadas como modelo para estudos nas áreas de Genética evolutiva (KADRI et al., 2016).

2.5 Marcadores microssatélites na investigação de polimorfismo genético

As diferenças observadas entre os indivíduos de uma população são consequências das variações acumuladas no material genético, de cada organismo, aliada ainda, aos efeitos provocados pelo ambiente. O estudo das diferenças genéticas por meio da investigação do polimorfismo existente na molécula de DNA é um método que vem sendo muito usado.

Após a descoberta da PCR (Polimerase Chain Reaction), que consiste na replicação de sucessivas cópias do DNA *in vitro*, técnica proposta por Kary Mullis (1990), a caracterização genética molecular configurou-se em um importante avanço para o uso de marcadores moleculares em estudos genéticos.

Considera-se como marcador molecular qualquer trecho herdável do DNA, que apresente alelos distintos em organismos aparentados (SUNNUCKS, 2000) e que possa servir como alvo de investigação da variabilidade genética.

Existem muitos marcadores disponíveis às análises genéticas, eles se distinguem em vários aspectos, como: quantidade, polimorfismo detectável, especificidade dos *loci*, reprodutibilidade (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998). Portanto, é essencial optar por um marcador que seja capaz de detectar variabilidade genética e responder aos questionamentos do trabalho, levando em consideração os recursos disponíveis para a técnica.

Neste contexto, destacam-se os microssatélites, marcadores facilmente detectáveis, informativos, codominantes, de alta reprodutibilidade, bastante polimórficos, que permitem a análise de regiões específicas do genoma, abundantes e conservados em espécies relacionadas (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998).

Os microssatélites ou SSR (Simple Sequence Repeats) são repetições de uma a seis bases que se encontram em *tandem* no DNA, são raros em regiões codificantes (FIELD; WILLS, 1998) e têm se mostrado altamente eficiente para estudo de genética de populações (LEHMANN; HAWLEY; COLLINS, 1996), inclusive para identificação de abelhas *A. mellifera* em estudo de conservação (MUÑOZ et al., 2016).

Foram caracterizados mais de quinhentos *loci* microssatélites em *A. mellifera* (SOLIGNAC et al., 2003). Além das vantagens mencionadas anteriormente a possibilidade de detecção de vários microssatélites (multiplex) no mesmo gel, vem facilitando a operacionalização das análises (FALEIRO, 2007), e constitui-se em mais uma característica positiva do marcador, que frequentemente é usado para estudos com a espécie *A. mellifera* (Tabela 1)

Uma dificuldade nos trabalhos com uso de marcadores microssatélites é o alto custo para aquisição dos *primers*, mas pela capacidade que eles têm em detectar variações, o número de marcadores utilizados pode ser reduzido (BORÉM; MIRANDA, 2009) o que torna a técnica mais acessível.

Tabela 1- Estudos realizados com *Apis mellifera* por meio de marcadores microssatélites.

microssatélites	Resultados	Referência
A113, A24, A88, Ap43, Ap81, B124, APJC2, A76.	Diversidade genética associada a Imunocompetência em colônias selvagens.	López-Urbe et al., 2017
A24, A28, A79, A88, A107, Ap66, Ap43, Ap81.	Operárias regulam produção de rainhas.	Tarpy; Simone-Finstrom; Linksvayer, 2016
A7, A8, A14, A28, A35, A43, A79, A88, A107, A113, IM, ED1.	10 anos após africanização os enxames continuam misturados com marcas africanas mais acentuadas.	Rangel et al., 2016a
A24, A28, A79, A88, A107, Ap43, Ap66, Ap81, AC006, B124, HB-THE-03, HB-THE-04.	A poliandria em <i>A. mellifera</i> é uma característica que sofre ação evolutiva e não ecológica	Tarpy; Delaney; Seeley, 2015
B124, A88, A24, ApJC2, A76, Ap43, Ap81, A113	Exposição a agentes combatentes de ácaros, durante o desenvolvimento, comprometem a saúde reprodutiva da rainha.	Rangel; Tarpy, 2015
Mrjp3, Mrjp5, Mrjp8	Variabilidade genética das rainhas está diminuindo, nos loci analisados.	Parpinelli; Ruvolo-Takasusuki; Toledo, 2014
A107, A113, A14, A29, A79, A8, A88, B124	Operárias são capazes de responder a pressões sazonal e explorar oportunidades reprodutivas.	Holmes et al., 2013
Am010, Am043, Am052, Am059, Am061, Am098, Am125, AM553	Há variação significativa na qualidade de rainhas produzidas comercialmente.	Delaney et al., 2011
A107, A113, A14, A35, A88, A28, B124, A76	O volume de sêmen e não a sequência de inseminação determina a constituição da prole dos vários zangões.	Schlüns et al., 2004

3 MATERIAL E MÉTODOS

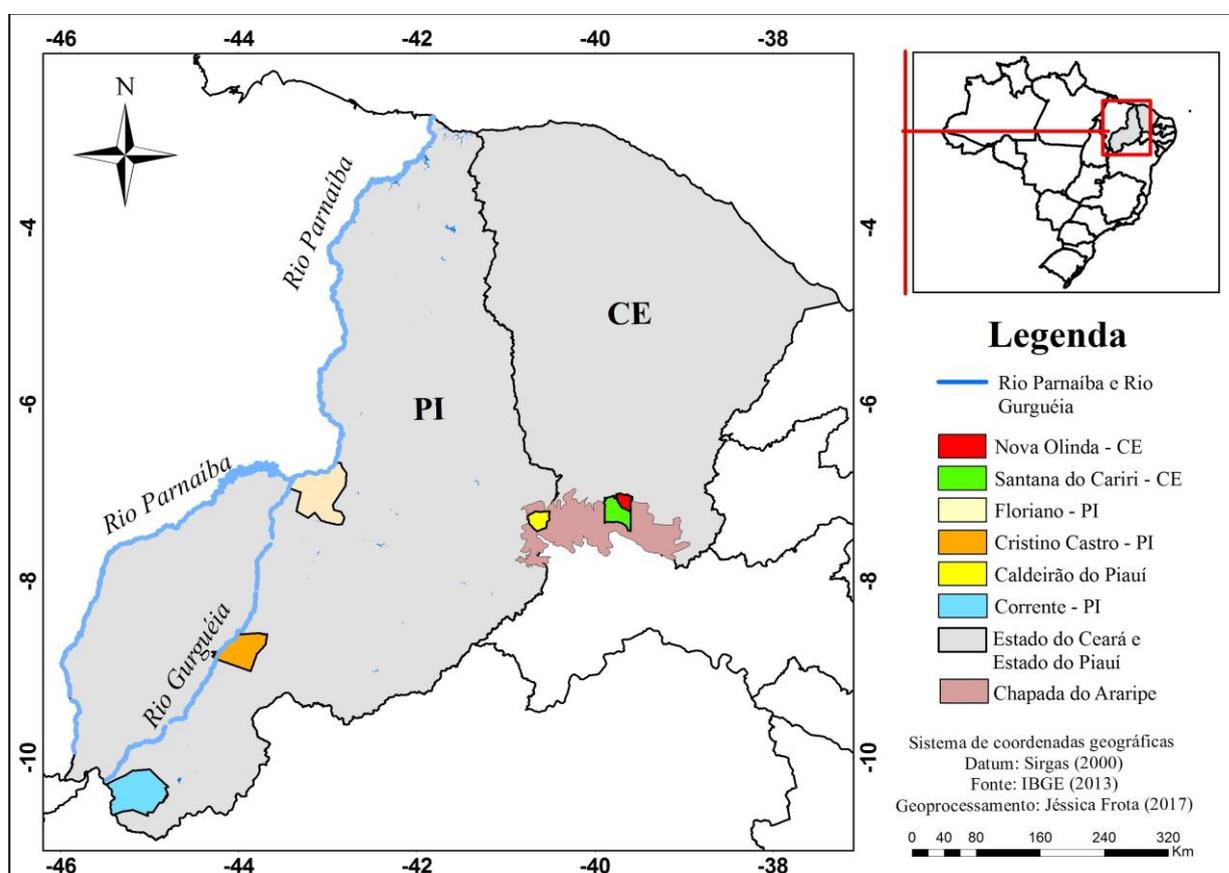
3.1 Municípios amostrados

Para este estudo foram selecionados três municípios, localizados dentro dos domínios da bacia do Gurgueia: Floriano (FLO), Cristino Castro (CCT), Corrente (COR) e outros três municípios fora da influência deste rio: Caldeirão do Piauí (CDP), Santana do Cariri (SDC) e Nova Olinda (NOL) (Figura 1 e Tabela 2).

