



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA-PDIZ

EPIFÂNIA EMANUELA DE MACÊDO ROCHA

MULTIPLICAÇÃO DE COLÔNIAS DE UMA NOVA ESPÉCIE DE
***Scaptotrigona*: PRODUÇÃO DE RAINHAS *in vitro* E TÉCNICAS DE**
DIVISÃO

FORTALEZA

2018

EPIFÂNIA EMANUELA DE MACÊDO ROCHA

MULTIPLICAÇÃO DE COLÔNIAS DE UMA NOVA ESPÉCIE DE *Scaptotrigona*:
PRODUÇÃO DE RAINHAS *in vitro* E TÉCNICAS DE DIVISÃO

Tese submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutora em Zootecnia. Área de concentração: Produção Animal

Orientador: Prof. PhD. Breno Magalhães Freitas

FORTALEZA

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- R572m Rocha, Epifânia Emanuela de Macêdo.
Multiplicação de colônias de uma nova espécie de *Scaptotrigona* : produção de rainhas in vitro e técnicas de divisão / Epifânia Emanuela de Macêdo Rocha. – 2018.
104 f. : il. color.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Fortaleza, 2018.
Orientação: Prof. Dr. Breno Magalhães Freitas.
1. Meliponíneos. 2. Abelhas sem ferrão . 3. Métodos de multiplicação de colônias . 4. Aceitação de rainhas virgens. I. Título.

CDD 636.08

EPIFÂNIA EMANUELA DE MACÊDO ROCHA

MULTIPLICAÇÃO DE COLÔNIAS DE UMA NOVA ESPÉCIE DE *Scaptotrigona*:
PRODUÇÃO DE RAINHAS *in vitro* E TÉCNICAS DE DIVISÃO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial à obtenção Título de Doutor (a) em Zootecnia.
Área de concentração: Produção Animal.

Aprovada em: 28/03/2018.

BANCA EXAMINADORA

Prof. PhD Breno Magalhães Freitas, (Orientador)
Universidade Federal do Ceará – UFC

Dr. Francisco Deoclécio Guerra Paulino,
Universidade Federal do Ceará – UFC

Prof. Dr. Júlio Otávio Portela Pereira,
Instituto Federal do Ceará – IFCE

Prof. Dr. José Everton Alves
Universidade Estadual Vale do Acaraú – UEVA

Dr. Luiz Wilson Lima Verde
Universidade Federal do Ceará – UFC

A Deus.

Aos meus pais, Luzinete e Inácio pela educação e ensinamentos.

As minhas irmãs Sandra e Inácia pelo carinho e apoio.

A minha tia avó Maria Edith de Macêdo (*in memoriam*).

AGRADECIMENTOS

A Deus pela sua presença constante em minha vida, dando-me coragem e perseverança para continuar seguindo em frente mesmo quando os obstáculos para mim pareciam intransponíveis.

Aos meus pais pelo apoio, principalmente à minha mãe que sempre esteve ao meu lado incondicionalmente, não medindo esforços para a minha educação e formação profissional. Um verdadeiro anjo da guarda que Deus colocou em minha vida.

Às minhas irmãs, Inádia de Macêdo e Sandra de Macêdo, pelo apoio e compreensão nos momentos que precisei.

À toda família Macêdo, em especial, à minha tia-avó Edith Macêdo (*in memorian*) por sempre torcer e rezar por mim.

Às minhas grandes amigas Dra. Raquel Andréa Pick, Iana Távora Lima e Marília Gabriela Frota, pessoas maravilhosas com quem sempre pude contar em todos os momentos, meu muito obrigada.

À amiga Jamille Veiga pela disponibilidade e paciência durante meu estágio na EMBRAPA Amazônia Oriental e à sua mãe, Sra. Auriel por me receber em casa e me fazer sentir parte da família, meu muito obrigada! E não poderia deixar de lembrar da Mabel (*in memorian*), por nos alegrar a cada chegada em casa, saudades eternas!

As minhas amigas e colegas de laboratório e pesquisa Gercy Soares, Hiara Meneses, Arianne Moreira, Angela Gomes e Nayanny Fernandes colegas e amigas com quem compartilhei muito mais que a companhia nas pesquisas, nas observações ou no manejo com as abelhas. A amizade de vocês eu levarei comigo sempre. E aos meus colegas e amigos de laboratório que fizeram parte dessa trajetória Abreu Neto, Jânio Félix (presidente), Jameson Guedes, Diego Lourenço, Felipe Lima, Leonardo Gurgel, Mikail Olinda e Elton Melo, obrigada pelo convívio e bons momentos no Laboratório de Abelhas.

As alunas do Programa de Educação Tutorial (PET) da Zootecnia Ana Carolina Paulino e Carina de Oliveira, tenham certeza de que aprendi muito com cada uma de vocês. Aos alunos de Iniciação Científica (IC) Rafael Ramalho, e em especial à Agaciane Rodrigues, Conceição Parente e Janaely Silva, que de aprendizes, passaram para colegas e amigas, agradeço a ajuda de cada um de vocês durante o desenvolvimento desse trabalho.

Meus agradecimentos aos alunos voluntários do Laboratório de Abelhas sempre dispostos a nos ajudar e a colaborar com nossos trabalhos, em especial ao Fabrício Gomes por sua organização, dedicação e disponibilidade na montagem das lâminas de pólen.

Ao Prof. PhD. Breno Magalhães Freitas por todos esses anos de apoio, confiança, paciência, conselhos e principalmente pela orientação e contribuição para minha formação acadêmica como orientador na construção deste trabalho.

À professora Dra. Cláudia Inês Silva, agradeço a paciência e boa vontade em tirar minhas dúvidas, além de contribuir com sugestões no início desse trabalho.

Aos integrantes da banca de defesa Dr. Wilson Lima Verde, Prof. Dr. Everton Alves, Prof. Dr. Júlio Otávio e ao Dr. Deoclécio Paulino, por não medirem esforços para se fazerem presentes e contribuírem com mais essa etapa acadêmica. Meu muito obrigada!

Ao colega Alípio Pacheco que apesar dos muitos compromissos, dedicou seu tempo para ajudar nas análises dos dados, além de contribuir com sugestões para este trabalho.

Ao funcionário do Setor de Abelhas, Sr. Francisco José Carneiro da Silva, pela amizade e respeito, pois foi através de seus ensinamentos práticos que de fato ingressei no mundo das abelhas.

Aos seguranças Sr. Ribamar Gomes e Sr. Mauro dos Santos sempre dispostos a ajudar, além de contribuir para segurança em minhas revisões no meliponário aos fins de semana.

Aos amigos Othon Ferreira, Danielle Saraiva, Natália Aquino, Yara Araújo, Rebeca Magda, Sarah Gomes, Fred Acioly, João Bosco, Cleo Barbosa, Fabiano Malveira, agradeço pelos momentos de descontração e torcida durante a realização deste trabalho.

À Universidade Federal do Ceará – UFC, em particular, ao Programa de Doutorado Integrado em Zootecnia-PDIZ/UFPB/UFC/UFRPE, unidade Fortaleza, pela oportunidade de realização do Curso de Doutorado bem como ao corpo docente que o torna de excelência.

A Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento pelo apoio financeiro durante os meses com manutenção da bolsa de auxílio.

Ao coordenador do Programa de Doutorado Integrado em Zootecnia, unidade Fortaleza, Prof. Dr. Ednardo Rodrigues Freitas, e à Secretária da Coordenação da Pós-Graduação Francisca Prudêncio, pelo apoio administrativo proporcionado durante todo o curso.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Agradeço a todas as pessoas que, de forma direta ou indireta, participaram e/ou contribuíram para a realização deste trabalho.

Abelha e flores são associadas. E Deus abençoou tal união para dar perenidade à natureza, e ao homem dar semente, mel e pão... Prolífera rainha é soberana, de unida, ordeira e alada multidão. O aroma que ela exala é como imã, fator e sintonia de união. (BRUENING, 1990.)

RESUMO

Este trabalho tem como objetivo estudar e desenvolver técnicas de criação, manejo e multiplicação de colônias de *Scaptotrigona* sp. nov. O estudo foi realizado no Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, no período de fevereiro de 2014 a novembro de 2016. Para a preparação e formação das novas colônias foram utilizados dois métodos: I) Introdução de realeiras ou Rainhas Virgens (RVs) nas colônias-filhas (modelo tradicional) e II) introdução de realeiras ou RVs em minicolônias. Ao todo, 52 tentativas de formação de novas colônias foram realizadas e as análises mostraram que não houve diferença entre métodos ($p = 0,771$) utilizados, nem entre anos ($p = 0,307$), mas ocorreu influência da pluviosidade do período ($p = 0,046$) sobre o sucesso do método. Quanto à emergência da rainha, a análise mostrou que não houve influência da precipitação ($p = 0,235$), nem houve diferença entre métodos ($p = 0,788$) utilizados, mas houve diferença entre anos ($p = 0,025$). A análise sobre o início da postura mostrou que não houve influência da pluviosidade ($p = 0,449$), nem anos ($p = 0,148$), mas houve diferença entre métodos ($p = 0,002$). Neste estudo, a precipitação pluvial influenciou negativamente no sucesso do método utilizado para formação de novas colônias. Rainhas instaladas em minicolônias foram mais rápidas em iniciar a atividade de postura. Já para a produção *in vitro* de rainhas e sua aceitação em novas colônias, o período crítico foi em relação ao número de pupas sobreviventes, pois houve mais perda na fase de larva para pupa (34%) em relação a fase de pupa para rainha (24%), com uma diferença de 49% de sucesso do estágio larval para pupa entre os ensaios. Em média o tempo de permanência das rainhas virgens nas colônias após sua introdução foi de 5,61 ($\pm 4,02$). As taxas de aceitação das rainhas introduzidas foram separadas em três classes de idades em dias 0 a 4 (77%), 5 a 9 (82%) e 10 a 14 (100%). Não houve relação ($p > 0,05$) entre as idades de introdução de rainhas virgens e a taxa de aceitação. Embora o estudo tenha apresentado uma boa taxa de aceitação (80%), não pudemos avaliar o estabelecimento de novas colônias em *Scaptotrigona* sp. nov., pois nenhuma das rainhas que saíram para voo retornaram à colônia.

Palavras-chave: meliponíneos; abelhas sem ferrão; métodos de multiplicação de colônias; aceitação de rainhas virgens.

ABSTRACT

This work aims to study and develop techniques for the creation, management and multiplication of *Scaptotrigona* sp. nov. The study was carried out at the Bees Sector of the Federal University of Ceará, from February 2014 to November 2016. For the preparation and formation of the new colonies, two methods were used: I) Introduction of cells or Virgin Queens (VQs) in the daughter colonies (traditional model) and II) introduction of cells or VQs in mini colonies. In all, 52 attempts to form new colonies were made and the analyzes showed that there was no difference between the methods ($p = 0.771$) used, nor between years ($p = 0.307$), but there was an influence of the rainfall of the period ($p = 0.046$) about the success of the method. As for the emergence of the queen, the analysis showed that there was no influence of precipitation ($p = 0.235$), nor was there a difference between methods ($p = 0.788$) used, but there was a difference between years ($p = 0.025$). The analysis on the beginning of the laying showed that there was no influence of rainfall ($p = 0.449$), nor years ($p = 0.148$), but there was a difference between methods ($p = 0.002$). In this study, rainfall has negatively influenced the success of the method used to form new colonies. Queens installed in mini colonies were quicker to start laying activity. For the in vitro production of queens and their acceptance in new colonies, the critical period was in relation to the number of surviving pupae, as there was more loss in the larva to pupa phase (34%) in relation to the pupa to queen phase (24%), with a 49% difference in success from the larval to pupal stage between the tests. On average, the virgin queens' stay in the colonies after their introduction was $5.61 (\pm 4.02)$. The acceptance rates of the introduced queens were separated into three age groups on days 0 to 4 (77%), 5 to 9 (82%) and 10 to 14 (100%). There was no relationship ($p > 0.05$) between the ages of introduction of virgin queens and the acceptance rate. Although the study showed a good acceptance rate (80%), We were unable to evaluate the establishment of new colonies in *Scaptotrigona* sp. nov., because none of the queens that left for flight returned to the colony.

Keywords: meliponineos; stingless bees; methods of colonization multiplication; acceptance of virgin queens.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Área experimental: meliponário do setor de abelhas situado no departamento de zootecnia no Campus do Pici, Universidade Federal do Ceará. 30
- Figura 2 – Vista superior da área do ninho de uma colônia de *Scaptotrigona* sp. nov. em caixa modelo INPA (Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia) com características ideais para ser multiplicada pelo método tradicional (A). Vista da parte inferior do sobre ninho da mesma colônia apresentando uma realeira isolada em destaque (B). Ninho de *Scaptotrigona* sp. nov. em caixa tipo nordestino com característica ideais para ser multiplicado utilizando a técnica de minicolônias (C). No detalhe uma realeira na periferia do disco novo. 18
- Figura 3 – Interior de um módulo melgueira adaptado para caixa racional onde as aberturas foram vedadas com madeira (retângulos em amarelo) (A). Vista da entrada da caixa adaptada, e no detalhe a placa de madeira fixa no fundo da caixa para uma melhor vedação (B). 34
- Figura 4 – Esquema representando a formação de novas colônias pelo método tradicional de multiplicação com a introdução de disco de crias emergente, pote vazio e com mel, operárias de diferentes idades e a introdução de uma rainha virgem (RV) marcada ou de uma realeira. 35
- Figura 5 – Esquema para a formação de novas colônias pelo método de minicolônias, onde uma caixa vazia recebe somente potes vazios moldados em cera para armazenamento de recursos (mel e pólen), uma placa de cera e o túnel interno de cera fixo à entrada (B). 39
- Figura 6 – Rainha virgem (RV) capturada para marcação após a emergência (A). Marcação da rainha com tinta atóxica (B). Rainha já marcada, pronta para introdução em colônia (C). 37
- Figura 7 – Vista interna de um ninho presente dentro do laboratório selecionada para doação de campeiras, discos e realeira/RV para criação de nova colônia pelo método tradicional (A). Montagem da caixa com os potes vazios, túnel43

interno e placa de cera (B). Vista interna da colônia recém-criada 1h após a troca de local com a colônia-mãe (C).

- Figura 8 – Visão interna de uma caixa preparada para multiplicação pelo método minicolônia (A). A mesma colônia 24h após sua criação com as campeiras, construção e aprovisionando pólen em potes recém-construídos (B) e após sete dias de sua criação antes da introdução do disco com realeira ou de uma RV (C). Após 30 dias a colônias já está estabelecida com discos novos e reserva de alimento armazenado (D). Aos 40 dias já possui discos novos e emergentes (E), no detalhe a primeira realeira construída. 44
- Figura 9 – Placa recém preparada para o desenvolvimento das rainhas *in vitro* de *Scaptotrigona* sp. nov. com o preenchimento dos poços individuais com alimento larval (A), seleção de larvas (B) e transferência das larvas do disco novo para células artificiais (placa de acrílico tipo Elisa) 68
- Figura 10 – Colônia: pupa de uma rainha apresentando mancha escura na cabeça sendo retirada pela operária de dentro uma célula real natural (A). Produção de rainhas *in vitro*: larvas em fase de pré-pupa apresentando manchas escuras no corpo (seta 1) e com o corpo já totalmente escurecido (seta 2) (B). Sequência de fotos de uma pupa de rainha com 31 dias apresentando pequeno ponto escuro na base da de uma das antenas (C), a mesma pupa aos 33 dias de desenvolvimento com a cabeça e primeiro par de pernas escurecido (D) e aos 38 dias apresentando todo corpo escuro (E). 70
- Figura 11 – Estádios de desenvolvimento de imaturo *in vitro* de *Scaptotrigona* sp. nov.: larvas dois dias após a incubação consumindo alimento e o fungo que proliferou na lateral do poço da placa (A); larvas com cinco dias em pleno desenvolvimento (B); fase de alimentação final com larva se posicionando de pé ereta no poço da placa de Elisa (C), larva após defecar e tecer fios do casulo (D); um dia antes da diferenciação (E) e no dia seguinte já como pupa (F); pupas com os olhos e ocelos pigmentando com 24 dias (G), aos 30 dias (H), aos 38 dias (I) e aos 40 dias de desenvolvimento (J), rainha com mais de 42 dias tentando sair da célula artificial (L). Rainha de *Scaptotrigona* sp. nov. recém emergida (M). 72

- Figura 12 – Larvas de rainhas de *Scaptotrigona* sp. nov. produzidas *in vitro* em desenvolvimento envoltas em fios do casulo tecido e fixos aos alvéolos artificiais. 73
- Figura 13 – Introdução de operárias e alimento (pólen e mel) em tubo *Eppendorf* para as rainhas de *Scaptotrigona* sp. nov. produzidas *in vitro*. (A). Rainhas se alimentando de mel e pólen fornecidos (B). 74
- Figura 14 – Rainhas virgens selecionada para introdução (A) e em período de adaptação confinadas em placas de Petri (B). Rainha selecionada para introdução exibindo marcação de identificação no tórax de cor azul (C). Rainha introduzida em núcleo de adaptação (D). 75
- Figura 15 – Módulo melgueira com setas indicando os locais vedados com madeira, potes, placa e túnel de cera (A), a mesma colônia preparada com discos emergentes e novos (B). Introdução de rainha virgem marcada em pote perfurado fixado próximo aos favos de crias (C). Rainha virgem aceita sobre disco novo e interagindo com operárias após sua aceitação. 76
- Figura 16 – Célula real emergente apresentando mancha lateral escura na parte externa (A), e dois dias depois foi destruída pelas operárias e dentro dela estava uma pupa de tamanho bem reduzido e cor preta (B). 79
- Figura 17 – Colônia órfã de *Scaptotrigona* sp. nov. preparada para receber rainha virgem *in vitro* com a redução da população e introdução de disco emergente (A), disco novo e a rainha virgem confinada em pote de cera (B). Detalhe da rainha no interior do pote de cera (C) 82

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 – Influência da precipitação no sucesso da introdução de rainhas virgens e realeiras para os dois métodos utilizados. 49
- Gráfico 2 – Influência da precipitação no sucesso da introdução de rainhas virgens e realeiras para os dois métodos utilizados. 50
- Gráfico 4 – Número de indivíduos sobreviventes que avançaram dos estágios de larva para pupa e de pupa para rainha virgem (R.V) nos três ensaios realizados para produção de rainhas in vitro de *Scaptotrigona* sp. nov. 73
- Gráfico 5 – Número de rainhas virgens de *Scaptotrigona* sp. nov. produzidas in vitro que foram introduzidas e aceitas em colônias órfãs e minicolônias durante o período experimental 77

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Resultados dos testes estatísticos (modelos lineares generalizados) para a variável dependente sucesso, segundo as variáveis independentes. 42
- Tabela 2 – Quantidade de ensaios realizados para produção *in vitro* de rainhas de *Scaptotrigona* sp. nov. com seus respectivos períodos de realização, quantidade de larvas transferidas, número de pupas sobreviventes e quantidade de rainhas virgens (RV) “emergidas” ao final do processo 63