O município de Floriano encontra-se sobre influência direta do rio Parnaíba e do Gurgueia. Cristino Castro e Corrente são banhados pela bacia do Gurgueia, maior afluente do rio Parnaíba, enquanto Caldeirão do Piauí, Santana do Cariri e Nova Olinda encontram-se fora da influência destes rios.

A utilização de tal critério, na escolha dos municípios amostrados, deve-se ao fato de acreditar-se que os vales dos rios são rotas migratórias de *A. mellifera*.

Figura 1- Municípios de coleta nos estados do Piauí e Ceará. Em destaque a chapada do Araripe e os rios Parnaíba e Gurgueia.



Foram analisadas 106 operárias de *A. mellifera*, onde cada indivíduo representa uma colônia (106 colônias), dentro dos diferentes municípios estudados (Tabela 2).

Tabela 2- Número de amostras (colônias) de abelhas *Apis mellifera* por população e suas posições geográficas.

Estado	Município	Altitude (m)	Latitude	Longitude	Nº de abelhas
Piauí	Floriano	132	06°46'01"S	43°01'21"W	20
	Caldeirão do Piauí	622	07°13'06"S	40°37'44"W	10
	Cristino Castro	300	08°52'18"S	44°12'34"W	29
	Corrente	389	10°32'09"S	44°59'59"W	12
Ceará	Santana do Cariri	631	07°12'16"S	40°36'06"W	18
	Nova Olinda	436	07°10'25"S	39°59'57"W	17
Total					106

3.2 Material biológico

As abelhas, operárias adultas, foram coletadas nos meses de março e maio de 2015, nos municípios de Floriano, Caldeirão do Piauí, Santana do Cariri, Nova Olinda, Corrente e Cristino Castro (Tabela 2). Estes meses correspondem ao período mais chuvoso do ano, no Piauí (BRITO; COSTA, 2012). As abelhas foram acondicionadas em tubos tipo *Falcon* de 50 mL contendo 30 mL de álcool absoluto e identificadas com nome da localidade e do apiário. Os tubos contendo as abelhas ficaram armazenados em freezer a -20°C até a data das extrações do DNA.

3.3 Extração de DNA

Todo procedimento de extração de DNA foi realizado no laboratório de Biologia Molecular da Universidade Federal do Piauí, no qual se utilizou o kit de extração da Qiagen QIAamp® DNA Mini Kit (250), com algumas modificações, como descrito abaixo.

De cada abelha foram retirados cabeça e tórax. O material foi fragmentado utilizando bisturi e placa de vidro como apoio, posteriormente o mesmo foi armazenado em tubos de 1,5 mL, onde foi adicionado 180 μL de tampão ATL e 20 μL de proteinase K, após homogeneizado o conteúdo, os tubos foram levados a

banho maria à temperatura de 56 °C por 3 horas, com pausas a cada meia hora para repetir a homogeneização.

Após a retirada das amostras do banho-maria foi adicionado 200 µL de tampão AL e 200 µL de etanol 100%. Em seguida, o material foi transferido para tubos contendo um filtro de membrana de sílica (spin column) e centrifugado por 1 minuto a 8000 rpm. O filtrado foi descartado juntamente com o tubo de coleta e um novo tubo foi acoplado à uma coluna de sílica, onde adicionou-se 500 µL de tampão AW₁ e levado para centrifuga por 1 minuto a 8000 rpm.

Novamente o filtrado foi descartado com o tubo de coleta e ao tubo com a coluna foi adicionado 500 µL de tampão AW₂ e levado a centrifuga por 3 minutos a 14 000 rpm. Após essa etapa a coluna de sílica foi transferida para um tubo de 1,5 mL devidamente identificado, onde foram adicionados 100 µL de tampão AE. Nessas condições as amostras ficaram encubadas por 5 minutos em temperatura ambiente e em seguida centrifugadas por 3 minutos a 10.000 rpm. Concluído o processo de extração o DNA foi acondicionado em freezer a -20°C.

Por meio de gel de agarose a 1,0% em corrida de eletroforese de 100 V por 60 minutos foram verificadas a integridade e a pureza do DNA. As amostras foram mixadas ao tampão de carregamento contendo GelRed™ e posteriormente visualizados em transluminador.

O DNA foi diluído em água ultrapura, na proporção de 1µL de DNA: 99 µL de água ultrapura.

3.4 Marcadores microssatélites

Nesse estudo foram utilizados seis *loci* de microssatélites desenhados para *A. mellifera*. Os *primers* foram desenvolvidos com base em estudos prévios realizados para a espécie (Tabela 3). Outros 2 *loci* foram testados (Am043 e Am061), porém não amplificaram.

Tabela 3- Marcadores utilizados para análise molecular em *Apis mellifera* e suas

<i>Locus</i>	Sequência Direta (F) e Reversa (R)	Ta (°C)	Concentração de MgCl ₂	Referência
Am010	5'-CACAAGTTCCAACAATGC-3'F 5'-CACATTGAGGATGAGCG-3'R	54	1,5	Estoup et al., 1995
Am052	5'-CGAATTAACCGATTTGTTCG-3'F 5'-GATCGCAATTATTGAAGGAG-3'R	55	1,3	Estoup et al., 1995
Am059	5'-CTCGAATCGTGGCGTCC-3'F 5'-CCTGTATTTTGCAACCTCGC-3'R	57	1,3	Estoup et al., 1995
Am098	5'-GGCGTGCACAGCTTATTCC-3'F 5'-CGAAGGTGGTTTCAGGCC-3'R	54	1,5	Estoup et al., 1994
Am125	5'-GGATCGTCGAGGCGTTGA-3'F 5'-GAAAAGTATTCCGCCGAGCA-3'R	57	1,1	Solignac et al., 2003
Am553	5'-CGCTGGAAATTGTTTCGAGA-3'F 5'-GGGAGACTTACTGCTTCGA-3'R	55	1,5	Delaney et al., 2010

respectivas referências.

Ta (°C) - Temperatura de anelamento.

Os marcadores selecionados mostraram-se polimórficos e revelaram grande variação alélica, portanto foram informativos na análise.

Os *primers* foram testados e otimizados a partir das recomendações descritas pelos respectivos autores e as posteriores PCRs foram realizadas nas condições descritas a seguir: tampão 1X, 0,4 mM de dNTP, MgCl₂ à 1,5 mM, 0,5 mM de cada primer *forward* e *reverse*, 1 U de taq DNA-polimerase (Ludwig), 1µL de DNA genômico e água ultrapura q.s.p. 10 µL.

O programa da PCR foi realizado em termociclador Veriti™ Thermal Cycler (Applied Biosystems) nas seguintes condições: 95°C por 7 minutos para desnaturação inicial; 28 ciclos de 95°C por 40 segundos para desnaturação, seguida

de anelamento dos *primers* à temperatura correspondente (Tabela 3) por 20 segundos, e 72°C por 20 segundos para extensão, além de uma extensão final à 72°C por 10 minutos. As reações aconteceram em diferentes concentrações de cloreto de magnésio (Tabela 3).

Os procedimentos elencados acima bem como a genotipagem em gel de poliacrilamida foram realizados no laboratório de Genética do Departamento de Zootecnia da UFPI, *campus* Ministro Petrônio Portela.

3.5 Eletroforese e revelação das bandas

As amostras foram genotipadas por eletroforese em gel de poliacrilamida não desnaturante a 6% com tampão de corrida Tris-Borato-EDTA (TBE 1,0 X). A coluna de gel foi montada em placas de 22,3 cm de altura, sendo o processo realizado a 250 V por um período de 3 horas e 30 minutos.

Ao término da corrida realizou-se a coloração do gel, para visualização das bandas, seguindo o protocolo descrito por Bassam; Caetano-Anolles e Gresshoff (1991).

O registro dos géis foi obtido por meio de fotografias em câmera digital Nikon D3200 com sensor de imagem CMOS formato DX de 24.2 megapixels. A genotipagem foi verificada com o auxílio do *ladder* 50 pb, 100 pb e amostras controle, com tamanhos conhecidos, aplicadas em diferentes posições dos géis por repetidas vezes.