SUMÁRIO

| | | |
|-------|---|----|
| 1 | CONSIDERAÇÕES INICIAIS | 17 |
| 2 | CAPÍTULO 1 – REFERENCIAL TEÓRICO | 19 |
| 2.1 | Aspectos gerais dos meliponíneos | 19 |
| 2.2 | A Meliponicultura | 20 |
| 2.3 | O uso das abelhas sem ferrão como agente polinizador | 21 |
| 2.4 | O gênero <i>Scaptotrigona</i> | 24 |
| 3 | CAPÍTULO 2 – MANEJO PARA FORMAÇÃO DE NOVAS COLÔNIAS DE SCAPTOTRIGONA SP. NOV. (MELIPONINAE) UTILIZANDO MÉTODO DE MULTIPLICAÇÃO TRADICIONAL E DE MINICOLÔNIAS | 32 |
| 4 | INTRODUÇÃO | 32 |
| 5 | MATERIAL E MÉTODOS | 34 |
| 5.1 | Localização e descrição da área de estudo | 34 |
| 5.2 | Preparação de caixas padrão e procedimento de formação de colônias | 38 |
| 5.2.1 | <i>Preparação da caixa para o método tradicional de multiplicação: introdução de realeiras ou rainhas virgens naturais:</i> | 40 |
| 5.2.2 | <i>Preparação da caixa para o método de formação de minicolônias com a introdução de realeiras ou RVs naturais:</i> | 42 |
| 5.3 | Descrição dos métodos utilizados para formação de novas colônias | 40 |
| 5.4 | Avaliação das colônias utilizadas no estudo | 35 |
| 5.5 | Análise estatística | 44 |
| 6 | RESULTADOS | 45 |
| 7 | DISCUSSÃO | 51 |
| 8 | CONCLUSÕES | 54 |
| 9 | CAPÍTULO 3 – PRODUÇÃO DE RAINHAS VIRGENS DE SCAPTOTRIGONA SP. NOV. (APIDAE, MELIPONINI) IN VITRO E SUA ACEITAÇÃO EM NOVAS COLÔNIAS | 61 |
| 10 | INTRODUÇÃO | 61 |
| 11 | MATERIAL E MÉTODOS | 64 |
| 11.1 | Produção de rainhas de <i>Scaptotrigona</i> sp nov. utilizando a técnica in vitro | 64 |

| | | |
|------|---|----|
| 11.2 | Produção de rainhas de <i>Scaptotrigona</i> sp. nov. utilizando alimento larval de <i>Scaptotrigona</i> aff. <i>depilis</i> | 65 |
| 11.3 | Formação de novas colônias | 66 |
| 11.4 | Análises de dados..... | 66 |
| 12 | RESULTADOS | 68 |
| 12.1 | Produção de rainhas in vitro de <i>Scaptotrigona</i> sp. nov..... | 68 |
| 12.2 | Formação de novas colônias e aceitação das rainhas in vitro | 74 |
| 13 | DISCUSSÕES | 78 |
| 13.1 | Produção de rainhas in vitro de <i>Scaptotrigona</i> sp. nov. | 80 |
| 13.2 | Formação de novas colônias e aceitação das rainhas in vitro | 81 |
| 14 | CONCLUSÕES | 84 |
| 15 | CONSIDERAÇÕES FINAIS | 93 |
| | REFERÊNCIAS | 95 |

1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS

As meliponíneos têm distribuição geográfica basicamente pantropical, com a maior parte da diversidade ocorrendo nas regiões tropicais e subtropicais do mundo. Essas abelhas são encontradas na América do Sul, América do Norte (México), América Central, Ásia, Ilhas do Pacífico, Austrália, Nova Guiné e África (SILVEIRA; MELO; ALMEIDA, 2002; CAMARGO, PEDRO, 2013; OLIVEIRA, *et al.*, 2013; ASCHER; PICKERING, 2018). No Brasil existe uma grande diversidade de meliponíneos, com uma estimativa de 3.000 espécies, contudo, destas, cerca de 10% são realmente conhecidas no país (SILVEIRA; MELO; ALMEIDA, 2002; ITIS, 2010; ASCHER; PICKERING, 2018).

Os meliponíneos são os insetos sociais mais promissores para o uso como polinizadores em sistemas comerciais abertos e em áreas de cultivo protegido (CRUZ; CAMPOS, 2009), principalmente devido às vantagens sobre a exótica *Apis mellifera*. Sua dependência dos recursos florais e das plantas propiciou o surgimento de adaptações recíprocas, observadas na morfologia e comportamento das abelhas e nos diferentes tipos de flores, tornando-as as mais indicadas para o serviço de polinização de espécies vegetais nativas e cultivadas (IMPERATRIZ-FONSECA; NUNES-SILVA, 2010; PINHEIRO, *et al.*, 2014). O serviço de polinização realizado por essas abelhas tem despertado o interesse de pesquisadores e meliponicultores, surgindo como uma nova prática a ser explorada. A utilização como polinizadores de plantas de importância comercial cresce como forma de atender uma demanda crescente para a polinização agrícola, compensando os declínios em populações de abelhas locais (IPBES, 2016).

A meliponicultura é considerada uma prática secular desde a época da civilização Maia, também sendo adotada por povos indígenas e tribos aborígenes (JAFFÉ *et al.*, 2015). Tradicionalmente essas abelhas eram criadas em troncos rústicos para aquisição de mel, própolis e cera (IPBES, 2016).

Entre o grupo das abelhas sem ferrão, destaca-se o gênero *Scaptotrigona*, compreendendo mais de 20 espécies de abelhas distribuídas na região neotropical, (SILVEIRA; MELO; ALMEIDA, 2002; ITIS, 2010; CAMARGO, PEDRO, 2013; ASCHER; PICKERING, 2018), sendo que destas nove ocorrem no Brasil (ITIS, 2010; PICKERING, 2018).

A descoberta de uma nova espécie de abelhas deste gênero, popularmente chamada de “canudo mansa”, despertou o interesse em estudos sobre sua biologia e utilização na polinização agrícola, que já apresentou resultados promissores em estudos realizados na polinização de melancia sem sementes (*Citrullus lanatus*) em ambiente protegido (BOMFIM, *et al.*, 2014). Contudo, essa espécie ainda está sendo descrita para a ciência, sendo temporariamente classificada como *Scaptotrigona* sp. nov. Com esse intuito, o presente trabalho tem como objetivo estudar e desenvolver técnicas de multiplicação de colônias de *Scaptotrigona* sp. nov. visando ao seu uso na polinização de culturas agrícolas econômica e socialmente importantes da agricultura brasileira.

2 CAPÍTULO 1 – REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Aspectos gerais dos meliponíneos

As abelhas da subfamília Meliponinae (Hymenoptera, Apidae) variam em tamanho, de minúsculas a médias, mas em geral são robustas (SILVEIRA; MELO; ALMEIDA, 2002). Estas abelhas têm a distribuição geográfica basicamente pantropical, com a maior parte da diversidade ocorrendo nas regiões tropicais, bem como nas regiões subtropicais do mundo, ocorrendo na América do Sul, América do Norte (México), América Central, Ásia, Ilhas do Pacífico, Austrália, Nova Guiné e África (SILVEIRA; MELO; ALMEIDA, 2002; CAMARGO, PEDRO, 2013; OLIVEIRA, *et al.*, 2013; ASCHER; PICKERING, 2018). No Brasil existe uma grande diversidade de abelhas, com uma estimativa de 3.000 espécies, no entanto, destas, cerca de 10% são realmente conhecidas no país (SILVEIRA; MELO; ALMEIDA, 2002).

Denominadas “abelhas sem ferrão”, elas são facilmente distinguidas de outras abelhas por três características: 1. reduzida venação alar; 2. presença de penicilo, uma escova de cerdas longas e rígidas localizadas anteriormente na margem apical externa da tíbia posterior, uma estrutura exclusiva dos Meliponinae; e 3. incapacidade de ferrear, mas não pela ausência de ferrão, e sim pelo fato de apresentarem um ferrão reduzido ou vestigial (não funcional) (SCHWARZ, 1948; WILLE, 1983; SILVEIRA; MELO; ALMEIDA, 2002; OLIVEIRA, *et al.*, 2013).

Este grupo é constituído por abelhas corbiculadas com comportamento altamente social na qual há sobreposição de gerações. Apresentam colônias perenes constituídas por três tipos básicos de indivíduos, rainhas, operárias e os machos, com ninhos apresentando um número de indivíduos que pode variar de algumas centenas a milhares, dependendo da espécie (MICHENER, 2007; OLIVEIRA, *et al.*, 2013). A divisão de trabalho é bem definida entre as duas castas femininas. A casta denominada operária é a responsável pela organização, construção e manutenção da estrutura física do ninho, coleta e o processamento do alimento, defesa da colônia, nutrição das crias e da rainha, além das demais atividades necessárias à manutenção da colônia. A denominada rainha reprodutiva ou fisogástrica é responsável essencialmente pela postura de ovos férteis que darão origem às fêmeas (rainhas e operárias) e

aos machos, embora em diversas espécies, parte destes possam ser também de postura de operárias (SCHWARZ, 1948; WILE, 1983; NOGUEIRA-NETO, 1997; ZANELLA; MARTINS 2003; CAMARGO, PEDRO, 2013; RECH, *et al.*, 2014). No que diz respeito aos machos, estes são produzidos em grande número, mas somente em determinadas épocas do ano, principalmente quando há abundância de recursos no ambiente sendo responsáveis por fecundarem as rainhas durante o voo nupcial. Normalmente, machos de abelhas sem ferrão sexualmente maduros abandonam permanentemente seus ninhos em busca de fêmeas receptivas para acasalarem (SANTOS, *et al.*, 2013).

Na construção de seus ninhos, os meliponíneos podem utilizar o mais variado tipo de substratos, associados ou não a ninhos de outros insetos sociais. Costumam utilizar cavidades pré-existentes em árvores vivas ou mortas (ex.: *Melipona subnitida*), cavidades subterrâneas (ex.: *Melipona quinquefasciata*), fendas em paredes (ex.: *Tetragonisca angustula*) formigueiros arborícolas (ex.: *Trigona cilipes*) ou termiteiros abandonados (ex.: *Partamona* spp.). Algumas espécies, no entanto, não ocupam cavidades, mas constroem seus ninhos expostos ou livres fixados em galhos ou troncos de árvores (ex.: *Trigona spinipes*) (ROUBIK, 1992; NOGUEIRA-NETO, 1997; KERR, 2001; ZANELLA; MARTINS 2003, CAMARGO; PEDRO, 2003; MICHENER, 2007).

2.2 A Meliponicultura

A criação racional de meliponíneos ou abelhas sem ferrão é denominada meliponicultura (NOGUEIRA NETO, 1997), uma prática de âmbito secular empregada desde a época da civilização Maia (México e Guatemala) e por povos indígenas como os Kayapó (bacia Amazônica brasileira), Abayandas (Uganda) e tribos aborígenes (Austrália) (JAFFÉ *et al.*, 2015). Tradicionalmente essas abelhas eram criadas em troncos rústicos e destacavam-se como fontes tradicionais de mel (apreciado por suas propriedades medicinais) própolis e cera na América do Sul e Central, além da Austrália, África e a Ásia (IPBES, 2016). Assim como para os Maias, os meliponíneos tinham importância para outras civilizações antigas como Incas e Astecas, e os recursos produzidos pelas abelhas (cera e resinas) utilizados como pagamento de impostos ou em cerimônias religiosas (CORTOPASSI-LAURINDO, *et al.*, 2006; OLIVEIRA *et al.*, 2013).

Nos dias atuais, a criação de abelhas sem ferrão tornou-se uma prática de lazer e entretenimento (CORTOPASSI-LAURINDO, *et al.*, 2006; VENTURIERI; CONTRERA, 2012), embora seja uma atividade realizada em sua maioria por homens, a participação das mulheres na meliponicultura apresenta grande potencial como forma de aumentar a renda familiar (FELIX, 2015). O mesmo autor destaca três principais razões que fazem um meliponicultor iniciar uma criação de abelhas sem ferrão: o consumo do mel, a venda de produtos oriundos das abelhas e a preservação da espécie e do meio ambiente.

Aliás, uma nova atividade tem despertado o interesse dos meliponicultores – a polinização –, principalmente em cultivos agrícolas de importância comercial podendo atender à demanda crescente agrícola para a polinização, podendo compensar os declínios em populações de abelhas locais (IPBES, 2016). Publicações indicando espécies de abelhas sem ferrão utilizadas em culturas agrícolas vêm auxiliar na melhoria de conhecimento sobre o uso de meliponíneos para polinização (CRUZ, *et al.*, 2004; SARMENTO DA SILVA, *et al.*, 2005; ROSELINO; SANTOS; BEGO, 2010; OLIVEIRA; SOUZA; FREITAS, B. M., 2012; CRUZ, D. O.; FREITAS, B M; 2013; SILVA, *et al.*, 2014, RECH, 2014; WITTER; NUNES-SILVA, 2014; WITTER, *et al.*, 2014; BOMFIM, *et al.*, 2014; BEZERRA, 2014; GIANNINI, *et al.*, 2016; SILVA; OLIVEIRA; HRNCIR, 2016), destacando esses insetos sociais como promissores para uso como polinizadores.

2.3 O uso das abelhas sem ferrão como agente polinizador

A polinização representa a contribuição mais importante que qualquer animal pode dar no campo da produção agrícola, além de ser considerada um dos processos fundamentais para a conservação da biodiversidade (IMPERATRIZ-FONSECA, 2004; NASCIMENTO, *et al.*, 2012; CUNHA; NÓBREGA; ANTONIALLI JUNIOR, 2015). Nesses ecossistemas, polinizadores bióticos são essenciais para a manutenção dos pomares de muitas culturas, ficando entre os componentes fundamentais para o funcionamento dos ecossistemas em geral (COSTANZA, *et al.*, 1997; VAISSIÈRE; FREITAS; GEMMILL-HERREN, 2011; IMPERATRIZ-FONSECA, 2012). Dentre esses polinizadores, destacam-se as abelhas (NASCIMENTO, 2012), pois se alimentam de recursos florais, entre eles néctar como a fonte de carboidratos, e pólen como a principal fonte proteica (KLEINERT, *et al.*, 2009). O pólen é muitas vezes o único recurso coletado pelas abelhas em algumas flores, requerendo das fêmeas

adultas a manipulação das flores para a coleta deste recurso, tanto na retirada do pólen contido nas anteras como para acondicioná-lo em estrutura de transporte (corbículas), de forma a não perder a carga polínica durante o percurso de volta ao ninho (ROUBIK, 1992; KLEINERT, *et al.*, 2009; PINHEIRO, *et al.*, 2014).

Existem mais de 20.400 espécies de abelhas reconhecidas (ITIS, 2010), mas estima-se que esse valor seja ainda maior (MICHENER, 2007). Apesar do elevado número de espécies de abelhas descritas apenas algumas são manejadas como polinizadoras para uso comercial. Entre essas incluem-se espécies sociais e solitárias, principalmente aquelas que constroem ninhos em cavidades pré-existentes (BOSCH; KEMP, 2002)

A dependência das abelhas de recursos florais e das plantas pelo serviço de polinização propiciou o surgimento de adaptações recíprocas, observadas na morfologia e comportamento das abelhas e nos diferentes tipos de flores, tornando-as as mais indicadas para o serviço de polinização de espécies vegetais nativas e cultivadas (IMPERATRIZ-FONSECA; NUNES-SILVA, 2010; PINHEIRO, *et al.*, 2014).

As abelhas sem ferrão ou meliponíneos são de valor excepcional para o homem, não só por serem as principais visitantes de muitas plantas com flores nos trópicos, pela produção de mel e outros produtos, como também por polinizarem plantas de interesse comercial (IPBES, 2016; ASCHER; PICKERING, 2018), pois apresentam organização social em um nível comparável ao da *Apis mellifera*, além de possuírem colônias perenes com centenas ou milhares de indivíduos, um temperamento menos defensivo, a domesticação com manejo amplamente divulgado e conhecido, e facilidade de deslocamento das colônias (WILLE, 1983; HEARD, 1999; VILLAS-BOAS, 2012; WITTER; NUNES-SILVA, 2014; ASCHER; PICKERING, 2018). Apesar de ser um grupo que apresente famílias que contenham alguns parasitas sociais e pilhadores de ninhos (*Lestrimelitta* spp.), a maioria das espécies possuem fêmeas coletoras de pólen que transportam esse recurso por meio de estruturas especializadas presente na superfície externa da tíbia posterior que apresenta forma côncava e margeada de pelos, e são denominadas de corbículas (SILVEIRA; MELO; ALMEIDA, 2002; ASCHER; PICKERING, 2018). O fato de possuírem colônias perenes faz com que necessitem de grandes reservas de alimentos, levando as operárias a buscarem recursos florais além das necessidades imediatas, resultando no recrutamento de forrageiras para coleta de recursos florais e visitas intensas a flores, assim, podendo manter o ninho mesmo em períodos de escassez de recursos (HEARD, 1999).

A coleta de pólen por vibração ou polinização por vibração, é uma habilidade que não é possível para algumas espécies de abelhas, incluindo a *A. mellifera* (RAW, 1999; SLAA, *et al.*, 2006). No entanto algumas abelhas do gênero *Melipona* conseguem coletar pólen de anteras poricidas utilizando a vibração do tórax, fato que as tornam uma eficiente alternativa para a polinização no Brasil, ao invés das abelhas do gênero *Bombus*. Silva *et al.* (2014), cita nove espécies de abelhas sem ferrão, utilizadas na polinização de culturas agrícolas com anteras poricidas, e que necessitam da polinização por vibração para liberação do pólen. Estudos realizados utilizando abelhas do gênero *Melipona* comprovaram sua eficiência como polinizadora; *Melipona subnitida* em pimentão (CRUZ, *et al.*, 2004), *Melipona quadrifasciata* em tomate (DEL SARTO, 2005), *Melipona fasciculata* em berinjela (NUNES-SILVA, 2011).

Diante do exposto, os meliponíneos são os insetos sociais mais promissores para o uso como polinizadores em sistemas comerciais abertos e em áreas de cultivo protegido (CRUZ; CAMPOS, 2009), principalmente devido às vantagens sobre a exótica *A. mellifera*. Dentre elas podemos destacar: (a) o fato de ter ferrão vestigial aliado ao comportamento inofensivo, e por isso serem menos prejudiciais aos seres humanos e aos animais domésticos; (b) o comportamento polilético devido ao hábito alimentar generalista que lhes permite visitar múltiplas espécies de plantas e se adaptar a novas; (d) a fidelidade às flores visitadas; (e) a menor amplitude de voo, pois não se afastam muito da colônia; (f) a capacidade de forragear efetivamente em estufas; (g) a propagação de colônias contribui para a preservação da biodiversidade; (h) o fato de raramente enxamearem, pois a rainha quando fisogástrica não consegue voar após o desenvolvimento de seu aparelho reprodutivo; (i) a resistência às doenças e aos parasitas das abelhas *A. mellifera*, ou seja, se caso uma doença acometesse essa espécie, a polinização não seria interrompida já que não afetaria as abelhas sem ferrão nesse sistema.

Apesar de tantas vantagens, são apontadas algumas desvantagens como o baixo nível de tecnologia de domesticação para a maioria das espécies; falta de disponibilidade de um grande número de colmeias; baixas taxas de crescimento das colônias; exigências de nidificação de algumas espécies; danos causados às folhas de algumas culturas por algumas espécies de abelhas a procura de resina; e algumas espécies são territoriais e lutam quando colocadas próximas de outras colônias, além da carência de conhecimento sobre as necessidades de polinização e dos principais polinizadores das culturas tropicais (HEARD, 1999; MALAGODI-BRAGA; KLEINERT; IMPERATRIZ-FONSECA, 2004; MAGALHÃES; VENTURIERI, 2010).

2.4 O gênero *Scaptotrigona*

Entre o grupo das abelhas sem ferrão, destacam-se as abelhas do gênero *Scaptotrigona*, compreendendo mais de 20 espécies de abelhas distribuídas na região neotropical (SILVEIRA; MELO; ALMEIDA, 2002; ITIS, 2010; CAMARGO, PEDRO, 2013; ASCHER; PICKERING, 2018), sendo que destas nove ocorrem no Brasil: *Scaptotrigona affabra*, *Scaptotrigona bipunctata*, *Scaptotrigona depilis*, *Scaptotrigona fulvicutis*, *Scaptotrigona polysticta*, *Scaptotrigona postica*, *Scaptotrigona tricolorata*, *Scaptotrigona tubiba*, *Scaptotrigona xanthotricha* (CAMARGO, PEDRO, 2013; ASCHER; PICKERING, 2018).