3.6 Análises estatísticas

Após a genotipagem foi gerada uma matriz de dados com o tamanho dos fragmentos amplificados. Inicialmente estes dados foram analisados no programa MICRO-CHECKER 2.2.3 (VAN OOSTERHOUT et al., 2004) para avaliar valores inconsistentes como: alelos fora do tamanho esperado, valores de variação fora do módulo esperado (p. ex., variações de três bases em *locus* de variação dinucleitídica) e presença de alelos nulos. A riqueza alélica (AR) foi obtida pelo programa FSTAT 2.9.3 (GOUDET, 1995).

O conteúdo de informação polimórfica (PIC) foi determinado com a utilização do programa CERVUS 3.0.7 (KALINOWSKI et al., 2007). Foi utilizado o programa

GENEPOP v.4.0.10 (ROUSSET, 2008) para verificação das condições do equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE) por *locus* e por população, enquanto para a heterozigosidade esperada e observada (H_o e H_e), número de alelos (N) e número de alelos efetivos (N_e) os dados foram obtidos pelo programa GENALEX 6.503 (PEAKALL; SMOUSE, 2006). Por esse mesmo programa foi estimada a distribuição da variação genética, por meio da Análise de Variância Molecular (AMOVA), baseado em 999 repetições, considerando os seis municípios estudados por populações e divididos em dois grupos: centro (Caldeirão do Piauí, Santana do Cariri e Nova Olinda) e sul (Corrente, Cristino Castro e Floriano).

Para o teste de hipótese do aumento das diferenças genéticas pelas distâncias geográficas foi utilizado o teste de Mantel implementado no programa GENALEX 6.503 (PEAKALL; SMOUSE, 2006), adotando 999 permutações a nível de significância de 5%. A distância geográfica entre os pontos de coleta foi estimada pelas ferramentas do programa *Google Earth^R Copyright* (Tabela 4). As distâncias genéticas entre cada par de localidades foi estimada com base nos índices F_{ST} e Jost's D.

Tabela 4- Distâncias geográficas entre os locais de coletas de *Apis mellifera* (Km). Corrente (COR), Cristino Castro (CCT), Floriano (FLO), Caldeirão do Piauí

	COR	CCT	FLO	CDP	SDC
COR					
CCT	268				
FLO	597	332			
CDP	834	660	323		
SDC	952	676	420	152	
NOL	949	674	418	184	32

(CDP), Santana do Cariri (SDC) e Nova Olinda (NOL).

Para a realização de inferências sobre a estrutura genética das populações foi usado o programa *STRUCTURE 2.3.3* (PRITCHARD; STEPHENS; DONNELLY, 2000). As análises foram ajustadas para 50.000 repetições de *burnin* e 150.000

Cadeias de Markov e Monte Carlo (MCMC), com 10 repetições independentes para cada K, que variou de 1 a 8, para confirmar a consistência entre as execuções. O valor de K mais provável foi calculado como descrito por Pritchard; Stephens e Donnelly (2000), de acordo com as probabilidades *a posteriori* das estatísticas Bayesianas.

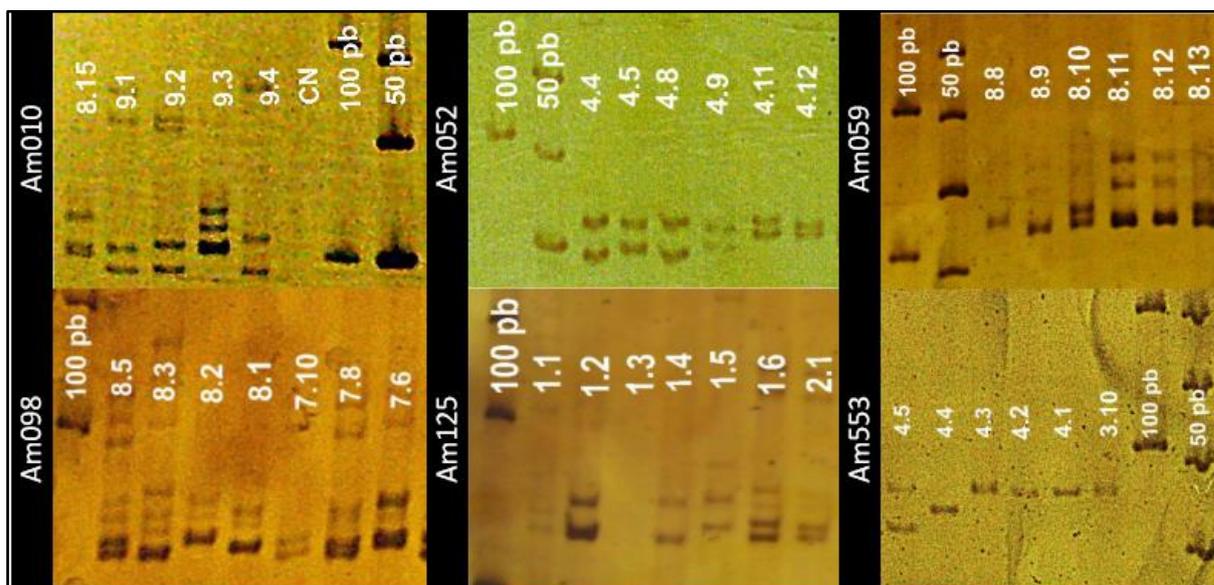
A estimativa do fluxo de genes entre populações, que verifica o número efetivo de migrantes trocados por geração entre pares de localidades, foi estimado utilizando a estratégia Bayesina no software MIGRATE 3.6.10 (BEERLI; FELSENSTEIN, 2001). As repetições foram executadas utilizando o modelo de “microssatélite” num método de passo único com taxa de mutação constante e parâmetros iniciais com base nos cálculos de F_{ST} .

A distribuição prévia foi estabelecida de modo uniforme para o tamanho da população efetiva, em escala de mutação $\Theta (= 4Ne\mu)$ e taxas de migração em escala de mutação $M (= m / \mu)$. A análise dos dados foi repetida de forma aleatória dez vezes para garantir a convergência. O número efetivo de migrantes (Nm) foi calculado usando a relação $Nm = (\Theta \times M) / 4$. O cálculo foi realizado com execuções de 10.000 repetições para cada cadeia, uma cadeia longa com 100 acréscimos e 5.000 passos registados em cada cadeia. Utilizou-se na análise uma matriz com a distância linear em pares (em Km – Tabela 3) entre cada local de amostragem, permitindo que as taxas de migração fossem escalonadas por taxa de mutação e por estas distâncias.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os seis *loci* analisados no presente trabalho foram selecionados por terem apresentado sucesso nas ampliações, revelado polimorfismo e presença de bandas nítidas, mostrando-se apropriados para genotipagem (Figura 2).

Figura 2- Polimorfismo genético observado nos seis *loci* analisados. Visualização em gel de poliacrilamida.



CN- Controle negativo; 100 pb- ladder de 100 pares de bases; 50 pb- ladder de 50 pares de bases.

O número total de alelos por *locus* variou de 14 (Am010) a 22 (Am553), com uma média de 18,2 (erro padrão = 0,98) alelos (Tabela 5). Com os mesmos marcadores, em estudos com 1253 amostras de abelhas africanizadas nos Estados Unidos, Tarpy et al., (2010) encontraram 8 alelos para os *loci* Am010 e Am553.

Estes autores consideraram a taxa de diversidade alélica relativamente alta e, portanto, os valores apresentados no presente estudo evidenciam a alta diversidade genética de *A. mellifera* nas regiões amostradas. Este fato pode ser ainda constatado em termos de número efetivo de alelos, os quais também apresentaram altos valores ($N_e = 12,03 \pm 0,46$). De acordo com a FAO (2011) são recomendados em média quatro alelos por *locus* para que a diversidade seja considerada significativa.

Outra evidência da alta diversidade genética de *A. mellifera* foi observada nos cálculos do conteúdo de informação polimórfica (PIC). Os valores encontrados variaram de 0,89 a 0,92 (Tabela 5), sendo os *loci* considerados altamente informativos (BOTSTEIN et al., 1980).