Este gênero apresenta uma grande diversidade de formas que constituem complexos de difícil separação, com algumas espécies ainda não descritas (SILVEIRA; MELO; ALMEIDA, 2002), como a espécie estudada nesse trabalho. Em geral, o gênero apresenta espécies com tamanho do corpo variado de minúsculas a médias (SILVEIRA, *et al.*, 2002) caracterizado por colônias populosas e resistentes a manipulação (KOFFLER, 2013).

A entrada do ninho tem forma de canudo feito com cera, daí o nome popular de canudo para a maioria das abelhas dessa espécie, seguido de um túnel interno longo, onde existem várias guardas que protegem a parte interior do ninho. Esse túnel pode se estender até próximo aos discos de crias ou aos potes de alimento. A construção de células de cria desse gênero ocorre sucessivamente com discos em diferentes estágios de desenvolvimento, sendo os de cor escura (ainda com cera) disco novo, e os de cor clara (cera retirada) denominados disco velho, de cria nascente ou emergente. Esses discos são dispostos horizontalmente e separados por pilares feitos de cera, facilitando a passagem das operárias entre os discos e com células de mesmo tamanho de onde podem emergir operárias ou machos. Esta espécie apresenta um tipo de célula somente para o desenvolvimento da rainha na parte periférica dos discos de crias, e sua construção pode ocorrer dependendo da disponibilidade de recursos. Essa célula é maior que as demais células do disco e denominada célula real ou realeira, e possui capacidade para comportar uma quantidade maior de alimento larval do que o fornecido para as demais larvas do ninho. Os potes de alimento podem conter pólen ou néctar e são construídos circundando os discos de crias, mas também agregados próximos à entrada da colônia, com pilares que separam cada disco (WILLE, 1983; NOGUEIRA-NETO, 1997).

A recentemente descoberta de uma nova espécie de abelhas deste gênero, popularmente chamada de “canudo mansa” despertou o interesse em estudos sobre sua biologia e utilização na polinização agrícola, que já apresentou resultados promissores em estudos realizados na polinização de mini melancia sem semente (*Citrullus lanatus*) em ambiente protegido (BOMFIM, *et al.*, 2014). Contudo, essa espécie que ainda está sendo descrita para a ciência, sendo temporariamente classificada como *Scaptotrigona* sp. nov., apesar de apresentar potencial comprovado como polinizadora de culturas em ambiente protegido (BOMFIM, *et al.*, 2014; BEZERRA, 2014), tem seu uso em larga escala impossibilitado por falta de conhecimentos sobre o seu criatório, manejo e multiplicação. Nesse sentido faz-se necessário desenvolver técnicas de criação, manejo e multiplicação de colônias desta nova espécie visando o seu uso na polinização de culturas agrícolas de importância para a agricultura brasileira (FREITAS; NUNES-SILVA, 2012).

REFERÊNCIAS

- ASCHER, J. S.; PICKERING, J. **Discover life: bee species guide and world checklist** (Hymenoptera: Apoidea: Anthophila). Disponível em: http://www.discoverlife.org/mp/20q?guide=Apoidea_species&flags=HAS. Acesso em: 01 de mar. 2018.
- BEZERRA, A. D. M. **Uso da abelha canudo (*Scaptotrigona* sp. nov.) na polinização do meloeiro (*Cucumis melo* L.) em ambiente protegido**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, 2014.
- BOMFIM, I. G. A. *et al.* Adaptive and foraging behavior of two stingless bee species in greenhouse mini watermelon pollination. **Sociobiology**, [s. l.] v. 61, n. 4, p. 502-509, 2014.
- BOSCH, J.; KEMP, W. P. Developing and establishing bee species as crop pollinators: the example of *Osmia* spp. (Hymenoptera: Megachilidae) and fruit trees. **Bulletin of entomological research**, [s. l.] v. 92, n. 1, p. 3-16, 2002.
- CAMARGO, J. M. F.; PEDRO, S. R. M. Meliponini neotropicais: o gênero *Partamona* Schwarz, 1939 (Hymenoptera, Apidae, Apinae) - bionomia e biogeografia. **Revista Brasileira de Entomologia**, [s. l.] vol. 47, n. 3, pp. 311-372, 2003.
- CAMARGO, J. M. F.; PEDRO, S. R. M., 2013. Meliponini Lepeletier, 1836. In Moure, J. S., Urban, D. & Melo, G. A. R. (Orgs). **Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region - online version**. Disponível em: <http://www.moure.cria.org.br/catalogue>. Acesso em: 18 de set. 2017.
- CORTOPASSI-LAURINO, M. *et al.* Global meliponiculture: challenges and opportunities. **Apidologie**, [s. l.] v. 37, n. 2, p. 275-292, 2006.
- CRUZ, D. O. *et al.* Adaptação e comportamento de pastejo da abelha jandaíra (*Melipona subnitida* Ducke) em ambiente protegido. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, [s. l.] v. 26, n. 3, p. 293-298, 2004.
- CRUZ, D. O.; CAMPOS, L. A. O. POLINIZAÇÃO POR ABELHAS EM CULTIVOS PROTEGIDOS. **Current Agricultural Science and Technology**, [s. l.] v. 15, n. 1-4, 2009.
- CRUZ, D. O.; FREITAS, B. M. Diversity of bee species floral visitors and potential pollinators of oleaginous crops in Northeast of Brazil. **AMBIÊNCIA**, [s. l.] v. 9, n. 2, p. 411-418, 2013.
- DEL SARTO, M. C. L. **Avaliação de *Melipona quadrifasciata* Lepeletier (Hymenoptera: Apidae) como polinizador da cultura do tomateiro em cultivo protegido**. 2005. 61 f. Tese (Entomologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2005.
- FELIX, J. A. **Perfil zootécnico da meliponicultura no estado do Ceará, Brasil**. 2015. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Fortaleza, 2015.

FREITAS, B. M.; NUNES-SILVA, P. Polinização agrícola e sua importância no Brasil. In: Imperatriz-Fonseca V. L, Canhos D. A. L, Alves D. A., Saraiva AM (eds) Polinizadores no Brasil. Edusp, São Paulo, pp 103–118. GIANNINI, T. *et al.* The dependence of crops for pollinators and the economic value of pollination in Brazil. **Journal of economic entomology**, [s. l.] v. 108, n. 3, p. 849-857, 2015.

HEARD, T. A. The role of stingless bees in crop pollination. **Annual Review of Entomology**, [s. l.] 44, 183–206. 1999.

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. **Serviços aos ecossistemas, com ênfase nos polinizadores e polinização. São Paulo: USP, 2004.**

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L., *et al.* **Polinizadores no Brasil: contribuição e perspectivas para a biodiversidade, uso sustentável, conservação e serviços ambientais.** São Paulo: USP, 2012.

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; NUNES-SILVA, P. As abelhas, os serviços ecossistêmicos e o Código Florestal Brasileiro/Bees, ecosystem services and the Brazilian Forest Code. [s. l.] 10, n. 4, p. 59, 2010.

IPBES (2016). **The assessment report of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services on pollinators, pollination, and food production.** S.G. Potts, V. L. Imperatriz-Fonseca, and H. T. Ngo, (eds). Secretariat of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services, Bonn, Germany. 552 pages.

ITIS, 2010. Interagency Taxonomic Information System. **World Bee Checklist Project.** Disponível em: <http://www.catalogueoflife.org/annual-checklist/2010/details/database/id/67>. Acesso em: 11 de mar. 2017.

JAFFÉ, R. *et al.* Bees for development: Brazilian survey reveals how to optimize stingless beekeeping. **PLoS one**, [s. l.] v. 10, n. 3, p. e0121157, 2015.

KERR, W. E. *et al.* Aspectos pouco mencionados da biodiversidade amazônica. **Parcerias Estratégicas**, [s. l.] v. 6, n. 12, p. 20-41, 2001.

KOFFLER, S. **Influência da quantidade de recursos alimentares e da sazonalidade sobre a produção de sexuais em *Scaptotrigona aff. depilis* (Apidae, Meliponini).** 2013. Dissertação (Mestrado). Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. 2013

MAGALHÃES, T. L.; VENTURIERI, G. C. **Aspectos econômicos da criação de abelhas indígenas sem ferrão (Apidae: Meliponini) no Nordeste Paraense.** Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental. 1 ed., p. 36, 2010.

MALAGODI-BRAGA, K. S.; KLEINERT, A. M. P.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. Abelhas sem ferrão e polinização. **Revista Tecnologia e Ambiente**, Criciúma, v.10, p. 59-70, 2004.

MICHENER, C. D. **The bees of the world**. [s. l.] JHU press, 2007.

NASCIMENTO W. M.; GOMES E. M. L.; BATISTA E. A.; FREITAS R. A. Utilização de agentes polinizadores na produção de sementes de cenoura e pimenta doce em cultivo protegido. **Horticultura Brasileira** 30: 494-498. 2012.

NOGUEIRA-NETO, P. **Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão**. [s. l.] Nogueirapis, 1997.

NUNES-SILVA, P. **Capacidade vibratória e polinização por vibração nas abelhas do gênero *Melipona* (Apidae, Meliponini) e *Bombus* (Apidae, Bombini)**. 2011. 133f. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. 2011.

OLIVEIRA, F. F. *et al.* **Guia ilustrado das abelhas" sem ferrão" das Reservas Amanã e Mamirauá, Amazonas, Brasil (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)**. [s. l.] 2013.

OLIVEIRA, M. O. SOUZA, F. X; FREITAS, B. M. ABELHAS VISITANTES FLORAIS, EFICIÊNCIA POLINIZADORA E REQUERIMENTOS DE POLINIZAÇÃO NA CAJAZEIRA (SPONDIAS MOMBIN) Bee floral visitors, pollination efficiency and pollination requirements in *Spondias mombin*. **Revista Acadêmica: Ciência Animal**, [s. l.] v. 10, n. 3, p. 277-284, 2012.

PINHEIRO, M., *et al.* Polinização por abelhas. In: RECH, A.R *et al.* **Biologia da polinização**. Rio de Janeiro: Editora Projeto Cultural, 2014, cap. 9, p. 205 – 233.

RAW, A. Foraging behavior of wild bees at hot pepper flowers (*Capsicum annuum*) and its possible influence on cross pollination. **Annals of Botany**, [s. l.] v. 85, n. 4, p. 487-492, 2000.

RECH, A. R. *et al.* (Ed.). **Biologia da polinização**. **Projeto Cultural**, [s. l.] 2014.

ROSELINO, A. C.; SANTOS, S. A. B.; BEGO, L. R. Qualidade dos frutos de pimentão (*Capsicum annuum* L.) a partir de flores polinizadas por abelhas sem ferrão (*Melipona quadrifasciata anthidioides* Lepeletier 1836 e *Melipona scutellaris* Latreille 1811) sob cultivo protegido. **Revista brasileira de Biociências**, [s. l.] v. 8, n. 2, 2010.

ROUBIK, D. W. Ecology, and natural history of tropical bees. **Cambridge University Press**, [s. l.] 1992.

SANTOS, C. F. *et al.* A scientific note on diploid males in a reproductive event of a eusocial bee. **Apidologie**, [s. l.] v. 44, n. 5, p. 519-521, 2013.

SARMENTO DA SILVA, E. M. *et al.* Biologia floral do pimentão (*Capsicum annuum*) e a utilização da abelha jandaíra (*Melipona subnitida* Ducke) como polinizador em cultivo protegido. **Revista Ciência Agronômica**, [s. l.] v. 36, n. 3, 2005.

SCHWARZ, H. F. Stinglees bees (Meliponidae) of the western hemisphere, Herbert Schwarz. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, [s. l.] 1948.

SILVA, C. I. *et al.* **Guia ilustrado de abelhas polinizadoras no Brasil.** [s. l.] 2014.

SILVA, M. A.; OLIVEIRA, F. A.; HRNCIR, M. Effect of different pollination treatment in eggplant in a greenhouse. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, [s. l.] v.11, n.1, p.30-36, 2016.

SILVEIRA, F. A.; MELO, G. A. R; ALMEIDA, E. A. B. **Abelhas brasileiras: sistemática e identificação.** Belo Horizonte (MG, Brazil): Fernando A. Silveira, 2002.

SLAA, E. J. *et al.* Stingless bees in applied pollination: practice and perspectives. **Apidologie**, [s. l.] v. 37, n. 2, p. 293-315, 2006.

VAISSIÈRE, B. E.; FREITAS, B. M.; GEMMILL-HERREN, B. Protocol to detect and assess pollination deficits in crops: a handbook for its use. Roma: **FAO**, [s. l.] 2011.

VENTURIERI, G. C.; CONTRERA, F. A. L. Biodiversidade de Abelhas na Amazônia: os Meliponíneos e seu Uso na Polinização de Culturas Agrícolas. **III Semana dos Polinizadores: palestras e resumos**, [s. l.] p. 26, 2012.

VILLAS-BÔAS, J. **Manual tecnológico: Mel de abelhas sem ferrão.** [s. l.] 2012.

WILLE, A. Biology of the stingless bees. **Annual review of entomology**, [s. l.] v. 28, n. 1, p. 41-64, 1983.

WITTER, S.; NUNES-SILVA, P. **Manual de boas práticas para o manejo e conservação de abelhas nativas (meliponíneos).** [s. l.] 2014.

ZANELLA, F. C. V.; MARTINS, C. F. **Abelhas da Caatinga: biogeografia, ecologia e conservação.** [s. l.] Ecologia e conservação da Caatinga, p. 75-134, 2003.

RESUMO

A utilização das abelhas sem ferrão como polinizadores na agricultura esbarra em dois obstáculos principais: a falta de tecnologias que permitam a formação de novas colônias para a quantidade de espécies existentes, sendo necessários mais estudos para as espécies ainda não testadas pelo sistema de criação racional; e o número insuficiente de colônias disponíveis das espécies já manejadas. Objetivo desse trabalho é avaliar técnicas de multiplicação de colônias de *Scaptotrigona* sp. nov., e monitorar o desenvolvimento desses novos ninhos ao longo dos anos. O estudo foi realizado no meliponário de Abelhas do Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, no período de fevereiro de 2014 a novembro de 2016. Para a preparação das colônias para formação das novas colônias, foram utilizados dois métodos: I) introdução de realeiras ou Rainhas Virgens (RVs) nas colônias-filhas (modelo tradicional) e II) introdução de realeiras ou RVs em minicolônias. Neste estudo foram realizadas ao todo 52 tentativas de formação de novas colônias. As análises mostraram que não houve diferença entre métodos ($p = 0,771$) utilizados, nem entre anos ($p = 0,307$), mas houve influência da precipitação ($p = 0,046$) sobre o sucesso do método. Quanto à emergência da rainha, a análise mostrou que não houve influência da precipitação ($p = 0,235$), nem houve diferença entre métodos ($p = 0,788$) utilizados, mas houve diferença entre anos ($p = 0,025$). A análise sobre o início da postura mostrou que não houve influência da precipitação ($p = 0,449$), nem houve diferença entre anos ($p = 0,148$), mas houve diferença entre métodos ($p = 0,002$). Para esse estudo, a precipitação influenciou negativamente no sucesso do método utilizado para formação de novas colônias. Rainhas instaladas em minicolônias foram mais rápidas em iniciar a atividade de postura.

Palavras-chave: multiplicação de colônias; minicolônias; meliponíneos; precipitação; emergência de rainhas.

ABSTRACT

The use of stingless bees as pollinators in agriculture comes up against two main obstacles: the lack of technologies that allow the formation of new colonies for the number of existing species, requiring further studies for species not yet tested by the rational breeding system; and the insufficient number of available colonies of the species already managed. The objective of this work is to evaluate techniques for multiplication of colonies of *Scaptotrigona* sp. nov., and monitor the development of these new nests over the years. The study was carried out at the Bee Meliponary of the Bee Sector of the Federal University of Ceará, from February 2014 to November 2016. For the preparation of colonies for the formation of new colonies, two methods were used: I) introduction of cells or Virgin Queens (VQs) in daughter colonies (traditional model) and II) introduction of cells or VQs in mini colonies. In this study, 52 attempts were made to form new colonies. The analyzes showed that there was no difference between methods ($p = 0.771$) used, or between years ($p = 0.307$), but there was an influence of precipitation ($p = 0.046$) on the success of the method. As for the emergence of the queen, the analysis showed that there was no influence of precipitation ($p = 0.235$), nor was there a difference between methods ($p = 0.788$) used, but there was a difference between years ($p = 0.025$). The analysis on the beginning of the laying showed that there was no influence of precipitation ($p = 0.449$), nor was there a difference between years ($p = 0.148$), but there was a difference between methods ($p = 0.002$). For this study, precipitation had a negative influence on the success of the method used to form new colonies. Queens installed in mini colonies were quicker to start laying activity.

Keywords: multiplication of colonies; mini colonies; Meliponini; precipitation; emergence of queens.

3 CAPÍTULO 2 – MANEJO PARA FORMAÇÃO DE NOVAS COLÔNIAS DE *SCAPTOTRIGONA* SP. NOV. (MELIPONINAE) UTILIZANDO MÉTODO DE MULTIPLICAÇÃO TRADICIONAL E DE MINICOLÔNIAS

4 INTRODUÇÃO

Existem mais de 20.400 espécies de abelhas identificadas (ITIS, 2010), mas apenas algumas destas são realmente manejadas como polinizadoras para uso comercial (SILVA, *et al.*, 2014, JAFFÉ, *et al.*, 2015). Entre essas estão incluídas espécies sociais e solitárias, principalmente aquelas que constroem ninhos em cavidades pré-existentes (BOSCH; KEMP, 2002)

Dentre as abelhas sociais, as abelhas sem ferrão são os visitantes mais comuns de plantas com flores nos trópicos (HEARD, 1999), mas é devido a sua importância como polinizador de plantas de interesse econômico em ambiente protegido que essas abelhas estão sendo avaliadas em alguns estudos em relação à adaptação e eficiência para polinização de culturas agrícolas (MALAGODI-BRAGA *et al.*, 2004; CRUZ *et al.*, 2005; DEL SARTO *et al.*, 2005; ROSELINO; BISPO DOS SANTOS; BEGO, 2010; BOMFIM, *et al.*, 2014; BEZERRA, 2014).

No Brasil, já foram confirmadas nove espécies de meliponíneos como polinizadores eficazes e importantes (SILVA, *et al.*, 2014). No entanto, a falta de tecnologias de manejo racional para quantidade de espécies de abelhas sem ferrão já conhecidas, e de mais estudos para as espécies ainda não testadas pelo sistema de criação racional podem ser considerados como um dos principais obstáculos para a utilização racional dessas abelhas como polinizadores na agricultura (HEARD, 1999; CORTOPASSI-LAURINO *et al.*, 2006; MAGALHÃES; VENTURIERI, 2010). Além disso, o número insuficiente de colônias disponíveis das espécies já manejadas dificulta ainda mais sua utilização como agentes polinizadores dirigidos (HEARD, 1999; CORTOPASSI-LAURINO *et al.*, 2006).

Segundo o CONAMA, em sua resolução Nº 346/2004, a aquisição de novas colônias pode ser obtida por meio da iscagem de novos enxames (ninhas isca), comprando colônias de outros meliponicultores, ou através de divisões sucessivas. Esta última é uma prática viável e rentável, pois muitos meliponicultores podem formar novos ninhos multiplicando suas próprias colônias, e com isso aumentar seu plantel (IMPERATRIZ-FONSECA, *et al.*, 2008; OLIVEIRA, *et al.*, 2012; JAFFÉ, *et al.*, 2015).