Tabela 5- Análise de diversidade genética de seis marcadores SSR em *Apis mellifera*. Número de alelos (Na), Número de alelos efetivos (Ne), Heterozigosidade Observada (Ho), Heterozigosidade Esperada (He), Conteúdo de informação polimórfica (PIC), Índice de Fixação (F), Estimativa da probabilidade de ocorrência de alelos nulos (A.Nul.), índices de diferenciação populacional (F_{ST} e R_{ST}).

<i>Loci</i>	Na	Ne	Ho	H_E	PIC	F	A.Nul.	F_{ST}	R_{ST}
Am059	18	11,63	0,92	0,92	0,91	-0,00	-0,000	0,03	0,16
Am098	19	13,65	0,96	0,93	0,92	-0,03	-0,017	0,01	0,02
Am052	19	11,95	0,92	0,92	0,91	0,00	-0,000	0,02	0,04
Am125	17	11,93	0,93	0,92	0,91	-0,01	-0,004	0,03	0,14
Am553	22	12,99	0,95	0,92	0,92	-0,03	-0,016	0,03	0,12
Am010	14	10,05	0,93	0,91	0,89	-0,03	-0,015	0,00	0,03
Média	18,2	12,03	0,93	0,92	0,91	-0,01		0,02	0,09

A heterozigosidade observada manteve-se igual ou um pouco acima da esperada. A alta heterozigosidade pode ser reflexo do número de zangões que acasalam naturalmente com a rainha e introduzem novos alelos na população, contribuindo diretamente com a alta diversidade alélica observada na espécie (PARPINELLI; RUVOLO-TAKASUSUKI; TOLEDO, 2014).

Foi possível constatar que, no momento da amostragem, as proporções alélicas e genótípicas encontravam-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW). Acredita-se que o cruzamento aleatório e o comportamento poliândrico das rainhas *A. mellifera*, que se acasalam com muitos machos (ECKHOLM et al., 2015), seja suficiente para fazer com que as populações alcancem o equilíbrio. Além disso uma abelha rainha usa todos os espermatozoides presentes em sua espermateca de forma aleatória, de modo que o último zangão a inseminar a fêmea tem a mesma contribuição que os anteriores, na fertilização da rainha (FRANCK et al., 2002).

A ausência de alelos nulos por marcadores reforça a confiabilidade de que o valor de F_{ST} não foi subestimado e que existe pouca diferença entre as populações. Análogo ao F_{ST} , a estatística R_{ST} foi desenvolvida especificamente para dados microsatélites, uma vez que considera as mutações para um novo alelo de determinado *locus* desse marcador (SLATKIN, 1995).

Analisando os dados obtidos para os parâmetros F_{ST} e R_{ST} (Tabela 5), pode-se inferir que existe pouca diferenciação genética. Considerando-se o parâmetro F_{ST} , com média de 0,02 e o R_{ST} , que tem média de 0,09, de acordo com a classificação de Wright (1978).

Quando as populações estão sobre efeito de baixo ou nenhum fluxo gênico o R_{ST} é mais representativo na análise de diferenças entre populações (BALLOUX; GOUDET, 2002). No entanto, o fluxo gênico deve ser considerado nestas análises, pois como discutido anteriormente, verificou-se elevadas taxas de H_e e N_e , caracterizando grande diversidade genética, além de F baixo, com média de -0,01 (Tabela 5) indicando pouca endogamia e F_{ST} baixo indicando ausência de estrutura populacional.

Apesar do R_{ST} ser considerado mais apropriado para análise com microsatélite é importante observar um ponto ao utilizar esse parâmetro; sua vulnerabilidade em relação a variação amostral. É necessário, portanto, neste tipo de análise, dispor de grande número de indivíduos por população, reduzida variação amostral entre as populações e elevado número de *loci* microsatélites (BALLOUX; GOUDET, 2002). Assim, com apenas seis marcadores microsatélites e tamanho amostral variável entre os municípios selecionados, considera-se o F_{ST} o parâmetro mais indicado a ser considerado neste estudo.

Em detrimento aos resultados apresentados pelos valores F_{ST} (Tabela 6) constata-se que há correlação positiva entre distância genética e distância geográfica ($r^2 = 0,24$), com valor de significância próximos ao limiar de 5% ($P = 0,052$). Assim, pode-se observar que ocorre um aumento na distância genética conforme aumenta a distância geográfica, de acordo com o índice F_{ST} . Esse evento foi corroborado, ao se utilizar no teste de Mantel, com as distâncias genéticas por meio do índice Jost's D, o qual também apresentou correlação positiva ($r^2 = 0,64$), porém, desta vez, significativa ($P = 0,007$).

O resultado do cálculo das distâncias genéticas entre pares de localidades, usando os estimadores F_{ST} e Jost's revelaram que as diferenças genéticas entre as populações existem, embora sejam pequenas, mostram-se significativas entre populações mais distantes geograficamente.

Ao analisar a matriz de valores de Jost's D par a par, abaixo da diagonal (Tabela 6), constatamos que as populações de Corrente apresentam diferenças significativas em relação as populações de Floriano (0,184), Caldeirão do Piauí (0,332), Santana do Cariri (0,345) e Nova Olinda (0,354), populações das quais Corrente está mais distante geograficamente. O mesmo padrão pode ser observado para todos os outros pares de localidades.

Tabela 6- Cálculo da distância genética* (F_{ST} e Jost's D) entre pares de localidades. Valores de F_{ST} aparecem acima da diagonal, enquanto valores de Jost's D aparecem abaixo. Em negrito, comparações com P valores menores que 0,05. Corrente (COR), Cristino Castro (CCT), Floriano (FLO), Caldeirão do Piauí (CDP), Santana do Cariri (SDC) e Nova Olinda (NOL).

Populações	COR	CCT	FLO	CDP	SDC	NOL
COR	-	0,020	0,030	0,044	0,037	0,037
CCT	0,092	-	0,024	0,032	0,024	0,024
FLO	0,184	0,202	-	0,033	0,026	0,025
CDP	0,332	0,256	0,141	-	0,023	0,035
SDC	0,345	0,237	0,150	0,019	-	0,023
NOL	0,354	0,236	0,143	0,223	0,142	-

*Estas mesmas matrizes foram utilizadas no teste de Mantel para correlação com a distância geográfica.

É possível verificar que apesar de Floriano estar mais distante geograficamente de Corrente do que de Cristino Castro apresenta maior diferença genética em relação a Cristino Castro, no entanto deve-se observar que essas diferenças além de pequenas não são significativas. Nesse contexto é importante perceber ainda, que a ação antrópica também atua na distribuição da diversidade genética destas abelhas.

Além disto, as análises par-a-par entre localidades mostram ausência de variação significativa entre localidades vizinhas. No entanto, ao se comparar localidades não vizinhas, os índices F_{ST} e Jost's-D passam a ser significativos,

apesar de baixos (Tabela 6). Neste caso, os resultados sugerem que apesar de não haver estruturação populacional bem estabelecida entre as amostras coletadas, a variável “distância geográfica” mostra ter influência na diferenciação genética da espécie, mesmo que de forma branda

Analisando F_{ST} como estimador de variações, é possível constatar que os resultados validam a análise de *Jost's D*, onde as populações de Corrente não apresentam diferenças genéticas significativas em relação as populações de Cristino Castro (0,020) ao passo que essas diferenças são observadas em relação a Floriano (0,030), Caldeirão do Piauí (0,044), Santana do Cariri (0,037) e Nova Olinda (0,037), populações mais afastadas geograficamente (Tabela 6).

Acredita-se que as menores diferenças genéticas entre Floriano e os municípios do Ceará podem ser resultado do grande intercâmbio gênico existente entre os apiários da região central do Piauí com os municípios do Ceará, por meio da apicultura migratória. Esta é uma estratégia utilizada pelos apicultores, para atender as necessidades nutricionais dos enxames no período em que a flora apícola fica escassa em decorrência da falta de chuvas nas regiões mais áridas (LEAL NETO, 1998).

De acordo com relatos de apicultores (SOUZA, informação pessoal), há mais de três décadas, é comum a prática de apicultura migratória, anualmente, das colmeias da região de Picos em direção a Serra do Araripe, na rota para região do Crato no Ceará. A apicultura piauiense se consolida pela prática de três ou mais eventos migratórios por ano em direção a Pacajús, Russas e Crato no Ceará e Serrolândia em Pernambuco (SILVA, 1996). Esta atividade justifica a menor diferença genética entre abelhas de Floriano, distante 190 Km de Picos, e abelhas do Caldeirão do Piauí e dos municípios do Ceará.

Segundo informações pessoais fornecidas por Antônio Leopoldino Dantas Filho, presidente da Federação das Entidades Apícolas do Estado do Piauí (FEAPI), a prática da apicultura migratória em direção ao Ceará ocorre desde 1978. Em 1988 a descoberta de boa florada, por exemplo a do Cipó-Uva (*Cissus rhombifolia*), na Serra do Araripe, desencadeou o deslocamento de colmeias para esta região, pratica que se mantém até hoje. A partir de 2009, cerca de 90% dos apicultores mudaram suas rotas em direção ao estado do Maranhão, porém, apesar disso, 60% desses apicultores ainda levam suas colmeias para o Crato. É estimado que

aproximadamente 50 mil colmeias/ano sejam deslocadas para a serra. Durante a estadia das colmeias nessa região é provável que ocorra uma grande introgressão do material genético de uma região para outra.

O deslocamento artificial das colmeias da região central do Piauí para o Ceará pode ser o evento responsável por ocultar maiores influência da bacia do Gurgueia na preferência por um fluxo ao longo do percurso do rio, do sentido sul para o norte.

Além disso, sabe-se que as abelhas africanizadas são altamente invasoras (ZAYED; WHITFIELD, 2008), têm habilidade para percorrer grandes distâncias, podendo migrar a uma velocidade de até 500 km por ano (SOARES, 2012), e que anualmente podem enxamear mais de uma vez, constata-se que as distâncias geográficas entre as populações não representam barreira geográfica decisiva, apesar de serem responsáveis por pequenas diferenças que se estabelecem entre as populações, como mostrado nos testes de Mantel.

Considerando-se os eventos naturais do nordeste brasileiro, é comum observar a migração de abelhas africanizadas como resultado de movimentos entre regiões ecológicas distintas. Este comportamento migratório está intimamente relacionado ao ciclo de chuvas, onde é verificado que essas abelhas só nidificam durante a estação chuvosa e emigram no período mais seco (FREITAS; SOUSA; BOMFIM, 2007).

A. mellifera percorrem grandes áreas para se acasalarem, faixas superiores às distâncias que percorrem para forrageamento (BEEKMAN; RATNIEKS, 2000; JENSEN et al., 2005). Rainhas e zangões são capazes de sobrevoar longas distâncias para acasalarem, mostrando que a altitude não representa isolamento completo entre as colônias. Em estudo realizado em vales semi-isolados, na Inglaterra, Jensen et al. (2005) constataram que *A. mellifera* pode voar por regiões com até 500 metros de altura, percorrendo vales e montanhas, para acasalarem.

A Análise de Variância Molecular (AMOVA), (Tabela 7) identificou que a maior parte da variação foi encontrada entre indivíduos, considerando a população total (91%) e que a menor variação foi verificada entre as regiões (1%) e entre populações (2%), sendo indicativo de pouca diferença genética entre as populações.

Tabela 7- Análise de variância molecular (AMOVA) realizada entre as seis populações de *Apis mellifera*.

Fontes de Variação	Grau de Liberdade	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	Componente de variância	%	Índices de Fixação
Entre regiões	1	8.030	8.030	0.029	1%	0,010
Entre populações	4	18.512	4.628	0.056	2%	0,020
Entre indivíduos dentro das populações	96	277.439	2.890	0.173	6%	0,064
Entre indivíduos	102	259.500	2.544	2.544	91%	0,092
Total	203	563.480		2.802	100%	

A baixa diferenciação entre as populações pode ser resultado do comportamento de enxameação, que nas abelhas africanizadas do Brasil pode ocorrer de 3 a 4 vezes no ano e pode ser motivada por mudanças ambientais, como escassez de nutriente ou pela saída natural de uma rainha com parte da colmeia, em busca de melhores condições para estabelecer a nova colônia (CORREIA – OLIVEIRA, 2012).

Para determinar a representação estrutural das populações por meio do programa STRUCTURE considerou-se $K = 1$, pois observa-se que a probabilidade a posteriori, para esse valor é próximo a 100% quando comparado a outros valores de K testados (Tabela 8).

Tabela 8- Determinação do valor mais provável de K, de acordo com as estimativas de probabilidade à posteriori calculadas a partir de LnP(K).

K	Média LnP(K)	Desvio Padrão	
		Ln P(K)	Probabilidades à posteriori
1	-3042.12	0,44	1,00
2	-3065.63	49,78	$6,16 \times 10^{-11}$
3	-3119.08	111,54	$3,77 \times 10^{-34}$
4	-3079.30	47,02	$7,13 \times 10^{-17}$
5	-3114.46	93,36	$3,83 \times 10^{-32}$
6	-3086.92	36,81	$3,50 \times 10^{-20}$
7	-3118.30	71,79	$8,23 \times 10^{-34}$
8	-3069.20	35,75	$1,74 \times 10^{-12}$

A migração entre populações revelou-se muito alta e bidirecional. A inferência bayesiana das taxas de migração utilizando o software MIGRATE mostrou que duas populações diferentes trocam uma média de 19,39 indivíduos/geração por processo de migração. Os valores de número efetivo de migrantes por geração, correspondente às comparações por pares, são apresentados na tabela 9 e figura 3.

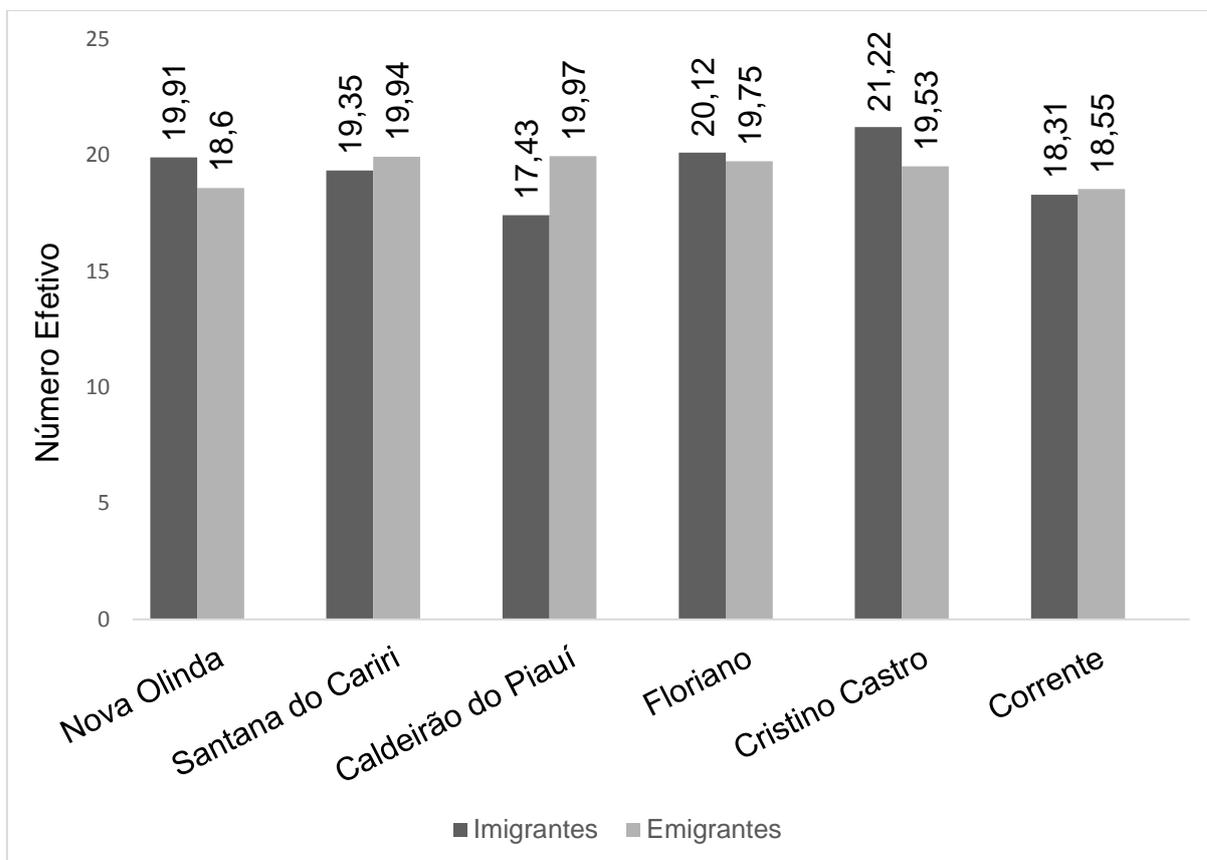
O menor evento imigratório foi registrado em Corrente, que recebeu 15,52 indivíduos de Nova Olinda. Também se verificou baixas taxas de migração entre Corrente e Santana do Cariri (16,17), Corrente e Caldeirão do Piauí (17,15). Corrente envia maior número de indivíduos para Cristino Castro (21,77). Estes resultados corroboram com a ideia de que quanto maior a distância geográfica menor o fluxo migratório e vice-versa.