Vários são os métodos que podem ser empregados na multiplicação de colônias, sendo a divisão de um ninho (crias, material e indivíduos) em duas ou mais colônias o mais conhecido deles. Esse método se baseia na formação de apenas uma colônia-filha a partir de uma colônia forte e populosa, tendo em vista pelo menos três meses, ou até mais, para recuperação da colônia-mãe e colônia-filha (NOGUEIRA-NETO, 1997; KERR *et al.*, 2001).

Considerada uma forma mais sustentável por não requerer a remoção de abelhas nativas de seu *habitat* natural, esta prática faz parte do manejo habitual da maioria dos meliponicultores. O manejo envolve os custos da aquisição de novas caixas para os novos enxames, que serão revertidos em lucros com a produção de mel ou a venda das colônias multiplicadas (JAFFÉ, *et al.*, 2015). Há também a possibilidade de aluguel dessas colônias para polinização agrícola, uma prática já bastante conhecida e utilizada por apicultores, mas ainda recente para os meliponicultores.

Se considerarmos as espécies de abelhas nas quais constantemente há produção de novas rainhas, como as abelhas do gênero *Melipona* (KERR, 1948), não haveria maiores problemas para criação de novas colônias. No entanto, existem espécies que têm na alimentação o fator limitante para produção de uma nova rainha, pois a casta feminina é determinada pela quantidade e não pela qualidade de alimento que a larva consome durante seu desenvolvimento, ou seja, as que conseguem consumir maior quantidade de alimento tornam-se rainhas, e as demais, operárias (SANTOS; CRUZ-LANDIM, 2002). Nas abelhas do gênero *Scaptotrigona*, as operárias são as responsáveis pela construção de uma célula real e seu provisionamento, contudo, para que tais células sejam construídas, há necessidade de disponibilidade de alimento e de operárias para coletá-lo e armazená-lo. E se as condições ambientais não estiverem favoráveis à coleta e ao armazenamento de recursos, as chances de uma colônia se multiplicar naturalmente se tornam ainda menores.

O entrave no uso comercial de meliponíneos para fins de polinização agrícola está limitado às baixas taxas de reprodução natural dessas abelhas na enxameação e diante da dificuldade de produção de colônias em larga escala associada às restrições das técnicas de manejo disponíveis (CORTOPASSI-LAURINO *et al.*, 2006). Nesse sentido, a multiplicação de colônias torna-se uma ferramenta fundamental no manejo de abelhas sem ferrão. Desse modo, o objetivo desse trabalho foi desenvolver técnicas racionais de multiplicação e manejo de colônias de *Scaptotrigona* sp. nov., visando à formação de novos ninhos em um menor período para uso na polinização de culturas agrícolas econômica e socialmente importantes da agricultura brasileira.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Localização e descrição da área de estudo

O estudo foi conduzido no Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, no município de Fortaleza (Latitude: 3° 45' 10,33"S; Longitude: 38° 30' 12,12"O), no período de fevereiro de 2014 a novembro de 2016.

O clima local é caracterizado como Tropical Quente Sub-úmido pela classificação de Köppen-Geiger (1918). A pluviosidade média anual é de 1.378,3 mm com o período chuvoso ocorrendo de janeiro a maio, e temperatura entre 26°C a 28°C (IPECE, 2017; AMBIENTE BRASIL, 2018).

A vegetação é caracterizada como Complexo Vegetacional da Zona Litorânea e Floresta Perenifólia Paludosa Marítima (IPECE, 2017), e, apesar de estar dentro de uma área urbana muito antropizada, o meliponário do Setor de Abelhas possui um pequeno fragmento de mata com espécies nativas e exóticas (FIGURA 1A).

O meliponário do Setor de Abelhas conta com as seguintes espécies de abelhas sem ferrão: jandaíra (*Melipona subnitida*), mosquito (*Plebeia cf. flavocincta*), cupira (*Partamona* sp.) e canudo (*Scaptotrigona* sp. nov.). O local está circundado por uma área antropizada do perímetro urbano de Fortaleza, com a presença de grandes áreas residenciais, comerciais e remanescentes de áreas verde.

Para esse estudo, contamos com 11 colônias de *Scaptotrigona* sp. nov., sendo quatro instaladas em caixas modelo nordestina e sete em caixas racionais modelo INPA (Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia). As colônias receberam numeração de 1 a 11 (C1 a C11), assim como acompanhamento diário com registro fotográfico do estado das colônias para posterior análise.

Os dados climáticos obtidos no estudo foram por meio de mapas de observação meteorológica da Estação Meteorológica do Campus do Pici.

Figura 1 – Município de Fortaleza, com a vista aérea do Campus do Pici e a área onde está situado o Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará. No detalhe, o Laboratório de Abelhas e o meliponário.



Fonte: Google Earth (Elaborada pelo autor).

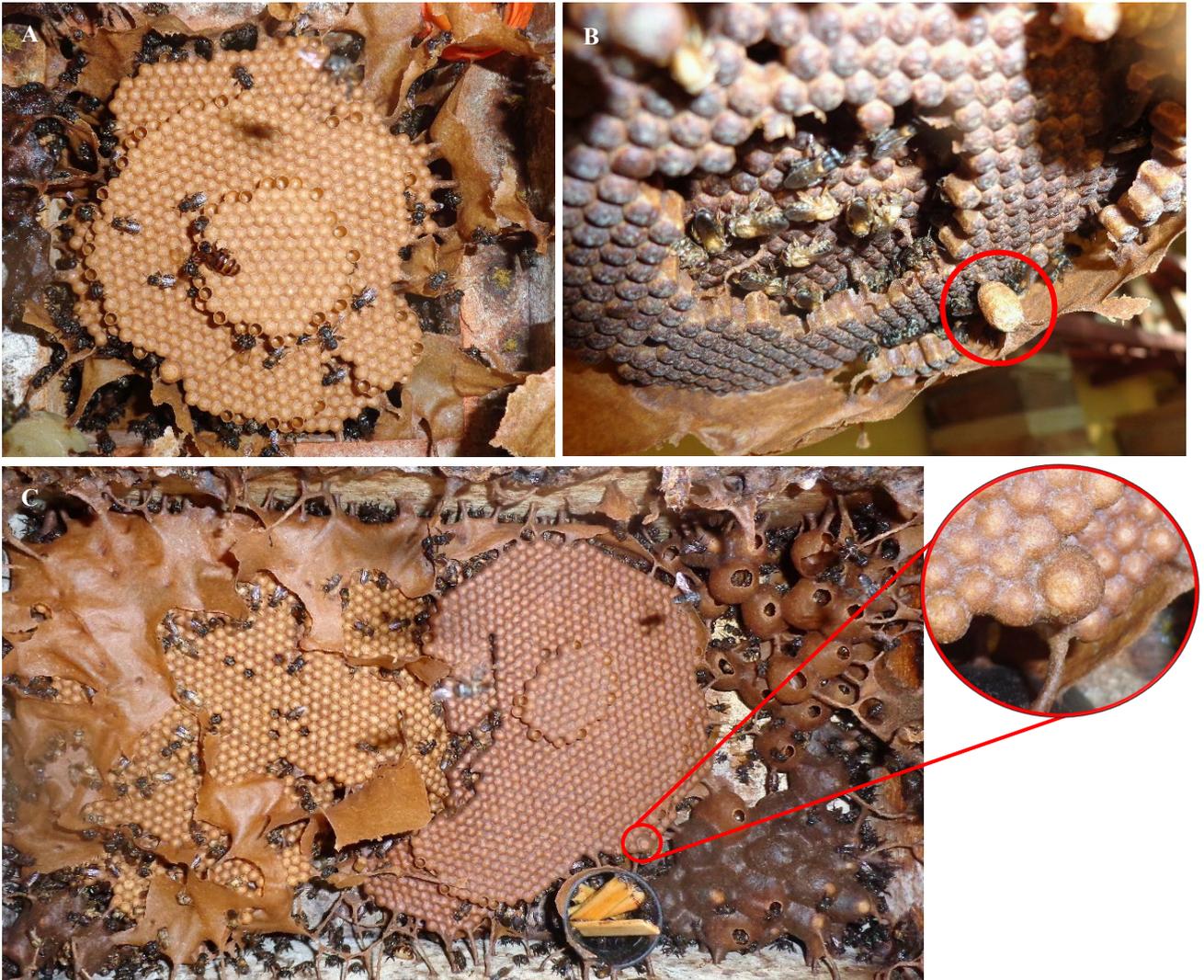
Para averiguar quais as condições gerais dos ninhos, foi realizada revisão de cada uma das 11 colônias de *Scaptotrigona* sp. nov. em fevereiro de 2014. A partir deste mês, revisões periódicas foram realizadas, além da suplementação das colônias com xarope comum feito com água e açúcar na proporção de 1L:1Kg. Nas revisões foi realizado o registro de informações tais como: (a) presença ou ausência de rainha fisogástrica (RF) e/ou rainha virgem (RV), (b) presença de discos emergentes e novos, (c) presença de realeiras naturais construídas emergentes ou novas, (d) presença de recursos de alimento (pólen e mel).

A partir do registro destas informações, foi possível constatar quais colônias estavam aptas a serem multiplicadas, quais colônias necessitavam de reforço de crias e alimento, e qual o melhor método para multiplicá-las.

Nesse estudo também foram considerados alguns fatores para desenvolver um método de multiplicação de colônias apropriado às condições de um meliponário situado em área urbana, ou seja, em um ambiente em constante alterações decorrentes da ação humana e com reserva reduzida de recursos alimentares. Entre esses fatores estão (a) sazonalidade com a necessidade de fornecimento de fonte proteica e energética em determinados períodos do ano; (b) a baixa produção de rainhas, visto que a rainha reprodutiva permanece na colônia por longos períodos; e (c) a reduzida formação de agregados de machos no local.

Vale ressaltar que neste estudo não foi levado em consideração o modelo de caixa onde a colônia de *S. sp. nov.* estava instalada (INPA ou nordestina), mas sim que apresentasse características propícias para multiplicação em suas condições gerais. Nesse caso, para realização do manejo, as colônias deveriam ter a população satisfatória de operárias, a presença de rainha fisogástrica (rainha fecundada), discos de cria novos (FIGURA 2A) e emergentes ou nascentes, com realeira(s) isolada(s) emergente(s) (FIGURA 2B) ou novas e ainda aderidas ao disco (FIGURA 2C), distribuídos no ninho e na alça do sobre ninho, além de reserva de recursos (potes mel e pólen) distribuído em toda a colônia.

Figura 2 – Vista da entrada da caixa adaptada, de um módulo melgueira adaptado para caixa racional. No detalhe, a placa de madeira fixa no fundo da caixa para uma melhor vedação (A). No interior da nova caixa, os dois potes de cera e pequena placa de cera para ser aproveitada pelas operárias. Vista superior do modulo melgueira adaptado para caixa racional. No detalhe, as aberturas foram vedadas com madeira (retângulos em amarelo) (B).



Fonte: Elaborada pelo autor.

Durante o período inicial do experimento, todas as colônias do meliponário receberam alimentação suplementar composta de mel e/ou xarope comum (água e açúcar na proporção 1:1). Após essa fase, a alimentação suplementar era fornecida somente para as colônias matrizes.

As colônias recém multiplicadas só recebiam suplementação alimentar após a coleta de pólen e introdução de RV ou da realeira. Isso porque as novas colônias formadas pelos dois métodos somente começavam a receber reforço alimentar após sete dias de sua criação, pois os primeiros potes aprovionados após a formação da colônia foram abertos para coleta das amostras do pólen armazenado a fim de realização de análise polínica *a posteriori* para a verificação dos tipos polínicos coletados por *Scaptotrigona* sp. nov. e utilizados em sua dieta. Somente após essa primeira coleta as colônias poderiam receber algum reforço caso necessitassem.

As observações de desenvolvimento das colônias foram realizadas diariamente por meio de anotações ou registro fotográfico. Essas observações foram realizadas de modo a verificar a evolução e desenvolvimento dos discos de crias, a postura da rainha reprodutiva, o comportamento de aceitação de rainhas virgens e outros comportamentos inerentes ao desenvolvimento da colônia. Para evitar o estresse das abelhas e facilitar essas observações, todas as colônias em monitoramento tinha uma placa de vidro transparente entre a tampa principal e a parte superior da caixa.

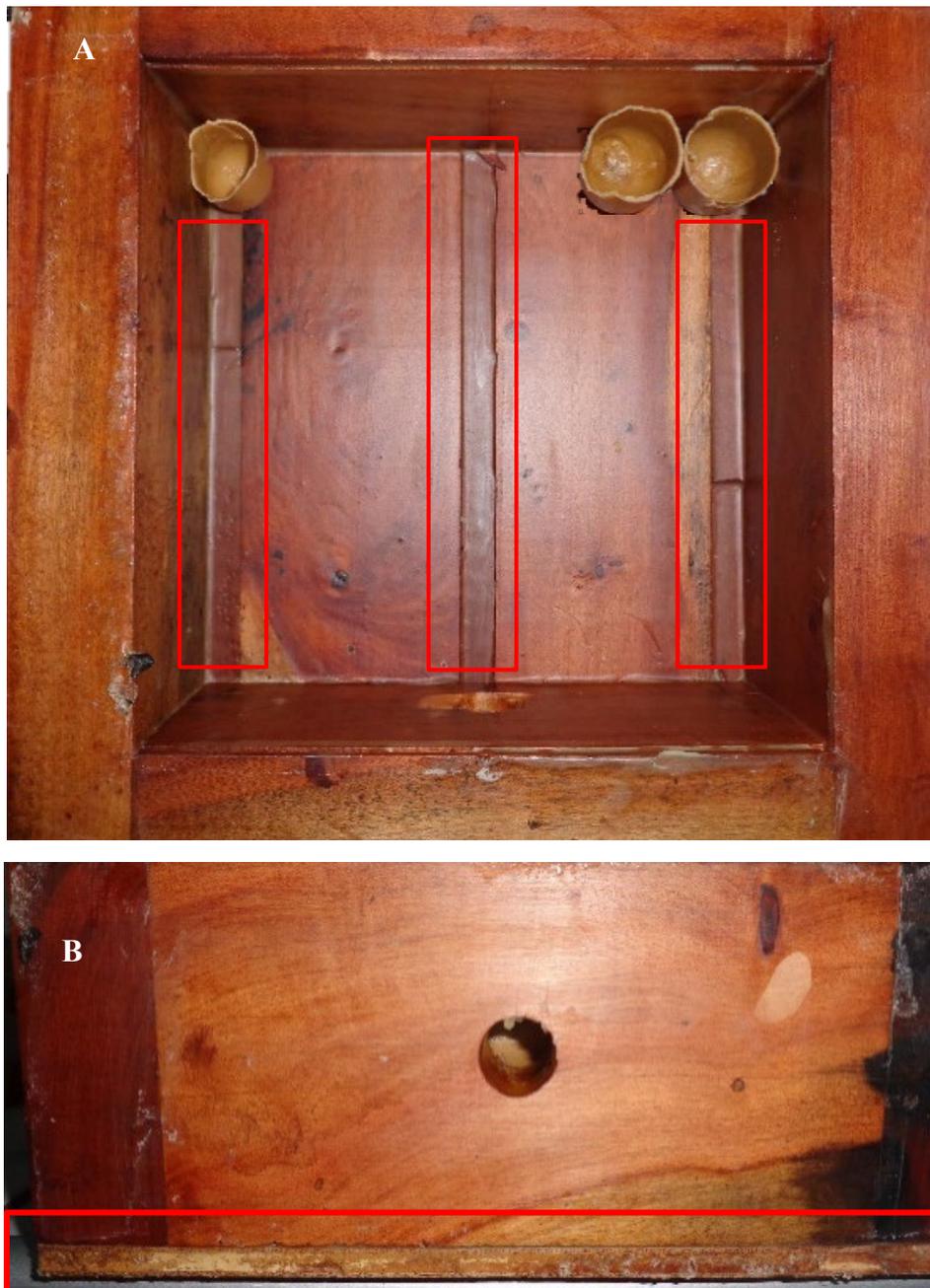
5.2 Preparação de caixas padrão e procedimento de formação de colônias

Todas as novas colônias formadas foram instaladas em caixas racionais modelo INPA ou em os módulos de caixas do modelo INPA adaptados em caixas racionais (FIGURA 3A), para montagem de colônias padronizadas. Na adaptação para caixas racionais foram utilizados os módulos melgueira que tiveram o assoalho vedado com madeira e uma abertura feita na lateral da melgueira no mesmo diâmetro da abertura da entrada de uma caixa modelo INPA convencional (FIGURA 3B).

Para vedar ainda mais a caixa foi colocado nas frestas a mistura de cera de ASF e cera de *Apis mellifera* derretidas juntas e usadas como um impermeabilizante interno das caixas. A mesma mistura de cera foi utilizada para confecção de potes, placas e túnel interno de entrada. Essa mistura de ceras de abelhas era feita na proporção de aproximadamente 60% de cera de ASF e 40% de cera de *A. mellifera* derretidas juntas em com acréscimo de água para não queimar. Após o derretimento a mistura de ceras de abelha era coada de uma a duas vezes antes de sua utilização. A cera de *A. mellifera* somente foi utilizada para fazer com que a mistura

ficasse mais fácil de moldar os potes e placas de cera, além de também aumentar o rendimento dessa mistura.

Figura 3 – Vista da entrada da caixa adaptada, de um módulo melgueira adaptado para caixa racional. No detalhe a placa de madeira fixa no fundo da caixa para uma melhor vedação (A). No interior da nova caixa os dois potes de cera e pequena placa de cera para ser aproveitada pelas operárias. Vista superior do modulo melgueira adaptado para caixa racional. No detalhe as aberturas foram vedadas com madeira (retângulos em amarelo) (B).



Fonte: Elaborada pelo autor.

5.3 Descrição dos métodos utilizados para formação de novas colônias

As novas colônias de *Scaptotrigona* sp. nov. formadas pelos dois métodos receberam as numerações sequenciais do meliponário, ou seja, continuaram a partir da C11. Para o nosso controle, as novas colônias foram chamadas de colônia experimental (CE), terão numeração iniciada partir da primeira colônia formada, ou seja, CE1, e a contagem do meliponário seguirá com a sequência já existente, reiniciando a partir da C12, por ser a primeira que foi criada. As colônias seguintes são as que se extinguíram antes de iniciar o experimento C6 e C7, que no estudo serão CE2 e CE3 respectivamente, a partir daí a contagem segue, CE8 corresponde a C13 e assim por diante.

Na formação de novas colônias com introdução de realeiras foram testados dois métodos: (a) a introdução de realeiras naturais; e (b) a introdução de rainhas virgens procedentes de realeiras naturais. Esses métodos foram escolhidos por serem essas as práticas mais comuns realizadas por meliponicultores. Todas as realeiras utilizadas procederam das colônias matrizes do meliponário,

Neste estudo foi avaliada a aceitação e a rejeição das operárias das colônias recém-criadas à introdução de realeiras naturais. Além disso, foi monitorado o tempo de emergência das rainhas destas realeiras introduzidas nas novas colônias desde sua formação nas colônias matrizes.

Já na formação das novas colônias, por meio de introdução de RV de realeiras naturais, foram avaliados: (a) a aceitação e rejeição das RVs; (b) o comportamento de dominância das RVs; (c) o tempo para realização do voo nupcial, (d) e o tempo de início da postura.

A seguir as seguintes metodologias de multiplicação:

5.3.1 Preparação da caixa para o método tradicional de multiplicação: introdução de realeiras ou rainhas virgens naturais:

Para a formação de novas colônias com método tradicional, após seleção da(s) colônia(s) doadora(s), uma caixa vazia era preparada, com alguns potes de cera vazios e provisionado com mel, túnel interno na entrada moldado em cera e uma placa de cera, potes,

além de material da colônia doadora de campeiras que poderia vir a ser invólucro, cera e cerume.