Verificou-se, porém, que Caldeirão do Piauí recebeu de Nova Olinda um dos menores valores de migração (16,84) (Tabela 9), embora geograficamente estejam próximas. No entanto, de acordo com Wright (1931), um migrante por geração (a regra de Um Migrante por Geração - OMPG) seria suficiente, para garantir a homogeneidade genética entre as populações.

Tabela 9- Estimativa de máxima verossimilhança para theta de cada população e taxa média de migração bidirecional escalonada (M) entre populações de *Apis mellifera* dos estados do Piauí e Ceará. Nova Olinda (NOL), Santana do Cariri (SDC), Caldeirão do Piauí (CDP), Floriano (FLO), Cristino Castro (CCT) e Corrente (COR).

População Doadora	População Receptora						
	θ	NOL	SDC	CDP	FLO	CCT	COR
NOL	0,098	-	19,00	16,84	20,55	21,11	15,52
SDC	0,098	20,31	-	18,26	21,02	21,87	18,24
CDP	0,097	20,73	20,71	-	19,62	20,42	18,38
FLO	0,098	20,03	20,59	18,05		20,97	19,15
CCT	0,098	20,24	20,28	16,88	20,00	-	20,29
COR	0,098	18,25	16,17	17,15	19,45	21,77	-

Conforme observado na Figura 3 a menor taxa de imigrante ocorre em Caldeirão do Piauí (17,43) e a maior em Cristino Castro (21,22). Sobre a taxa de emigração Corrente enviou menor número de indivíduos por população (18,55) e Caldeirão do Piauí foi quem mais enviou indivíduos (19,97). Entretanto, de forma geral, as taxas observadas para cada localidade podem ser consideradas homogêneas, não sendo observado um direcionamento que indique a dispersão da espécie para uma região específica.

Figure 3- Número efetivo médio de migrantes em cada localidade amostrada.

5 CONCLUSÕES

Os marcadores microssatélites selecionados para o estudo mostraram-se eficientes e direcionaram os resultados da pesquisa sempre para as mesmas respostas.

A análise permite inferir que não existe estruturação populacional. Cada população, bem como cada indivíduo é constituído pelo mesmo grupo genético, o que significa que qualquer um dos indivíduos poderia pertencer a qualquer uma das populações dos seis municípios amostrados.

Os resultados deste estudo também reforçam a ideia de fluxo gênico sendo responsável pela baixa diferenciação genética entre os grupos, consequência do comportamento migratório bem forte em abelhas africanizadas.

As altas taxas de migração encontradas nos resultados deste estudo apoiam a ideia de que apenas o fluxo gênico atual, entre populações, é suficiente para manter homogênea a distribuição da diversidade genética.

As distâncias geográficas que separam os municípios amostrados não representam barreiras geográficas suficientes para impedir o deslocamento das abelhas africanizadas de uma região para outra, mesmo porque não se pode desconsiderar a ação antrópica, que contribui fortemente no intercâmbio de informações genéticas entre as populações.

Conclui-se ainda que as diferenças genéticas entre as populações amostradas, aumentam conforme aumentam as distâncias geográficas entre elas.

As informações moleculares não evidenciaram presença de fluxo migratório associado ao vale do rio Gurgueia, também não foram observadas diferenças entre populações que estão sob influência deste rio com relação as demais.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEMEL. Associação Brasileira de Exportadores do Mel Setor Apícola Brasileiro em Números. 2016. Disponível em:

http://brazilletsbee.com.br/inteligencia_comercial_abemel_dezembro_2016. Acesso: fevereiro de 2017.

BACHA JÚNIOR, G. L.; FELIPE-SILVA, A. S.; PEREIRA, P. L. Taxa de infestação por ácaro *Varroa destructor* em apiários sob georreferenciamento. **Arquivo brasileiro de medicina veterinária e zootecnia**, p. 1471-1473, 2009.

BALLOUX, F.; GOUDET, J. Statistical properties of population differentiation estimators under stepwise mutation in a finite island model. **Molecular Ecology**, v. 11, n. 4, p. 771-783, 2002.

BALLOUX, F.; LUGON-MOULIN, N. The estimation of population differentiation with microsatellite markers. **Molecular ecology**, v. 11, n. 2, p. 155-165, 2002.

BASSAM, B. J.; CAETANO-ANOLLÉS, G.; GRESSHOFF, P. M. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. **Analytical biochemistry**, v. 196, n. 1, p. 80-83, 1991.

BEEKMAN, M.; RATNIEKS, F. L. W. Long-range foraging by the honey-bee, *Apis mellifera* L. **Functional Ecology**, v. 14, n. 4, p. 490-496, 2000.

BEERLI, P.; FELSENSTEIN, J. Maximum likelihood estimation of a migration matrix and effective population sizes in *n* subpopulations by using a coalescent approach. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, p. 4563–4568, 2001.

BORÉM, A.; MIRANDA, G.V. **Melhoramento de plantas**. 5.ed. Viçosa: UFV. p. 529, 2009.

BOTSTEIN, D.; WHITE, R. L.; SKOLNICK, M.; DAVIS, R. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. **American Journal of Human Genetics**, p. 314–331, 1980.

BRITO, J. C; COSTA, A. R. **Geografia do Piauí: Conhecer para valorizar**, 1 ed. Teresina, EDUFPI, 2012.

CARANTÓN, O. A. M. **Melhoramento Genético e seleção de colmeias para aumento da produção de própolis verde na apicultura comercial**. 2012. Tese (Doutorado em Ciências) apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.

CARDINAL, S.; DANFORTH, B.N. Bees diversified in the age of eudicots. **Proceedings of the Royal Society B Biological Sciences**, v. 280, p. 15-30, 2013.

COFFEY, M. F. Parasites of the Honeybee. **Teagasc**, p. 81, 2007.

COFFEY, M. F.; BREEN, J. Seasonal variation in pollen and nectar sources of honey bees in Ireland. **Journal of Apicultural Research**, v. 36, n. 2, p. 63-76, 1997.

CONTE, L.Y.; NAVAJAS, M. A. Climate change: impact on honey bee populations and diseases. **Revue scientifique et technique-Office international des Epizooties**, v. 27, p. 499-510, 2008.

CORREIA-OLIVIEIRA, M. E.; NUNES, L. A.; SILVEIRA, T. D., MARCHINI, L. C.; SILVA, J. D. Manejo da agressividade de abelhas africanizadas. **Série Produtor Rural**, n. 53, 2012.

DE FREITAS, P. V. D. X.; RIBEIRO, F. M.; DE ALMEIDA, E. M.; ZANATA, R. A.; ALVES, J. J. L.; OLIVEIRA, V. F.; FAQUINELLO, P. Declínio populacional das abelhas polinizadoras: Revisão. **PUBVET**, v. 11, p. 1-102, 2016.

DE JONG, D. O. impacto das abelhas africanizadas nas Américas. In: ENCONTRO BRASILEIRO SOBRE BIOLOGIA DE ABELHAS E OUTROS INSETOS SOCIAIS. Rio Claro SP. **Anais...** São Paulo: Naturalia, p. 112-116, 1992.

DELANEY, D. A.; KELLER, J. J.; CAREN, J. R.; TARPY, D. R. The physical, insemination, and reproductive quality of honey bee queens (*Apis mellifera* L.). **Apidologie**, 2010.

DYNES, T. L.; ROODE, J. C.; LYONS, J. I.; BERRY, J. A.; DELAPLANE, K. S.; BROSI, B. J. Fine scale population genetic structure of *Varroa destructor*, an ectoparasitic mite of the honey bee (*Apis mellifera*). **Apidologie**, v. 48, n. 1, p. 93-101, 2017.

ECKHOLM, B. J.; HUANG, M. H.; ANDERSON, K. E.; MOTT, B. M.; DEGRANDI-HOFFMAN, G. Honey bee (*Apis mellifera*) intracolony genetic diversity influences worker nutritional status. **Apidologie**, v. 46, n. 2, p. 150-163, 2015.

ESTOUP, A.; GARNERY, L.; SOLIGNAC, M.; CORNUET, J. M. Microsatellite variation in honey bee (*Apis mellifera* L.) populations: hierarchical genetic structure and test of the infinite allele and stepwise mutation models. **Genetics**, v. 140, n. 2, p. 679-695, 1995.

ESTOUP, A.; SOLIGNAC, M.; CORNUET, J.M. Precise assessment of the number of patrilineages and of genetic relatedness in honeybee colonies. **Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences**, v. 258, n. 1351, p. 1-7, 1994.

ESTOUP, A.; SOLIGNAC, M.; HARRY, M.; CORNUET, J. M. Characterization of (GT)_n and (CT)_n microsatellites in two insect species: *Apis mellifera* and *Bombus terrestris*. **Nucleic Acids Research**, v. 21, n. 6, p. 1427-1431, 1993.

FALEIRO, F.G. **Marcadores genético moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos**. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, p. 107, 2007.

FAO - **Food and Agriculture Organization. Molecular genetics characterization of animal genetic resources**. FAO Animal Production and Health Guidelines Nº 9. Rome. 2011.

FERREIRA, K. M.; SILVA, O. L.; ARIAS, M. C.; DEL LAMA, M. A. Cytochrome-b variation in *Apis mellifera* samples and its association with COI–COII patterns. **Genetica**, v. 135, n. 2, p. 149-155, 2009.

FERREIRA, M. E.; GRATAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares na análise genética**. 3.ed. Brasília: Embrapa-Cenargen, p. 220, 1998.

FIELD, D.; WILLS, C. Abundant microsatellite polymorphism in *Saccharomyces cerevisiae*, and the different distributions of microsatellites in eight prokaryotes and *S. cerevisiae*, result from strong mutation pressures and a variety of selective forces. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 95, n. 4, p. 1647-1652, 1998.

FRANCK, P.; GARNERY, L.; SOLIGNAC, M.; CORNUET, J. M. P. Molecular confirmation of a fourth lineage in honeybees from the Near East. **Apidologie**, v. 31, n. 2, p. 167-180, 2000.

FRANCK, P.; SOLIGNAC, M.; VAUTRIN, D.; CORNUET, J. M.; KOENIGER, G.; KOENIGER, N. Sperm competition and last-male precedence in the honeybee. **Animal Behaviour**, v. 64, n. 3, p. 503-509, 2002.

FREITAS, B. M.; SOUSA, R. M.; BOMFIM, I.G.A. Absconding and migratory behaviors of feral Africanized honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies in NE Brazil. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 29, p. 381-385, 2007.

FREITAS, D. G. F.; KHAN, A. S.; SILVA, L. M. R. Nível tecnológico e rentabilidade de produção de mel de abelha (*Apis mellifera*) no Ceará. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 42, n. 1, p. 171-188, 2004.

GONÇALVES, L.S. A influência do comportamento das abelhas africanizadas na produção, capacidade de defesa e resistência a doenças. In: I ENCONTRO SOBRE ABELHAS DE RIBEIRÃO PRETO. Ribeirão Preto, 1994. **Anais...** Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, p. 69-79, 1994.

GONÇALVES, L.S. The introduction of the African Bees (*Apis mellifera scutellata*) into Brazil and some comments on their spread in South America. **American Bee Journal**, v.114, n.11, p.414-419, 1974.

GOUDET, J. FSTAT (version 1.2): a computer program to calculate F-statistics. **Journal of heredity**, v. 86, n. 6, p. 485-486, 1995.

GROZINGER, C. M.; FAN, Y.; HOOVER, S. E.; WINSTON, M. L. Genome-wide analysis reveals differences in brain gene expression patterns associated with caste and reproductive status in honey bees (*Apis mellifera*). **Molecular Ecology**, v. 16, n. 22, p. 4837-4848, 2007.

GROZINGER, C. M.; RICHARDS, J.; MATTILA, H. R. From molecules to societies: mechanisms regulating swarming behavior in honey bees (*Apis* spp.). **Apidologie**, v. 45, n. 3, p. 327-346, 2014.

HACHIOHE, K.; ONISHI, A. On the meiosis of the drone of honey bee (*Apis mellifera*). **Bulletin of the National Institute of Agricultural Sciences G**, v. 3, p. 83-87, 1952.

HOLMES, Michael J.; OLDROYD, B. P.; DUNCAN, M.; ALLSOPP, M. H.; BEEKMAN, M. Cheaters sometimes prosper: targeted worker reproduction in honeybee (*Apis*

mellifera) colonies during swarming. **Molecular ecology**, v. 22, n. 16, p. 4298-4306, 2013.

JENSEN, A. B.; PALMER, K. A.; CHALINE, N.; RAINE, N. E.; TOFILSKI, A.; MARTIN, S. J.; RATNIEKS, F. L. Quantifying honey bee mating range and isolation in semi-isolated valleys by DNA microsatellite paternity analysis. **Conservation Genetics**, v. 6, n. 4, p. 527-537, 2005.

KADRI, S. M; HARPUR, B. A.; ORSI, R. O.; ZAYED, A. A variant reference data set for the Africanized honeybee, *Apis mellifera*. **Scientific data**, v. 3, p. 1-6, 2016.

KALINOWSKI, S. T.; TAPER, M. L.; MARSHALL, T. C. Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. **Molecular ecology**, v. 16, n. 5, p. 1099-1106, 2007.

KERR, W.E. The history of introduction of African bees to Brazil. **South African Bee Journal**, v.38, p. 3-5, 1967.

KRAUS, F. B.; NEUMANN, P.; MORITZ, R. F. A. Genetic variance of mating frequency in the honeybee (*Apis mellifera* L.). **Insectes Sociaux**, v. 52, n. 1, p. 1-5, 2005.

LEAL NETO, José Xavier. **Capacidade de suporte da caatinga para a atividade apícola no estado do Piauí**. 1998. 122f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1998.

LEHMANN, T.; HAWLEY, W. A.; COLLINS, F. H. An evaluation of evolutionary constraints on microsatellite loci using null alleles. **Genetics**, v. 144, n. 3, p. 1155-1163, 1996.

LINKSVAYER, T. A.; KAFTANOGLU, O.; AKYOL, E.; BLATCH, S.; AMDAM, G. V.; PAGE, R. E. Larval and nurse worker control of developmental plasticity and the evolution of honey bee queen-worker dimorphism. **Journal of evolutionary biology**, v. 24, n. 9, p. 1939-1948, 2011.

LOPER, G. M.; WOLF, W. W.; TAYLOR JR, O. R. Honey bee drone flyways and congregation areas: Radar observations. **Journal of the Kansas Entomological Society**, p. 223-230, 1992.

LÓPEZ-URIBE, M. M.; APPLER, R. H.; YOUNGSTEADT, E.; DUNN, R. R.; FRANK, S. D.; TARPY, D. R. Higher immunocompetence is associated with higher genetic diversity in feral honey bee colonies (*Apis mellifera*). **Conservation Genetics**, p. 1-8, 2017.

MALYSHEV, S. I. Genesis of the Hymenoptera. In: Genesis of the Hymenoptera and the phases of their evolution. **Springer US**, p. 3-9, 1968.

MARTINEZ, O.; SOARES, A. E. E. Melhoramento genético na apicultura comercial para produção da própolis. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 13, n. 4, p. 982-990, 2012.

MICHELETTE, E. D. F.; SOARES, A. E. E. Characterization of preimaginal developmental stages in Africanized honey bee workers (*Apis mellifera* L). **Apidologie**, v. 24, p. 431-431, 1993.

MICHENER, C. D. Comparative social behavior of bees. **Annual review of entomology**, v. 14, n. 1, p. 299-342, 1969.

MICHENER, C. D.; GREENBERG, L. Ctenoplectridae and the origin of long-tongued bees. **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 69, n. 3, p. 183-203, 1980.

MULLIS, K. The unusual origin of the polymerase chain reaction. **Scientific American**, v. 262, n. 4, p. 56-61, 1990.