Os discos emergentes doados eram sobrepostos uns aos outros, e apoiados por pilares feitos com cera. A nova colônia formada trocava de local com uma outra colônia doadora de campeiras que estariam retornando do campo com cargas de pólen e/ou néctar. Nesse método, a nova colônia poderia receber uma realeira ou uma rainha virgem marcada e confinada em pote perfurado de cera, dependendo da disponibilidade de recursos. A colônia era monitorada diariamente para avaliar a aceitação ou não da realeira ou da rainha.

Figura 4 - Esquema representando a formação de novas colônias pelo método tradicional de multiplicação com a introdução de disco de crias emergente, pote vazio e com mel, operárias de diferentes idades e a introdução de uma rainha virgem (RV) marcada ou de uma realeira.



Fonte: Elaborada pelo autor.

5.3.2 Preparação da caixa para o método de formação de minicolônias com a introdução de realeiras ou RVs naturais:

Para montagem das minicolônias foram utilizadas caixas do modelo INPA e os módulos adaptados em caixas racionais preparados para o método tradicional de formação de novas colônias, já descrito no tópico anterior. Contudo, as caixas só recebiam potes de cera vazios, túnel interno moldado com cera e uma placa de cera (FIGURA 2A), depois disso a minicolônia era colocada no local de outra colônia com uma boa população de campeiras para receber delas as abelhas que chegam com cargas de pólen néctar.

Para reduzir a rejeição da nova caixa pelas operárias, a minicolônia recebia o túnel externo de entrada e a placa de vidro da colônia doadora. Além de deixar o cheiro da colônia-mãe dentro da colônia-filha, reduz a perda de operárias que saem da colônia durante o manejo de multiplicação. O disco emergente com realeira anexa ou uma RV somente era introduzido após sete dias. Nesse ensaio, a montagem das novas colônias teve como base o método descrito por Menezes *et al.*, (2012).

Figura 5 – Esquema para a formação de novas colônias pelo método de minicolônias, onde uma caixa vazia recebe somente potes vazios moldados em cera para armazenamento de recursos (mel e pólen), uma placa de cera e o túnel interno de cera fixo à entrada (B).



Fonte: Elaborada pelo autor.

No caso de na colônia selecionada para doar material na formação de um novo ninho não for detectada a presença de realeira, esta poderia ser retirada de uma outra colônia monitorada e introduzida na colônia recém-criada no momento da criação (método tradicional) ou após sete dias de sua formação (minicolônia), conforme o método utilizado.

Figura 6 – Rainha virgem (RV) capturada para marcação após a emergência (A). Marcação da rainha com tinta atóxica (B). Rainha já marcada, pronta para introdução em colônia (C).



Fonte: Elaborada pelo autor.

As rainhas virgens utilizadas nos dois métodos empregados para formação de novas colônias foram encontradas nas colônias-mãe ou emergiam das realeiras naturais diretamente

nas colônias recém-criadas. Essas rainhas eram, então, capturadas (FIGURA 4A) e cuidadosamente marcadas com tinta atóxica à base de água (FIGURA 4B). Essa prática facilitava a visualização da rainha no momento da revisão, evitando a abertura constante da colônia que estava se restabelecendo.

5.4 Análise estatística

Foram empregados modelos lineares generalizados (GLM) para analisar a influência do método de manejo das colônias, das variáveis ambientais e do ano sobre o sucesso de estabelecimento da colônia, sobre o tempo para iniciar a postura e sobre o tempo de emergência. Verificamos que as variáveis ambientais estavam fortemente correlacionadas. Portanto, para evitar multicolinearidade, foi utilizada somente a precipitação (mm). Para análise do sucesso de estabelecimento da colônia foi utilizada o modelo binomial com a função *logit*. Para análise do tempo para iniciar a postura e do tempo de emergência foi utilizado o modelo gaussiano com a função identidade. Os modelos foram analisados *a posteriori* para diagnóstico, e somente aqueles modelos adequados foram apresentados. Todas as análises foram realizadas no R (R Core Team, 2017).

6 RESULTADOS

Em uma avaliação das colônias de *Scaptotrigona* sp. nov. utilizadas no estudo, observamos que algumas delas construíam realeiras, e muitas vezes essas rainhas virgens não eram aproveitadas na colônia, e acabavam sendo mortas pelas operárias. Como nesse grupo de abelhas sem ferrão a produção de novas rainhas é um fator limitante para a propagação de novas colônias, começamos a monitorar as colônias a fim de identificar as células reais naturais já emergentes (isoladas ou fixas em disco), bem como a construção das novas realeiras para testarmos métodos de multiplicação de colônias, a fim de aumentarmos o plantel do meliponário.

Constatamos na revisão geral realizada que nem todas as colônias estavam em bom estado, com a exceção da C2, sendo que duas colônias apresentavam sinais de debilidade, suas rainhas apresentavam visível desgaste alar (fracas), não havia mais recursos armazenados (pólen e mel), a cera estava bem espessa (grossa), indicativo de que já não havia mais operárias suficientes na colônia que pudessem trabalhar a cera ou realizar manutenção da colônia. Fizemos algumas tentativas para reativar essas duas colônias com a introdução de discos emergentes e realeiras, mas não conseguimos obter sucesso. A primeira a extinguir-se foi a C7, e duas semanas depois a C6. Por esse motivo, a recriação dessas colônias foi priorizada. As colônias que estavam fracas receberam reforço de pólen. Com isso ficamos com nove colônias, sendo que somente uma estava em condições de doar discos e indivíduos para formação de nova colônia (C2).

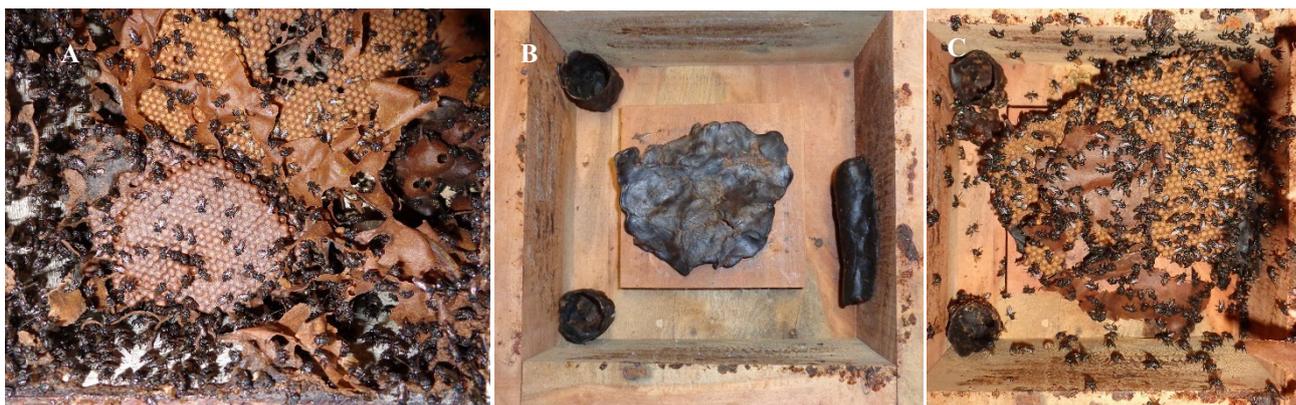
Nesse estudo, para montagem das colônias na formação dos novos ninhos foram realizadas ao todo 52 tentativas de formação de novas colônias com os métodos tradicional com a introdução de realeiras (9), tradicional com introdução de rainhas virgens naturais (RVN) (8), minicolônias com a introdução de realeira (26) e minicolônias com a introdução de rainhas virgens (RV) (9).

Os módulos do modelo INPA adaptados em colônias e utilizados na formação de minicolônias não apresentaram problemas quanto ao estabelecimento do ninho, sendo bem aceitos pelas operárias e rainhas.

Nas primeiras horas após a troca das colônias de lugar, as campeiras que retornavam com recursos, não entravam diretamente na nova colônia, pousavam sobre o canudo de entrada e em seguida faziam um sobrevoo em frente a colônia, com formação de aglomerados de

operárias no canudo de entrada. Esse comportamento foi comum a todas as colônias que foram colocadas no meliponário. Já nas colônias que estavam dentro do laboratório, entravam diretamente na nova caixa sem maiores problemas. Isso porque a entrada da colônia era na parte externa do laboratório e com acesso por meio de mangueira que atravessava a parede, e era acoplada na entrada da colônia sobre a bancada dentro do laboratório, de modo que só foi necessário desacoplar a colônia-mãe (FIGURA A) e fixar a nova colônia no local (FIGURA B). As guardas da entrada e estrutura inicial do canudo na parte externa foram mantidas, sendo mais facilmente aceitas pelas campeiras (FIGURA C) que retornavam do campo.

Figura 7 - Vista interna de um ninho de *Scaptotrigona* sp. nov. selecionada para doação de campeiras, discos de crias e realeira/RV para criação de nova colônia pelo método tradicional (A). Colmeia com potes vazios, túnel interno e placa de cera (B). Vista interna da colônia recém-criada 1h após a troca de local com a colônia-mãe (C).



Fonte: Esquema de fotos elaborada pelo autor.

Algumas colônias demoraram mais dias para iniciar a atividade de construção de novos potes e armazenamento de recursos, enquanto outras, em menos de 24h já iniciavam a construção e o provisionamento de pólen em potes recentemente construídos. Observamos que as operárias priorizavam a construção de potes para o armazenamento de pólen ao de néctar, além disso, o início do provisionamento de pólen foi mais rápido para as colônias que tiveram as multiplicações realizadas período da manhã do que as do período da tarde. Foi constatado que a construção de pequenos potes de cera se deu de forma rápida poucas horas após a mudança de local independentemente do método utilizado.

As colônias formadas com método de minicolônias passam período de orfandade de sete dias, para depois receberem uma RV. Caso não houvesse disponibilidade de rainhas

virgens, era introduzida uma realeira natural. Essas minicolônias eram trocadas de local com a colônia doadora da realeira ou por outra disponível com bastantes operárias, e sua atividade de aceitação, tanto da RV quanto da célula real, era observada. Geralmente as RVs e as realeiras eram aceitas e as operárias se preocupavam de imediato em organizar e reestruturar toda a colônia, construindo potes e invólucro.

Observamos que as colônias que recebiam as realeiras tinham o cuidado com a sua proteção e aquecimento construindo em pouco tempo um invólucro de proteção sobre o disco ou célula real, e se esta estivesse isolada, era fixa em pilares construídos sobre os discos. Também era visto várias operárias sobre a realeira, como se a estivessem aquecendo.

Figura 8 – Visão interna de uma caixa preparada para multiplicação para o método minicolônia (A). A mesma colônia 24h após sua criação com as campeiras, construção e aprovisionando pólen em potes recém-construídos (B) e após sete dias de sua criação antes da introdução do disco com realeira ou de uma RV (C). Após 30 dias a colônia já está estabelecida com discos novos e reserva de alimento armazenado (D). Aos 40 dias já possui discos novos e emergentes (E), no detalhe a primeira célula real construída.



Fonte: Esquema de fotos elaborada pelo autor.

As análises mostraram que não houve diferença entre métodos ($p = 0,771$) utilizados, nem entre anos ($p = 0,307$), mas houve influência da precipitação ($p = 0,046$) sobre o sucesso (Tabela 1).

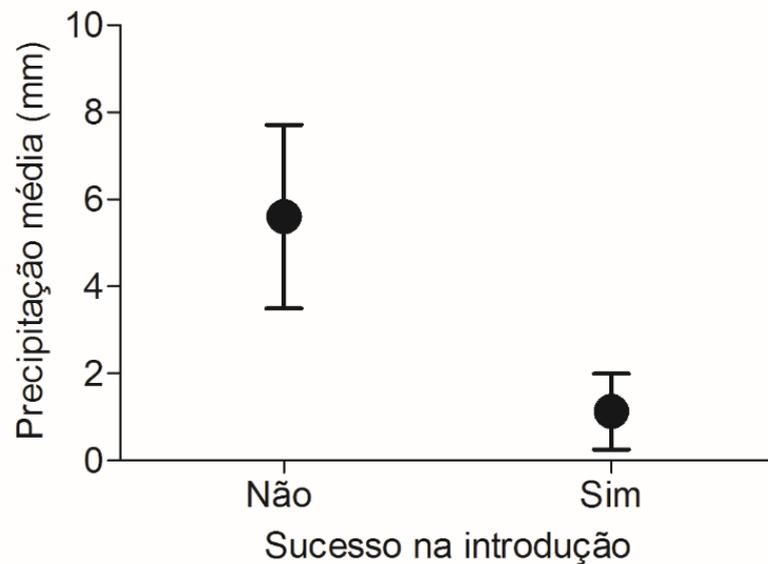
Tabela 1 – Resultados dos testes estatísticos (modelos lineares generalizados) para a variável dependente sucesso, segundo as variáveis independentes.

| Dependente | Variáveis | | Estatística | p-valor |
|----------------------------|-----------|-------------------|-------------|--------------|
| | | Independente | | |
| Sucesso | | Método | --- | 0,771 |
| | | Precipitação (mm) | --- | 0,046 |
| | | Ano | --- | 0,307 |
| Início da postura (dias) | | Método | F = 13,832 | 0,002 |
| | | Precipitação (mm) | F = 0,601 | 0,449 |
| | | Ano | F = 2,313 | 0,148 |
| Tempo de emergência (dias) | | Método | F = 0,074 | 0,788 |
| | | Precipitação (mm) | F = 1,481 | 0,235 |
| | | Ano | F = 5,637 | 0,025 |

$p > 0.05$

Em relação aos métodos utilizados para formação de novas colônias a análise utilizada verificou que o sucesso do método foi dependente das variáveis ambientais, do ano e do método utilizado. Das variáveis avaliadas, a precipitação e o ano influenciaram no sucesso, no entanto, não houve diferença entre os métodos utilizados para a formação de novas colônias ($p > 0.05$) para esse estudo. O sucesso na introdução de rainhas virgens e de realeiras foi influenciado negativamente pela precipitação, tanto para o método tradicional de formação de novas colônias (7) como para minicolônias (11) (Gráfico 2).

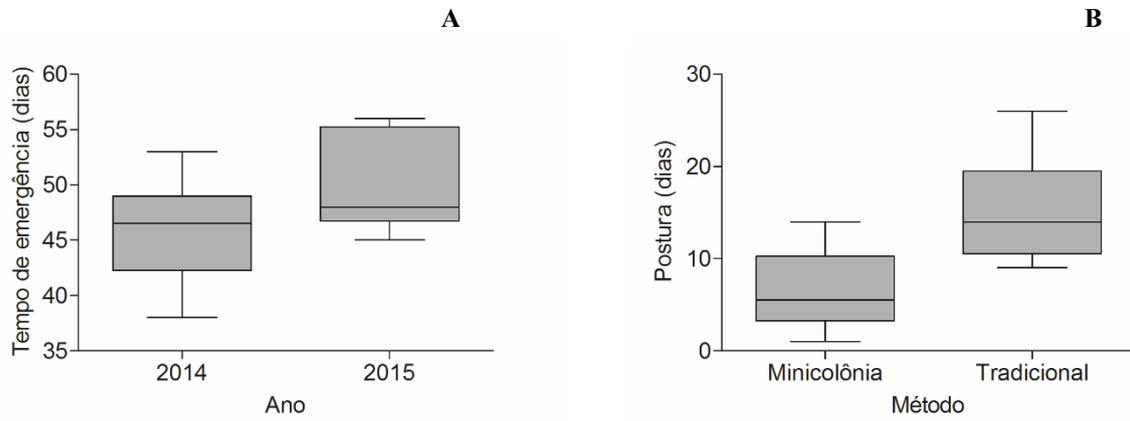
Gráfico 1 - Influência da precipitação no sucesso da introdução de rainhas virgens e realeiras para os dois métodos utilizados.



Em relação ao tempo de emergência da rainha, a análise mostrou que não houve influência da precipitação ($p = 0,235$), nem houve diferença entre métodos ($p = 0,788$) utilizados, mas houve diferença entre anos ($p = 0,025$).

Consideramos nesse estudo, como tempo de postura em dias, a diferença entre o dia de emergência da rainha até o dia da postura da primeira célula por essa rainha. A análise mostrou que não houve influência da precipitação ($p = 0,449$), nem houve diferença entre anos ($p = 0,148$), mas houve diferença entre métodos ($p = 0,002$) sobre o início da postura. Nesse estudo as rainhas das minicolônias apresentaram menor tempo para iniciar a postura em relação as rainhas das colônias formadas com o método tradicional (Gráfico 3). Provavelmente esse valor tenha sido influenciado pelo número de tentativas nos dois métodos, visto que para formação de novas colônias pelo método minicolônias houve um maior número de tentativas que o método tradicional.

Gráfico 2 - Variação no tempo médio (dias) para a emergência das rainhas nos anos de 2014 e 2015 (A). Variação no início da postura (dias) das rainhas para os dois métodos utilizados (B).



7 DISCUSSÃO

O alimento é fator primordial para as abelhas, pois produção de sexuais (rainhas e machos) está claramente relacionada com a disponibilidade de recursos (pólen e néctar) disponíveis no decorrer do ano, seja para o consumo, produção de novos indivíduos ou para a reserva da colônia, dependendo do forrageio de fontes florais disponíveis em cada habitat (KLEINERT *et al.*, 2009; PRATO, 2010). Naturalmente, em locais de cultivo intenso, como monoculturas, há um menor índice de encontrarmos abelhas sem ferrão, isso porque há menos locais propícios para nidificação. Nas áreas urbanas as abelhas também estão mais escassas, pois encontram menos locais para estabelecer seus ninhos, e a oferta de alimento também é reduzida (NOGUEIRA-NETO, 1997).

A multiplicação de colônias é uma importante ferramenta dos meliponicultores que contribui com a preservação dessas abelhas, principalmente em áreas antropizadas, ajudando na conservação de espécies endêmicas de algumas regiões (SANTOS; SANTOS; BLOCHTEIN, 2015). Free (1993) relata que pode ser desvantajoso usar colônias muito grandes para as áreas que precisam de polinização. Nesse sentido, uma alternativa viável para formação de novas colônias é realização de multiplicação de colônias que serão manejadas para polinização, pois fará com que parte das campeiras que seriam perdidas durante a adaptação sejam aproveitadas na formação de novas colônias.

Para algumas abelhas, o período da manhã apresenta atividade de voo mais intensa que o período da tarde (HILÁRIO; IMPERATRIZ-FONSECA; KLEINERT, 2000; PICK; BLOCHTEIN, 2002; RODRIGUES, *et al.*, 2007; TEIXEIRA; CAMPOS, 2009), talvez devido a isso as colônias multiplicadas nesse período terem apresentado a construção e provisionamento de recursos mais rapidamente que as multiplicadas à tarde, pois haveria um maior número de forrageiras indo para campo e retornando com cargas de pólen e néctar, favorecendo o acúmulo de recursos na colônia, além de propiciar sua melhor adaptação ao manejo de multiplicação durante o decorrer do dia. Mecca e Bego (2003) observaram para *Scaptotrigona aff depilis* que o movimento externo das abelhas era mais intenso com atividade diária maior nos meses mais quentes e com maior intensidade luminosa.