MUÑOZ, I.; HENRIQUES, D.; JARA, L.; JOHNSTON, J. S.; CHÁVEZ-GALARZA, J.; DE LA RÚA, P.; PINTO, M. A.I. SNPs selected by information content outperform randomly selected microsatellite loci for delineating genetic identification and introgression in the endangered dark European honeybee (*Apis mellifera mellifera*). **Molecular ecology resources**, 2016.

OLIVEIRA, M. L.; CUNHA, J. A. Abelhas africanizadas *Apis mellifera scutellata* Lepeletier, 1836 (Hymenoptera: Apidae: Apinae) exploram recursos na floresta amazônica. **Acta Amazônica**, v. 35, n. 3, p. 389-394, 2005.

PARKER, R.; MELATHOPOULOS, A. P.; WHITE, R.; PERNAL, S. F.; GUARNA, M. M.; FOSTER, L. J. Ecological adaptation of diverse honey bee (*Apis mellifera*) populations. **PLoS One**, v. 5, n. 6, 2010.

PARPINELLI, R. S.; RUVOLO-TAKASUSUKI, M. C. C.; TOLEDO, V. A. A. MRJP microsatellite markers in Africanized *Apis mellifera* colonies selected on the basis of royal jelly production. **Genetics and Molecular Research**, v. 13, n. 3, p. 6724-6733, 2014.

PEAKALL, R.; SMOUSE, P.E. GenAEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research update. **Bioinformatics**, v.28, p.2537-2539, 2006.

PIRES, C.S. S.; PEREIRA, F.M.; LOPES, M.R.; NOCELLI, R.C. F.; MALASPINA, O.; PETTIS, J.S.; TEIXEIRA, E. W. Enfraquecimento e perda de colônias de abelhas no Brasil: há casos de CCD?. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 5, p. 422-442, 2016.

PRITCHARD, J. K.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, v. 155, p. 945-959. 2000.

RANGEL, J.; BÖRÖCZKY, K.; SCHAL, C.; TARPY, D. R. Honey Bee (*Apis mellifera*) Queen Reproductive Potential Affects Queen Mandibular Gland Pheromone Composition and Worker Retinue Response. **PloS one**, v. 11, n. 6, 2016b.

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

RANGEL, J.; TARPY, D. R. The combined effects of miticides on the mating health of honey bee (*Apis mellifera* L.) queens. **Journal of Apicultural Research**, v. 54, n. 3, p. 275-283, 2015.

RICHARDS, J.; CARR-MARKELL, M.; HEFETZ, A.; GROZINGER, C. M.; MATTILA, H. R. Queen-produced volatiles change dynamically during reproductive swarming and are associated with changes in honey bee (*Apis mellifera*) worker behavior. **Apidologie**, v. 46, n. 6, p. 679-690, 2015.

ROCHA, J.S.; Apicultura, Manual Técnico 05; Programa Rio Rural, Niterói – RJ, Julho de 2008.

ROUSSET, F. Genepop'007: a complete re-implementation of the genepop software for windows and linux. **Molecular Ecology Resources**, v.8 p.103-106, 2008.

SANTOS, A. S. A vida de uma abelha solitária. 2002. Disponível em: <<http://www.abelhas.noradar.com>> Acesso: fevereiro 2017.

SCHAERF, T. M.; MAKINSON, J. C., MYERSCOUGH, M. R.; BEEKMAN, M. Do small swarms have an advantage when house hunting? The effect of swarm size on nest-site selection by *Apis mellifera*. **Journal of The Royal Society Interface**, v. 10, n. 87, 2013.

SCHLÜNS, H.; KOENIGER, G.; KOENIGER, N.; MORITZ, R. F. Sperm utilization pattern in the honeybee (*Apis mellifera*). **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 56, n. 5, p. 458-463, 2004.

SEELEY, T. D. **Ecologia da abelha: um estudo de adaptação na vida social**. Porto Alegre: Paixão, p.256, 2006.

SILVA, L.C. Apicultura Migratória no Nordeste. In: XI Congresso Brasileiro de Apicultura, 1996, Teresina Piauí. **Anais...** Teresina, p. 165 – 166, 1996.

SIMONE-FINSTROM, M.; LI-BYARLAY, H.; HUANG, M. H.; STRAND, M. K.; RUEPPELL, O.; TARPY, D. R. Migratory management and environmental conditions affect lifespan and oxidative stress in honey bees. **Scientific reports**, v. 6, 2016.

SLATKIN, M. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. **Genetics**, v. 139, n. 1, p. 457-462, 1995.

SOARES, A. E. E. Abelhas africanizadas no brasil: do impacto inicial às grandes transformações in Anais da 64ª Reunião Anual da SBPC, 2012, São Luís, MA – Julho/2012.

SOLIGNAC, M.; MOUGEL, F.; VALTRIN, D.; MONNEROT, M.; CORNUET, J.M. A third-generation microsatellite-based linkage map of the honey bee, *Apis mellifera*, and its comparison with the sequence-based physical map. **Genome biology**, v. 8, n. 4, p. R66, 2007.

SOLIGNAC, M.; VAUTRIN, D.; LOISEAU, A.; MOUGEL, F.; BAUDRY, E.; ESTOUP, A.; CORNUET, J. M. Five hundred and fifty microsatellite markers for the study of the honeybee (*Apis mellifera* L.) genome. **Molecular Ecology Notes**, v. 3, n. 2, p. 307-311, 2003.

STRAUSS, K.; SCHARPENBERG, H.; CREWE, R. M.; GLAHN, F.; FOTH, H.; MORITZ, R. F. The role of the queen mandibular gland pheromone in honeybees (*Apis mellifera*): honest signal or suppressive agent?. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 62, n. 9, p. 1523-1531, 2008.

SUNNUCKS, P. Efficient genetic markers for population biology. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 15, n. 5, p. 199-203. 2000.

TARPY, D. R.; CAREN, J. R.; DELANEY, D. A.; SAMMATARO, D.; FINLEY, J.; LOPER, G. M.; DEGRANDI-HOFFMAN, G. Mating frequencies of Africanized honey bees in the south western USA. **Journal of Apicultural Research**, v. 49, n. 4, p. 302-310, 2010.

TARPY, D. R.; DELANEY, D. A.; SEELEY, T. D. Mating frequencies of honey bee queens (*Apis mellifera* L.) in a population of feral colonies in the northeastern United States. **PloS one**, v. 10, n. 3, 2015.

TARPY, D. R.; NIELSEN, D.I. Sampling error, effective paternity, and estimating the genetic structure of honey bee colonies (Hymenoptera: Apidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 95, n. 4, p. 513-528, 2002.

TARPY, D. R.; SIMONE-FINSTROM, M.; LINKSVAYER, T. A. Honey bee colonies regulate queen reproductive traits by controlling which queens survive to adulthood. **Insectes Sociaux**, v. 63, n. 1, p. 169-174, 2016.

TRIPLEHORN, C.A.; JOHNSON, N.F. **Estudo dos insetos**. São Paulo: Cengage Learning, p. 809, 2011.

VAN OOSTERHOUT, C.; HUTCHINSON, W. F.; WILLS, D. P.; SHIPLEY, P. Micro-Checker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. **Molecular Ecology Notes**, v.4, p. 535-538, 2004.

VANDAME, R.; MORAND, S.; COLIN, M.E.; BELZUNCES, L.P. Parasitism in the social bee *Apis mellifera*: quantifying costs and benefits of behavioral resistance to *Varroa destructor* mites. **Apidologie**, v. 33, n. 5, p. 433-446, 2002.

WISTON, M.L. **A biologia de Abelhas**. Porto Alegre: Magister, p.276, 2003.

WOYKE, J. Natural and artificial insemination of queen honeybees. **Bee World**, v. 43, n. 1, p. 21-25, 1962.

WRIGHT, S. Evolution in Mendelian populations. **Genetics**, v. 16, n. 2, p. 97-159, 1931.

WRIGHT, S. Variability within and among natural populations. **Evolution and the genetics of populations: a treatise in four volumes**: University of Chicago Press, 1978.

ZAYED, A.; WHITFIELD, C. W. A genome-wide signature of positive selection in ancient and recent invasive expansions of the honey bee *Apis mellifera*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 105, n. 9, p. 3421-3426, 2008.