Verificamos nesse estudo que as colônias de *Scaptotrigona* sp. nov. com sucesso foram obtidas em dias de baixa nebulosidade e maiores quantidades de horas de insolação, principalmente no segundo semestre do ano. Por se tratar de abelhas do gênero *Scaptotrigona*,

certamente o segundo semestre é a época do ano mais propícia para a multiplicação dessas colônias. Alguns trabalhos sugerem o transporte das colônias para o cultivo protegido no período da manhã (DUTRA, 2009), possibilitando o manejo de divisão/multiplicação de novas colônias nesse período do dia, pois as campeiras que retornarem do campo com cargas de pólen/néctar já poderão iniciar seu provisionamento diretamente na nova caixa. Assim, as poucas campeiras estabelecidas que restarão na colônia-mãe até poderão passar pelo estresse de adaptação, indo ao encontro da luz e batendo no teto e paredes da estufa (DEL SARTO, 2005; BARTELLI, 2014; BOMFIM, *et al.*, 2014), mas a perda será em menor quantidade. Além disso, as novas campeiras em idade para iniciar os primeiros voos de coleta poderão se adaptar melhor ao ambiente que as campeiras já estabelecidas. Nesse caso, deve-se fazer o manejo de modo que permita a sincronia de colônias e floradas das culturas, para mantê-las sempre em bom estado (fortes), e com isso suprir a demanda. Manter um armazenamento de recursos como saporá (pólen fermentado das colônias), mel, batume, resina entre outros recursos necessários para a colônias ajudará a recuperar colônias fracas, evitando perdas e possibilitando a manutenção do plantel.

Os fatores climáticos, isolados ou em conjunto, exercem influência sobre a atividade de voo dos meliponíneos (HILÁRIO; RIBEIRO; MPERATRIZ-FONSECA, 2007; KLEINERT *et al.*, 2009). Talvez por isso o sucesso na introdução tanto de rainhas virgens como das realeiras tenha sido influenciado pela precipitação, visto que essas colônias tinham acesso livre ao campo desde o início de sua formação, não sendo em nenhum momento mantidas em confinamento.

O confinamento de colônias recém-criadas é um procedimento realizado por meliponicultores a fim de verificar a eficiência da multiplicação, no entanto compromete o desenvolvimento das novas colônias formadas (KOFFLER, 2013), evitando que as campeiras realizassem suas atividades comuns à manutenção da colônia, além de comprometer a coleta de recursos, sendo necessário a oferta desses recursos às colônias a fim de suprir suas necessidades e não comprometer seu desenvolvimento (MENESES, 2016).

A dificuldade no estabelecimento de novas colônias em períodos mais frios já foi observada (KOFFLER, 2013), e podemos considerar que a nova colônia formada precisa de um número de campeiras suficientes para controle da temperatura interna do ninho, bem como das crias, de modo a não comprometer seu desenvolvimento inicial (LOLI, 2008; DANTAS, 2016).

Segundo o calendário das chuvas da FUNCEME (2017) para o município de Fortaleza, no ano de 2015 a quantidade de chuva foi de 1577,8 mm e em 2014 foi de 1154,1

mm, considerando que a quantidade de chuva normal para o município seja de 1456.7 mm. Esses valores demonstram que no ano de 2014 a quantidade de chuvas foi menor que em 2015, e isso provavelmente pode ter influenciado na oferta de alimento disponível para as colônias, fazendo com as reservas armazenadas fossem menores, podendo ter influenciado no desenvolvimento de novos indivíduos. Sugerindo que, por esse mesmo motivo, o tempo em dias para emergência da rainha, no método de minicolônias, tenha sido menor no primeiro ano em relação ao segundo ano. O início da postura mais cedo para as colônias formadas nas minicolônias pode estar relacionado com fato de a maior parte dessas colônias terem sido instaladas nos módulos melgueiras adaptados para caixas. A área interna menor provavelmente ajudava na termorregulação das crias realizada pelas campeiras que entram na nova colônia. As abelhas sem ferrão utilizam a termorregulação passiva para o controle da temperatura do ninho utilizando as estruturas da colônia (favos, potes de alimento, invólucro) para isso, pois são os únicos mecanismos que possuem para termorregular. A constância na temperatura é fundamental para o crescimento normal e o desenvolvimento das fases de larva e pupa (DANTAS, 2016). A realização de multiplicações utilizando o método de minicolônias pode ser empregado para formação de novas colônias de *Scaptotrigona* sp. nov..

8 CONCLUSÕES

Para esse estudo, a precipitação influenciou negativamente no sucesso do método utilizado para formação de novas colônias, indicando que o segundo semestre seja a época do ano mais propícia para a multiplicações dessas colônias.

As rainhas criadas pelo método minicolônias foram mais rápidas em iniciar a atividade de postura.

REFERÊNCIAS

- AMBIENTE BRASIL. **Clima - Classificação dos Climas do Brasil**. [s. l.] Disponível em: http://ambientes.ambientebrasil.com.br/natural/clima/clima_-_classificacao_dos_climas_do_brasil.html. Acesso em: 07 de jan. 2018.
- BARTELLI, B. F.; SANTOS, A. O. R.; NOGUEIRA-FERREIRA, F. H. Colony performance of *Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera, Meliponina) in a Greenhouse of *Lycopersicon esculentum* (Solanaceae). **Sociobiology**, [s. l.] v. 61, n. 1, p. 60-67, 2014.
- BOMFIM, I. G. A. *et al.* Adaptive and foraging behavior of two stingless bee species in greenhouse mini watermelon pollination. **Sociobiology**, [s. l.] v. 61, n. 4, p. 502-509, 2014.
- BOSCH, J.; KEMP, W. Developing and establishing bee species as crop pollinators: the example of *Osmia* spp. (Hymenoptera: Megachilidae) and fruit trees. **Bulletin of entomological research**, [s. l.] v. 92, n. 1, p. 3-16, 2002.
- CORTOPASSI-LAURINO, M. *et al.* Global meliponiculture: challenges and opportunities. **Apidologie**, [s. l.] v. 37, n. 2, p. 275-292, 2006.
- CRUZ, D. O. *et al.* Adaptação e comportamento de pastejo da abelha jandaíra (*Melipona subnitida* Ducke) em ambiente protegido. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, [s. l.] v. 26, n. 3, p. 293-298, 2004.
- DANTAS, M. R. T. Thermogenesis in stingless bees: an approach with emphasis on brood's thermal contribution. **JABB-Online Submission System**, [s. l.] v. 4, n. 4, p. 101-108, 2016.
- DEL SARTO, M. C. L. **Avaliação de *Melipona quadrifasciata* Lepeletier (Hymenoptera: Apidae) como polinizador da cultura do tomateiro em cultivo protegido**. [s. l.] 2005. 61 f. Tese (Etomologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2005.
- DUTRA, J. C. S. **Atividade de meliponíneos (Hymenoptera: Apidae) em ambiente protegido**. [s. l.] 2009. 87 f. Tese (Etomologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009.
- FREE, J. B. *et al.* **Insect pollination of crops**. [s. l.] 2^a ed. Academic press, 1993.
- FUNCEME – **Calendário das Chuvas no Estado do Ceará**. [s. l.] Disponível em: <http://www.funceme.br/app/calendario/produto/municipios/maxima/anual>, acesso em: 09/09/2017.
- HEARD, T. A. The role of stingless bees in crop pollination. **Annual Review of Entomology**. [s. l.] 44, 183–206. 1999.
- HILÁRIO, S. D.; RIBEIRO, M. F.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. Impacto da precipitação pluviométrica sobre a atividade de voo de *Plebeia remota* (Holmberg, 1903). (Apidae, Meliponini). **Biota Neotropica**, [s. l.] v. 7, n. 3, 2007.

HILÁRIO, S. D.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; KLEINERT, A. M. P. Flight activity and colony strength in the stingless bee *Melipona bicolor bicolor* (Apidae, Meliponinae). **Revista brasileira de biologia**, [s. l.] v. 60, n. 2, p. 299-306, 2000.

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. *et al.* 3.3 Brazilian Pollinators Initiative: Biodiversity and Sustainable Use of Pollinators. **Caring for Pollinators**, p. 64, 2008.

INSITUTO DE PESQUISAS E ESTRATÉGIAS ECONÔMICAS DO CEARÁ (IPCE). **Perfil Básico Municipal**. Fortaleza, 2016. Disponível em: http://www.ipece.ce.gov.br/perfil_basico_municipal/2016/Fortaleza.pdf. Acesso em: 07 de jan. 2018.

ITIS, 2010. **Interagency Taxonomic Information System**. [s. l.] World Bee Checklist Project. Disponível em: <http://www.catalogueoflife.org/annual-checklist/2010/details/database/id/67>. Acesso em: 11 de ago. 2017.

JAFFÉ, R. *et al.* Bees for development: Brazilian survey reveals how to optimize stingless beekeeping. **PloS one**, [s. l.] v. 10, n. 3, p. e0121157, 2015.

KERR, W. E. *et al.* Aspectos pouco mencionados da biodiversidade amazônica. **Parcerias Estratégicas**, [s. l.] v. 6, n. 12, p. 20-41, 2001.

KERR, W. E. Estudos sobre o gênero *Melipona*. **Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, Piracicaba, v. 5, p. 181-276, 1948.

KLEINERT, A. M. P. *et al.* Abelhas sociais (Bombini, Apini, Meliponini). **Bioecologia e nutrição de insetos-Base para o manejo integrado de pragas**, [s. l.] p. 373-426, 2009.

KOFFLER, S. **Influência da quantidade de recursos alimentares e da sazonalidade sobre a produção de sexuais em *Scaptotrigona aff. depilis* (Apidae, Meliponini)**. [s. l.] Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, Departamento de Ecologia, 2013.

LOLI, D. **Termorregulação colonial e energética individual em abelhas sem ferrão *Melipona quadrifasciata* Lepelletier (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)**. [s. l.] 2008. 229 f. Tese (Doutorado em Fisiologia Geral) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

MAGALHÃES, T. L.; VENTURIERI, G. C. **Aspectos econômicos da criação de abelhas indígenas sem ferrão (Apidae: Meliponini) no Nordeste Paraense**. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental. 1 ed., p. 36, 2010.

MALAGODI-BRAGA, K. S.; KLEINERT, A. M. P.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. Abelhas sem ferrão e polinização. **Revista Tecnologia e Ambiente**, Criciúma, v.10, p. 59-70, 2004.

MECCA, G. F.; BEGO, L. R. **O comportamento forrageiro das operárias de *Scaptotrigona aff. depilis* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini), relacionado a fatores climáticos**. [s. l.] 2003. [s.n.], Ribeirão Preto, 2003.

MENESES, H. M. **Desenvolvimento de colônias de jandaíra (*Melipona subnitida*) sob confinamento e avaliação de métodos de multiplicação.** [s. l.] 2016. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Fortaleza, 2016.

MENEZES, C.; VOLLET-NETO, A.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. A method for harvesting unfermented pollen from stingless bees (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). **Journal of Apicultural Research**, [s. l.] v. 51, n. 3, p. 240-244, 2012.

NOGUEIRA-NETO, P. **Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão.** [s. l.] Nogueirapis, 1997.

OLIVEIRA, M. O. Declínio populacional das abelhas polinizadoras de culturas agrícolas. **Acta Apicola Brasilica**, [s. l.] v. 3, n. 2, p. 01-06, 2015.

OLIVEIRA, R. C. *et al.* Trap-nests for stingless bees (Hymenoptera, Meliponni). **Apidologie**, [s. l.] v. 44, n. 1, p. 29-37, 2013.

PICK, R. A.; BLOCHTEIN, B. Atividades de voo de *Plebeia saiqui* (Holmberg) (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) durante o período de postura da rainha e em diapausa. **Revista Brasileira de Zoologia**, [s. l.] v. 19, n. 3, p. 827-839, 2002.

PRATO, M. **Ocorrência natural de sexuais, produção *in vitro* de rainhas e multiplicação de colônias em *Tetragonisca angustula* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini).** 2011. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2011.

R Core Team (2017). **R: A language and environment for statistical computing.** R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

RODRIGUES, M.; SANTANA, W. C.; SOARES, A. E. E. Flight activity of *Tetragona clavipes* (Fabricius, 1804) (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) at the São Paulo University campus in Ribeirão Preto. **Bioscience Journal**, [s. l.] v. 23, 2007.

ROSELINO, A.C.; BISPO DOS SANTOS, S.A.; BEGO, L. R. Qualidade dos frutos de pimentão (*Capsicum annuum* L.) a partir de flores polinizadas por abelhas sem ferrão (*Melipona quadrifasciata anthidioides* Lepageletier 1836 e *Melipona scutellaris* Latreille 1811) sob cultivo protegido. **Revista Brasileira de Biociências**, [s. l.] v. 8, n. 2, p. 154-158, 2010.

SANTOS, C. F.; SANTOS, P. D. S.; BLOCHTEIN, B. *In vitro* rearing of stingless bee queens and their acceptance rate into colonies. **Apidologie**, [s. l.] v. 47, n. 4, p. 539-547, 2016.
HILÁRIO

SANTOS, T. C. A.; CRUZ-LANDIM, C. Determinação das castas em *Scaptotrigona postica* (Latreille) (Hymenoptera, Apidae, Meliponini): diferenciação do ovário. **Revista Brasileira de Zoologia**, [s. l.] p. 703-714, 2002.

SILVA, C. I. *et al.* **Guia ilustrado de abelhas polinizadoras no Brasil.** [s. l.] 2014.

TEIXEIRA, L. V.; CAMPOS, F. N. M. Início da atividade de voo em abelhas sem ferrão (Hymenoptera, Apidae): influência do tamanho da abelha e da temperatura ambiente. **Revista Brasileira de Zociências**, [s. l.] v. 7, n. 2, 2009.

WINSTON, M. L. **A biologia da abelha**. Porto Alegre: Magister, 2003.

WITTER, S. *et al.* **As abelhas e a agricultura**. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2014.

RESUMO

O aperfeiçoamento de novas técnicas de produção de rainhas, aliado ao manejo racional para multiplicação de novas colônias, pode vir a sanar um déficit de produção de colônias em larga escala, evitando o manejo predatório e aumentando o número de colônias disponíveis para o manejo na polinização de culturas agrícolas. O objetivo desse trabalho foi utilizar a técnica de produção de rainhas de *Scaptotrigona* sp. nov. *in vitro* para formação colônias da *Scaptotrigona* sp. nov., verificando sua aceitação em novas colônias. Os ensaios foram realizados no Laboratório de Abelhas do Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, no período de fevereiro de 2016 a março de 2017. O período crítico para o estudo em questão foi em relação ao número de pupas sobreviventes, pois houve mais perda na fase de larva para pupa (34%) em relação a fase de pupa para rainha (24%), com uma diferença de 49% de sucesso do estágio larval para pupa entre os ensaios. Em média, o tempo de permanência das rainhas virgens nas colônias após sua introdução foi de 5,61 ($\pm 4,02$). As taxas de aceitação das rainhas introduzidas foram separadas em três classes de idades em dias 0 a 4 (77%), 5 a 9 (82%) e 10 a 14 (100%). Na comparação entre as idades de introdução de rainhas virgens para verificar se há uma idade de maior aceitação, encontramos que não existe diferença ($p > 0.05$) entre o tempo das idades (dia) de rainhas introduzidas para esse trabalho. Embora o estudo tenha apresentado uma boa taxa de aceitação (80%), não pudemos avaliar o estabelecimento de novas colônias em *Scaptotrigona* sp. nov., pois nenhuma das rainhas que saíram para voo retornaram à colônia.

Palavras-chave: multiplicação de colônias; produção de rainhas *in vitro*; aceitação de rainhas; minicolônias; colônias órfãs.

ABSTRACT

The improvement of new queens production techniques, combined with the rational management for the multiplication of new colonies, can solve a large scale colony production deficit, avoiding predatory management and increasing the number of colonies available for management in pollination of agricultural crops. The aim of this work was to use the production technique of *Scaptotrigona* sp. nov. *in vitro* to form colonies of *Scaptotrigona* sp. nov., verifying its acceptance in new colonies. The tests were carried out at the Bee Laboratory of the Bee Sector of the Federal University of Ceará, from February 2016 to March 2017. The critical period for the study in question was in relation to the number of surviving pupae, as there was more loss in the larva to pupa phase (34%) in relation to the pupa to queen phase (24%), with a 49% difference in the success of the larval to pupa stage between the tests. On average, the virgin queens spent in the colonies after their introduction was 5.61 (\pm 4.02). The acceptance rates of the introduced queens were separated into three age groups on days 0 to 4 (77%), 5 to 9 (82%) and 10 to 14 (100%). When comparing the age of introduction of virgin queens to check for an age of greater acceptance, we found that there is no difference ($p > 0.05$) between the age of the ages (in days) of queens introduced for this study. Although the study showed a good acceptance rate (80%), We were unable to evaluate the establishment of new colonies in *Scaptotrigona* sp. nov., because none of the queens that left for flight returned to the colony.

Keywords: multiplication of colonies; production of *in vitro* queens; acceptance of queens; minicolonies; orphan colonies.

9 CAPÍTULO 3 – PRODUÇÃO DE RAINHAS VIRGENS DE *SCAPTOTRIGONA* SP. NOV. (APIDAE, MELIPONINI) *IN VITRO* E SUA ACEITAÇÃO EM NOVAS COLÔNIAS

10 INTRODUÇÃO

No mundo existem mais de 20.000 espécies de abelhas com cerca de 1.800 já descritas (MICHENER, 2007), mas apenas algumas espécies de abelhas solitárias e sociais são manejadas comercialmente como polinizadoras de plantas cultivadas (FREE, 1993; BOSCH; KEMP, 2002; CRUZ; CAMPOS, 2009; GARÓFALO *et al.*, 2012; IPBES, 2016). Esses insetos são os polinizadores bióticos mais estudados e recomendados mundialmente para serviços de polinização (SADEH, SHIMIDA; KEASAR, 2007; FREITAS, *et al.*, 2009; SILVA, *et al.*, 2014; FREITAS; BOMFIM, 2017), tanto em campo aberto quanto, principalmente, em ambiente protegido (LEÃO, 2014; BARTELLI, SANTOS, NOGUEIRA, *et al.*, 2014; ENTURIERI, 2015; IPBES, 2016; KISHAN *et al.*, 2017).

Nos últimos anos uma alternativa na polinização agrícola tem sido a utilização de abelhas nativas sem ferrão (NUNES-SILVA, 2013; BOMFIM, *et al.*, 2014; SILVA, OLIVEIRA, HRNCIR, 2016; KISHAN, *et al.*, 2017; AZMI, *et al.*, 2017), também conhecidas como meliponíneos. Esse grupo possui uma grande diversidade de espécies, sendo apontado como de maior plasticidade dentre as abelhas sociais (SILVEIRA, MELO, ALMEIDA, 2002; HEARD, 1999; VENTURIERI; CONTRERA, 2012). Essas abelhas são encontradas em regiões tropicais e subtropicais do mundo, possuindo mais de 500 espécies e com muitas ainda a serem descritas, sendo consideradas os principais visitantes de muitas plantas com flores nos trópicos (HEARD, 1999; MICHENER, 2013). Essas abelhas nidificam em cavidades pré-existentes, mas também podem ser mantidas em caixas racionais (WILLE, 1983; FABICHAK, 1989; NOGUEIRA-NETO, 1997; CORTOPASSI-LAURINO, *et al.*, 2006; VENTURIERI, *et al.* 2015; IMPERATRIZ-FONSECA, KOEDAM e HRNCIR, 2017), o que facilita o manejo direcionado para o serviço de polinização em casas de vegetação (NUNES-SILVA, 2013; BOMFIM, *et al.*, 2014; BAPTISTA, 2016) e em campo aberto (LEÃO, 2014, LEMOS, 2014). Além disso, o fato de não apresentarem ferrão funcional, possuir um nível de organização social comparável ao das abelhas melíferas, apresentarem baixa defensibilidade, menor amplitude do voo de forrageamento, colônias perenes e se adaptarem as condições de confinamento (WILLE,

1983; MALAGODI-BRAGA *et al.*, 2004; CRUZ *et al.*, 2004; CRUZ *et al.*, 2005;) torna essas abelhas uma alternativa viável e vantajosa para utilização em ambientes protegidos.

No entanto, ainda não se pode utilizá-las em larga escala, pois a aquisição de colônias de meliponíneos tem sido o fator limitante para sua utilização. A remoção predatória de ninhos na natureza é uma prática agressiva ao meio ambiente e tem se tornado uma das causas de ameaça de extinção de algumas espécies de abelhas sem ferrão (BLOCHTEIN; HARTE-MARQUES, 2003; DEL SARTO *et al.*, 2005), sendo essa uma das maiores dificuldades quando se fala em conservação dessas abelhas (MARTINI, PFÜLLER, MARTINS, 2015).

A utilização de caixas isca para captura de enxames em seu ambiente natural é uma técnica bastante difundida, legal e que se aproveita do processo natural de enxameação das abelhas, no entanto, a enxameação é um processo lento e que possui baixas taxas de sucesso, o que torna a prática demorada, além de depender da disponibilidade desses enxames na natureza (NOGUEIRA-NETO, 1997; VILLAS-BÔAS, 2012; OLIVEIRA, *et al.*, 2013; MARTINI, PFÜLLER, MARTINS, 2015). Desse modo a divisão artificial de colônias tem se tornado uma prática bastante difundida entre os produtores para aquisição de novos enxames, evitando a retirada predatória de enxames em ambientes naturais e tornando-se uma ferramenta importante para a conservação de espécies de meliponíneos, (NOGUEIRA-NETO 1997; OLIVEIRA; KERR, 2000; VENTURIERI, 2004; MARTINI, PFÜLLER, MARTINS, 2015).

A maioria das técnicas de multiplicação difere pouco entre si, e pode vir a variar dependendo da espécie de abelha manejada, principalmente no que diz respeito a características na produção de novas rainhas (NOGUEIRA-NETO, 1997; VENTURIERI, 2004; KLEINERT *et al.*, 2009; VILLAS-BÔAS, 2012; IMPERATRIZ-FONSECA, KOEDAM; HRNCIR, 2017), e conhecê-las é fundamental para formação de novas colônias. Enquanto que, para algumas espécies de meliponíneos, as rainhas se desenvolvem em células de mesmo tamanho que as demais com sua casta determinada de forma “genético-trófica”, (KERR, 1946, KERR, 1950, WILLE, 1983; NOGUEIRA-NETO, 1997), nos demais meliponíneos as rainhas se desenvolvem em células maiores denominadas de célula real ou realeira, que comportam uma maior quantidade de alimento larval, como ocorre com as *Scaptotrigona* spp, que para a criação de uma colônia-filha depende da presença de realeiras para que se obtenha sucesso (TEIXEIRA, 2012). A maior quantidade de alimento pode ser adquirida de duas formas: (a) a larva, após consumir todo seu alimento, perfura a parede comum à sua célula consumindo parte do alimento, e finaliza seu desenvolvimento como rainha no espaço existente entre as duas células,

como ocorre em espécies que produzem crias em cacho; (b) a larva se desenvolve em uma célula maior (célula real ou realeira) construída por operárias, e onde é depositado, de forma massal, uma grande quantidade de alimento que será ingerido pela larva para se tornar rainha.

Diante disso novas técnicas de criação de colônias estão sendo desenvolvidas, tanto para aproveitar o excedente de rainhas produzidas ao longo do ano na colônia, como é o caso de *Meliponas* spp., para formação de novos enxames de forma racional, eficiente e em menor tempo (MENESES, 2016), como também na formação de novas colônias em *Scaptotrigona* spp., espécie dependente de produção natural de rainhas. E nesse caso, a técnica de produção *in vitro* de rainhas trouxe um grande avanço para a multiplicação de colônias de espécies de abelhas que tem no fator alimentar o mecanismo exclusivo para determinação das castas (TEIXEIRA, 2012; PRATO, 2013; MENESES, 2016). Estudos realizados com *Tetragonisca angustula* (PRATO, 2013), *Frieseomelitta varia* (SANTANA *et al.*, 2012) e *Scaptotrigona depilis* (MENEZES, VOLLET-NETO e IMPERATRIZ-FONSECA, 2013) mostram a eficácia e viabilidade do método de produção de rainhas em taxas superiores que as taxas naturais.

O gênero *Scaptotrigona* possui uma grande diversidade e está distribuído por toda região Neotropical apresentando 20 espécies bem definidas, sendo que destas, nove ocorrem no Brasil: *Scaptotrigona affabra*, *S. bipunctata* (tubuna), *S. depilis*, *S. fulvicutis*, *S. polysticta* (benjoí ou bijuí), *S. postica* (mandaguari ou canudo), *S. tricolorata*, *S. tubiba* (tubiba), *S. xanthotricha* (NOGUEIRA-NETO, 1997; SILVEIRA, MELO; ALMEIDA, 2002; CAMARGO; PEDRO, 2013; ASCHER; PICKERING 2018). Estas abelhas possuem uma grande diversidade de formas, visto que o gênero compõe um grupo de difícil separação, e por isso um amplo número de espécies ainda não foi descrito (SILVEIRA, MELO; ALMEIDA, 2002). As colônias são bastante populosas, apresentando ninhos com aproximadamente 100 mil indivíduos (NOGUEIRA-NETO, 1997) capazes de coletar e armazenar grandes quantidades de recurso florais nos períodos de disponibilidade destes.

No que diz respeito a *Scaptotrigona* sp. nov., sua utilização promissora já foi testada no cultivo protegido do meloeiro (*Cucumis melo*) (BEZERRA, 2014) e em mini melancia (*Citrullus lanatus*) (BOMFIM, *et al.*, 2014), apresentando uma boa adaptação em ambientes confinados. Desse modo, o aperfeiçoamento das técnicas de produção de rainhas, aliado ao manejo racional para formação de novas colônias, pode vir a sanar um déficit de produção de colônias em larga escala, evitando o manejo predatório e aumentando o número de colônias disponíveis para o manejo na polinização de culturas agrícolas.

11 MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram realizados no Laboratório de Abelhas do Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, no período de fevereiro de 2016 a março de 2017. Para a coleta de discos novos foram utilizadas 27 colônias existentes no Meliponário do Setor de Abelhas da UFC. Essas colônias foram preparadas durante 60 dias recebendo reforço de alimentação artificial (xarope) e pólen de *Apis mellifera* e de abelhas sem ferrão (ASF) para estimular a postura da rainha.

11.1 Produção de rainhas de *Scaptotrigona* sp. nov. utilizando a técnica *in vitro*

A técnica utilizada para produção de rainhas *in vitro*, nos quatro ensaios, foi a descrita por Menezes (2010).

No dia anterior à coleta de discos novos, foi realizada uma revisão geral para selecionar as colônias doadoras de discos novos para retirada de alimento larval, para isso algumas células do disco selecionado eram abertas para saber se as larvas tinham a mesma idade para transferência.

Os discos selecionados foram retirados das colônias, colocados em placa de Petri sobre papel úmido e levados à estufa a 28°C. Antes de iniciar o procedimento de produção de rainhas, estufa, bancadas e demais equipamentos foram higienizados utilizando solução de álcool a 70%. A estufa foi ligada a 28°C e a bancada foi forrada com papel toalha.

Para a transferência das larvas na produção de rainhas de *Scaptotrigona* sp. nov. *in vitro* foram utilizadas como células reais (realeiras) artificiais placas de acrílico com 96 poços e fundo em “U” (86 x 128mm) com volume em cada poço de 0,281mL. O alimento larval retirado foi homogeneizado e distribuído nos poços da placa com pipeta automática monocanal Premium Black 100-1000 µL, da marca Kasvi. Na incubação das larvas foi utilizada estufa para cultura bacteriológica com temperatura de 0°C a 99°C da marca De Leo. Em cada poço da placa de acrílico foram introduzidos 150µL de alimento larval, e em seguida a placa foi colocada em caixa plástica forrada com papel úmido e levada para estufa por aproximadamente 1h, para ajudar na estratificação do alimento larval. Passado esse tempo, os discos e a placa foram retirados da estufa. O disco teve as células de crias cuidadosamente desoperculadas com auxílio

de um bastão com ponta metálica curvada em ângulo reto, de modo a expor as larvas sem danificá-las. As larvas selecionadas para transferências eram preferencialmente as menores (0-2 dias), recentemente eclodidas, com aproximadamente a mesma idade e que apresentassem boa motilidade. Após a seleção, a larva era retirada e colocada cuidadosamente sobre o alimento larval contido em cada poço na mesma posição que estavam na célula do disco de crias (figuras C e D). As larvas utilizadas nos ensaios foram retiradas de discos de crias que continham células de operárias e machos. Em cada placa foram utilizadas larvas oriundas de mais de uma colônia de *Scaptotrigona* sp. nov.

Após transferência de todas as larvas, a placa desprovida de tampa era devolvida ao recipiente com papel umedecido e levada para estufa a 28°C. Para os primeiros dias de desenvolvimento das larvas, a umidade relativa foi mantida em torno de 100% com a utilização de papel umedecido com água no interior do recipiente e depois foi reduzida para aproximadamente 75% para evitar o acúmulo de água nos poços, permanecendo assim até próximo ao fim do desenvolvimento dos imaturos. Diariamente era realizada revisão para acompanhar o desenvolvimento das larvas até que atingissem o estágio de pupa, depois desse período as revisões passaram a ser a cada três dias até a fase adulta (rainhas virgens).

O desenvolvimento das larvas foi acompanhando com revisões uma vez ao dia durante o período de seu desenvolvimento no experimento, com registro do consumo de alimento larval e desenvolvimento do fungo. Quando necessário, era realizada a inoculação de fungo, retirada das células do disco doador de larvas para transferência, para que o desenvolvimento das rainhas não fosse interrompido. As larvas que não tinham o desenvolvimento satisfatório eram trocadas por outras larvas com boa motilidade, mesma idade e tamanho a fim de que todas as rainhas tivessem a data mais próxima de emergência. Esse procedimento só acontecia até 48h após a primeira transferência, e se caso fosse necessário.

11.2 Produção de rainhas de *Scaptotrigona* sp. nov. utilizando alimento larval de *Scaptotrigona* aff. *depilis*

Para esse ensaio foi utilizado um disco de crias de uma única colônia de *Scaptotrigona* aff. *depilis* existente no meliponário do Setor de Abelhas. A seleção do disco para retirada do alimento larval seguiu o mesmo procedimento utilizado para os discos de

Scaptotrigona sp. nov., também sendo colocados em placa de Petri sobre papel umedecido e levados para estufa a 28°C. O alimento larval de *S. aff. depilis* retirado foi homogeneizado e introduzido 150µL em nove poços da placa de acrílico, e em seguida levada para estufa dentro de caixa plástica forrada com papel umedecido. Após uma hora a placa foi retirada, e sobre cada um dos poços com alimento larval foi colocada uma única larva de *Scaptotrigona* sp. nov.

11.3 Formação de novas colônias

As novas colônias foram formadas utilizando o método de criação de minicolônias ou núcleos em módulos das caixas modelo INPA, adaptadas para esse fim, pequenos núcleos de isopor e em colônias órfãs.

Os módulos foram preparados com utilização de melgueiras, vedadas no fundo com pequenos pedaços de madeira e uma abertura no mesmo diâmetro da entrada de uma caixa INPA convencional. Para total vedação de espaços existentes foi utilizada uma camada da mistura de cera derretida de *Apis mellifera* e de meliponíneos. A caixa foi preparada com a introdução de potes de cera vazios, túnel interno de entrada, disco novo em construção, discos com células emergentes sem realeiras e algumas operárias jovens (figura 2).

Cada colônia recebia 1 rainha virgem (RV) marcada com tinta fosca atóxica à base de água (ACRILEX®). As colônias permaneciam confinadas por pelo menos 5 dias para observações do seu comportamento e aceitação pelas operárias. Após esse período a colônia era liberada sendo retirada a tela protetora, colocado fina camada de cera com pequeno orifício de saída e moldada um túnel com cera da própria espécie. Todas as colônias eram vistoriadas diariamente três vezes por dia para observar se a rainha havia saído e retornado do voo nupcial.

11.4 Análises de dados

Foram empregadas estatísticas descritivas para analisar o tempo de emergência, a idade da RV introduzida e o tempo de permanência. Também foram utilizadas essas estatísticas para apresentar o percentual de indivíduos que avançam ao longo dos estágios ontogenéticos (larvas, pupas e adultos). Foi empregado o teste Kruskal-Wallis para realizar comparações entre

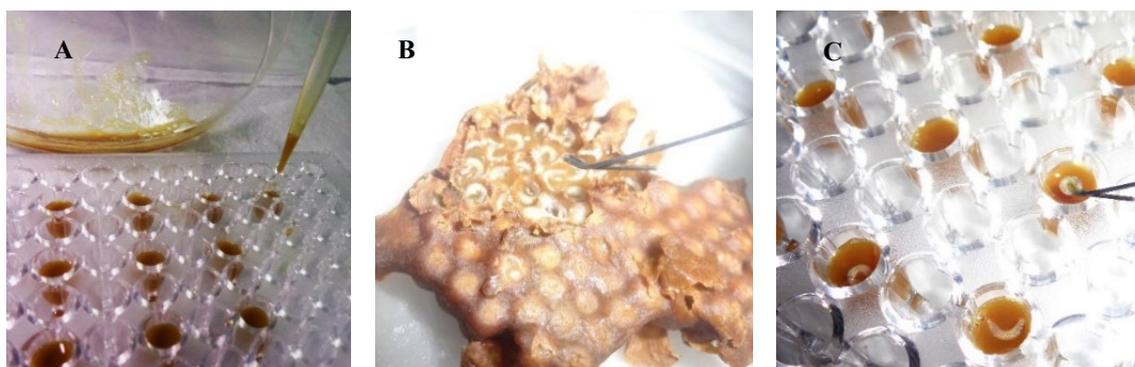
as idades de introdução de rainhas virgens com o intuito de verificar se há uma idade de maior aceitação. Todas as análises foram realizadas no software R (R Core Team, 2017).

12 RESULTADOS

12.1 Produção de rainhas *in vitro* de *Scaptotrigona* sp. nov.

Para os ensaios foram utilizadas 5 colônias de *Scaptotrigona* sp. nov. para doação de discos tanto para coleta de alimento larval (figura 1A) quanto de larvas para seleção (figura 1B) e transferência para placa de acrílico (figura 1C). A alternância entre as colônias para coleta de material foi importante evitando o risco de perda de ninhos devido a manipulação desses.

Figura 9 – Placa recém preparada para o desenvolvimento das rainhas *in vitro* de *Scaptotrigona* sp. nov. com o preenchimento dos poços individuais com alimento larval (A), seleção de larvas (B) e transferência das larvas do disco novo para células artificiais (placa de acrílico tipo Elisa) (C).



Fonte: elaborada pelo autor.

No primeiro ensaio para produção de rainhas *in vitro*, foram utilizados quatro discos novos de diferentes colônias, sendo três discos de *Scaptotrigona* sp. nov. para retirada de alimento larval e larvas, e uma única tentativa de utilização do alimento larval de outra espécie de abelha sem ferrão foi testada. Nesse teste foi utilizado a espécie *Scaptotrigona* aff. *depilis*, com a retirada de um disco novo exclusivamente para coleta de alimento larval e preenchimento de nove poços da placa de acrílico, onde foi colocado sobre cada um dos poços uma única larva de *Scaptotrigona* sp. nov. Dessas nove larvas de *S.* sp. nov. transferidas e que consumiram o alimento larval de *S.* aff. *depilis*, três tornaram-se rainhas. Nos ensaios subsequentes foram utilizados exclusivamente o alimento larval retirado de disco de *Scaptotrigona* sp. nov.

Ao todo foram realizados quatro ensaios para produção de rainhas *in vitro* nos seguintes períodos, com um total de 134 células enxertadas (quadro 1).

Tabela 2 – Quantidade de ensaios realizados para produção *in vitro* de rainhas de *Scaptotrigona* sp. nov. com seus respectivos períodos de realização, quantidade de larvas transferidas, número de pupas sobreviventes e quantidade de rainhas virgens (RV) “emergidas” ao final do processo.

| Ensaio | Data | Nº de larvas | Nº de pupas | Nº RV |
|--------|------------|--------------|-------------|-------|
| I | Abril/16 | 33 | 15 | 14 |
| II | Julho/16 | 63 | 15 | — |
| III | Outubro/16 | 21 | 12 | 7 |
| IV | Janeiro/17 | 17 | 16 | 12 |

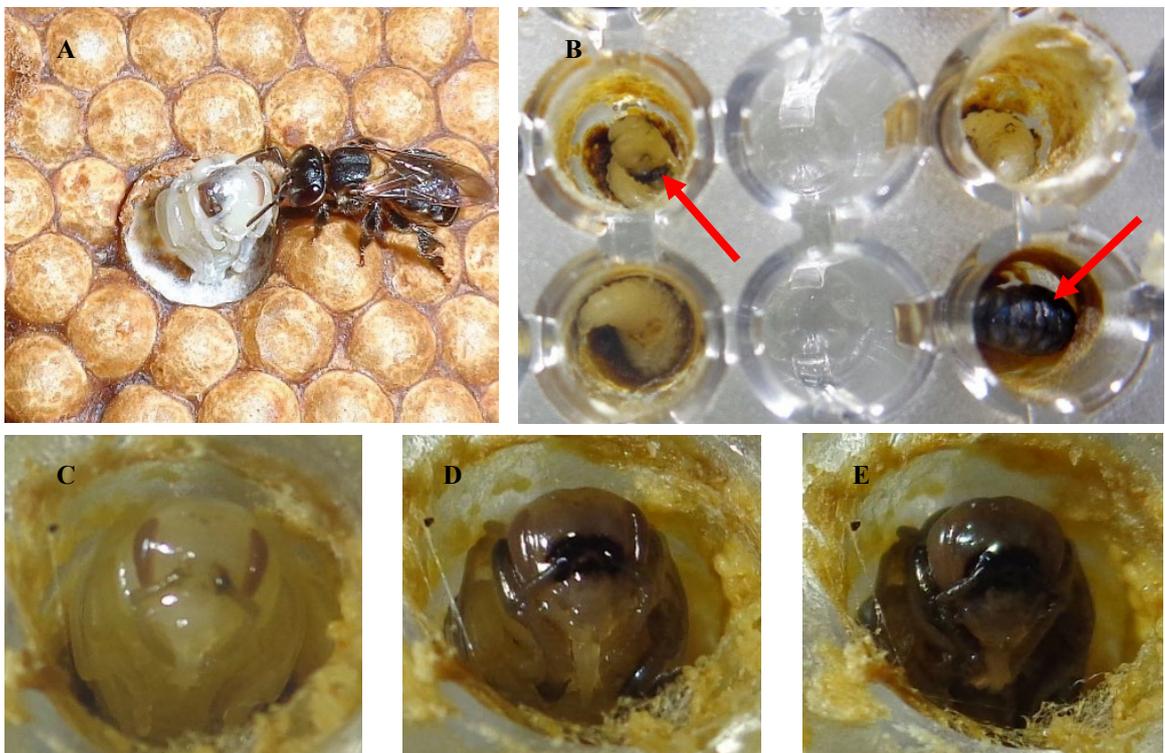
Devido as perdas ocorridas durante a fase de transição de pupas para rainhas no Ensaio–II, acabamos por retirá-lo do estudo e descartamos esses dados para eventuais análises estatísticas. Desse modo, o ensaio três passa a ser Ensaio–II e o ensaio quatro, Ensaio–III deste ponto em diante (Quadro-1). Separamos as fases do desenvolvimento das rainhas em dois estágios, de larva para pupa e de pupa para rainha.

No ensaio de teste onde foi utilizado o alimento larval de *Scaptotrigona* aff. *depilis* para alimentar nove larvas de *Scaptotrigona* sp. nov. asp. nov. todas as larvas se desenvolveram bem, com a presença do fungo retirado das células do disco de cria da *S.* sp. nov. e inoculado dentro do alimento de *S.* aff. *depilis*, até o 8º dia do ensaio, posteriormente começou a surgir pontos escuros no corpo das larvas. A presença desses pontos escuros também foi constatada de forma muito similar em outras larvas independentemente do tipo de alimento larval recebido.

Todas as larvas apresentaram boa motilidade e se alimentavam bem durante as primeiras 24h. No entanto, no segundo dia observou-se que algumas larvas apresentavam a formação de manchas escuras, essas mesmas manchas já haviam sido observadas em larvas e pupas de operárias e rainhas das colônias dessa espécie durante observações do desenvolvimento das colônias do meliponário nos anos anteriores. Três realeiras naturais apresentaram esse problema e foram destruídas pelas operárias ao serem introduzidas em colônias órfãs (figura 2A). Esse mesmo problema ocorria com células de discos novos sendo, algumas vezes, totalmente destruídos. Essa situação só era observada em algumas colônias do meliponário, principalmente no período do primeiro semestre.

Observamos na produção de rainhas *in vitro* que as larvas que apresentavam essas manchas escuras não reduziam seu consumo, seja de alimento ou fungo, mas em algum momento aparentavam modificação da forma, cor e textura do corpo, vindo a morrer após iniciarem a formação do casulo (figura 2B). Desse modo, para evitar perdas de futuras rainhas, logo que eram observadas alterações na coloração do corpo da larva, estas eram substituídas por outras que apresentassem mesma idade e tamanho, das larvas já presentes na placa. Esse procedimento só ocorria até dois dias após a transferência das larvas. No entanto algumas vezes o desenvolvimento ocorria normalmente e as larvas só começavam a apresentar essas alterações em fases mais avançadas do processo de desenvolvimento (figura 2C).

Figura 10 – Colônia: pupa de uma rainha apresentando mancha escura na cabeça sendo retirada pela operária de dentro uma célula real natural (A). Produção de rainhas *in vitro*: larvas em fase de pré-pupa apresentando manchas escuras no corpo (seta 1) e com o corpo já totalmente escurecido (seta 2) (B). Sequência de fotos de uma pupa de rainha com 31 dias apresentando pequeno ponto escuro na base da de uma das antenas (C), a mesma pupa aos 33 dias de desenvolvimento com a cabeça e primeiro par de pernas escurecido (D) e aos 38 dias apresentando todo corpo escuro (E).

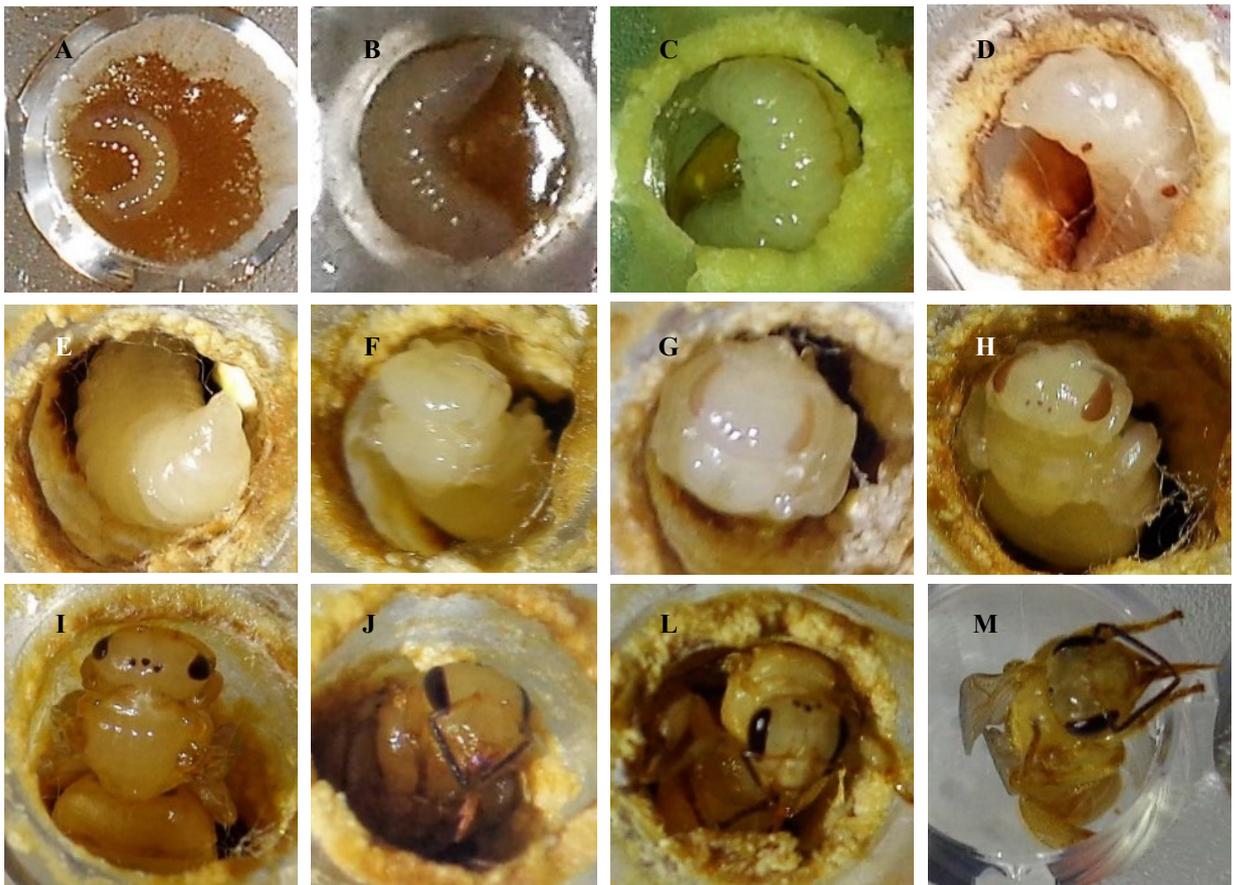


Fonte: elaborada pelo autor.

O desenvolvimento do fungo foi satisfatório com seu aparecimento a partir do segundo dia após a transferência das larvas, sendo mais intenso no terceiro dia (figura 4A). Entretanto, algumas larvas não conseguiam consumi-lo na mesma proporção com a qual se multiplicavam, sendo necessária a retirada de parte dele em algumas células artificiais, o suficiente para que a larva continuasse seu desenvolvimento. Neste estudo não foi realizada a identificação do fungo consumido pelas larvas nos dois tipos de alimento larval utilizado.

O consumo de alimento pelas larvas foi contínuo mesmo após o início do controle de umidade, que ocorria em torno do 6º dia de desenvolvimento (figura 3B), e, apesar do alimento tornar-se um pouco mais denso, foi observado que algumas larvas continuavam a se alimentar (figura 3C). Nesse momento as larvas já iniciavam a posição mais ereta no poço da placa, o que ocorria em torno do 10º dia de desenvolvimento, com todas começando a tecer o casulo por volta do 14º dia de desenvolvimento (figura 3D). Por volta do 17º dia as larvas começam a apresentar segmentos no corpo totalmente branco (figura 3E), se movimentam reagindo a luminosidade no momento da revisão começando a diferenciação para pupa entre o 20º e 21º dia de desenvolvimento (figura 3F). Após esse período, por volta do 26º dia, os olhos e os ocelos começam a ficar mais pigmentados, passando de um tom rosado (figura 3G) para marrom (figura 3H) e depois preto (figura 3I). O corpo da pupa também apresenta alterações na pigmentação, e por volta do 33º dia também começa a se apresentar mais pigmentado passando de um tom perolado e brilhante para mais amarelo e opaco (figura 3J), com as extremidades (antenas e pernas) mais escuras, e entre o 39ª e 40º dia de desenvolvimento o abdômen já se destaca uma coloração mais alaranjada (figura 3L). As rainhas já começam a se movimentar e tentar sair dos poços da placa entre o 41º e 42º (figura 4M).

Figura 11 – Estádios de desenvolvimento de imaturo *in vitro* de *Scaptotrigona* sp. nov.: larvas dois dias após a incubação consumindo alimento e o fungo que proliferou na lateral do poço da placa (A); larvas com cinco dias em pleno desenvolvimento (B); fase de alimentação final com larva se posicionando de pé ereta no poço da placa de Elisa (C), larva após defecar e tecer fios do casulo (D); um dia antes da diferenciação (E) e no dia seguinte já como pupa (F); pupas com os olhos e ocelos pigmentando com 24 dias (G), aos 30 dias (H), aos 38 dias (I) e aos 40 dias de desenvolvimento (J), rainha com mais de 42 dias tentando sair da célula artificial (L). Rainha de *Scaptotrigona* sp. nov. recém emergida (M).



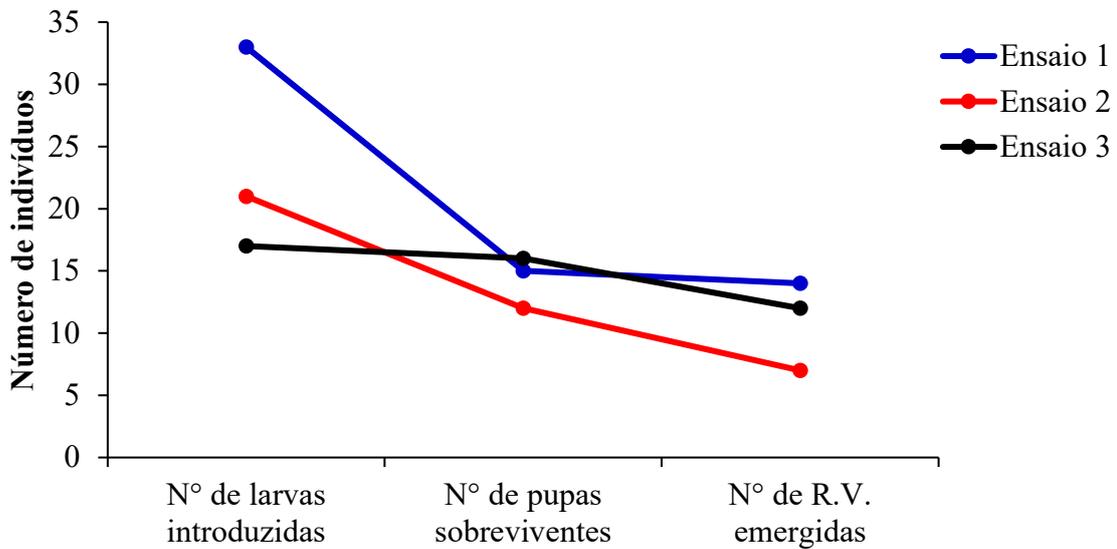
Fonte: Esquema de fotos elaborada pelo autor.

A taxa de sucesso de indivíduos que avançaram do estágio de larva para pupa nos ensaios foi de 66% ($\pm 25\%$) e de pupa para rainha virgem de 76% ($\pm 18\%$). O tempo de emergência médio das rainhas foi de 42,39 ($\pm 2,75$) dias.

Nos ensaios realizados nesse estudo ocorreram algumas perdas de indivíduos principalmente durante a primeiro estágio de transição, ou seja, de larva para pupa, sendo que no Ensaio-I (58%) e Ensaio-II (67%) as perdas foram maiores em relação ao Ensaio-III (29%). Desse modo, o período crítico para o estudo em questão é com o número de pupas

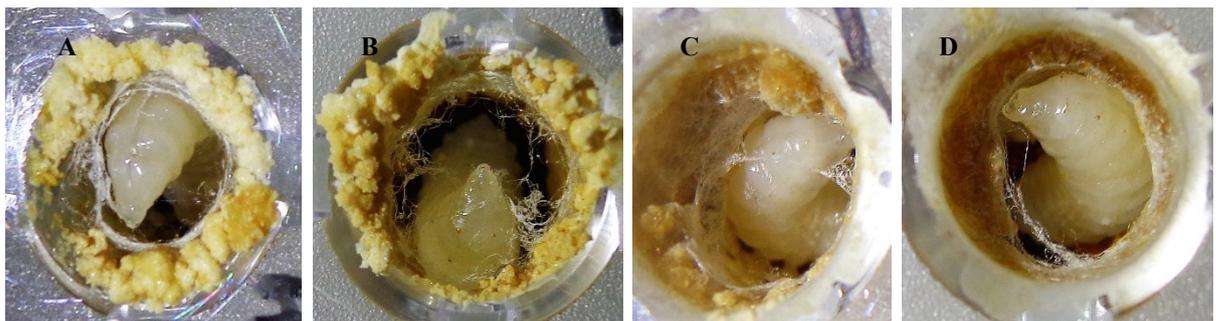
sobreviventes, ou seja, os indivíduos que passarão da fase de larva para pupa, pois após essa fase a perda torna-se menor e um número maior de indivíduos consegue passar do período de pupa para rainha (gráfico 1). De modo geral houve mais perda na fase de larva para pupa (34%) em relação a fase de pupa para rainha (24%), com uma diferença de 49% de sucesso do estágio larval para pupa entre os ensaios.

Gráfico 3 – Número de indivíduos sobreviventes que avançaram dos estágios de larva para pupa e de pupa para rainha virgem (R.V) nos três ensaios realizados para produção de rainhas *in vitro* de *Scaptotrigona* sp. nov..



A utilização da placa de acrílico como alvéolos artificiais não apresentou problemas para o desenvolvimento das larvas, pois estas foram capazes de tecerem o casulo, fixando os fios nas paredes dos poços e na superfície do alvéolo (figura 4).

Figura 12 – Larvas de rainhas de *Scaptotrigona* sp. nov. produzidas *in vitro* em desenvolvimento envoltas em fios do casulo tecido e fixos aos alvéolos artificiais.



Fonte: elaborada pelo autor.

12.2 Formação de novas colônias e aceitação das rainhas *in vitro*

Após a “emergência” das primeiras rainhas virgens foi colocado um tubo de *Eppendorf* com alimento (pólen e mel) e algumas operárias jovens para nutrir essas rainhas que aguardavam na estufa para serem introduzidas em colônias (figura 5). Durante esse período não foi observado qualquer ataque a essas rainhas por parte das operárias durante esse período de espera na estufa, nem entre as rainhas.

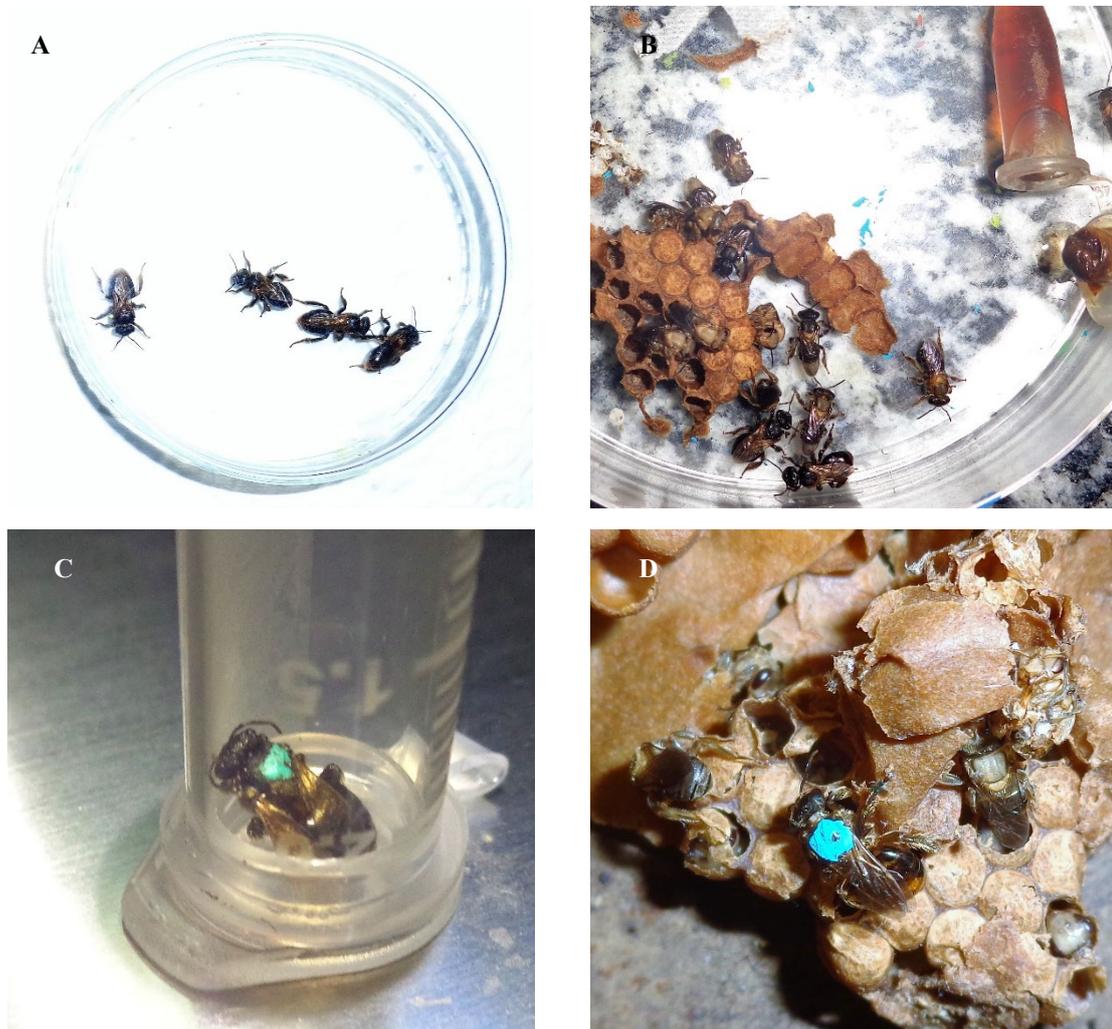
Figura 13 - Introdução de operárias e alimento (pólen e mel) em tubo *Eppendorf* para as rainhas de *Scaptotrigona* sp. nov. produzidas *in vitro*. (A). Rainhas se alimentando de mel e pólen fornecidos (B).



Fonte: elaborada pelo autor.

Por serem ainda muito jovens, as rainhas passavam por um breve período de adaptação antes da introdução definitiva em colônias montadas exclusivamente para esse fim. Essa adaptação consistia na introdução dessas rainhas em pequenas placas de Petri por no mínimo 24h antes da sua introdução definitiva em colônia (figura 6A). Cada rainha era identificada com uma marcação realizada no tórax (figura 6B) com tinta atóxica a base de água e colocadas em placas de Petri junto com algumas operárias de diferentes idades, um *Eppendorf* com pólen e mel e disco emergente (figura 6C). Nesse período de adaptação era observado o comportamento das rainhas virgens e sua aceitação antes da introdução definitiva em colônias.

Figura 14 – Rainhas virgens selecionadas para introdução (A) e em período de adaptação confinadas em placas de Petri (B). Rainha selecionada para introdução exibindo marcação de identificação no tórax de cor azul (C). Rainha selecionada para introdução exibindo marcação de identificação no tórax de cor azul (D).



Fonte: elaborada pelo autor.

Ao todo foram obtidas 33 rainhas virgens, sendo que destas 30 foram introduzidas para formação de novas colônias, sendo 23 introduzidas em colônias órfãs e sete em minicolônias formadas exclusivamente para esse fim (Figura 7A e 7B). Três morreram antes da introdução nas colônias. Da formação de 30 colônias, obtivemos 24 rainhas aceitas pelas operárias nas colônias. A média para o tempo de emergência das rainhas foi de 42,39 ($\pm 2,75$)

dias, enquanto em nossas observações a média de tempo para emergência de uma rainha em realeiras naturais era de 47 ($\pm 4,76$) dias.

Para evitar rejeição e ataque por parte das operárias, tanto nas colônias órfãs quanto nas minicolônias, as rainhas introduzidas foram confinadas em potes perfurados de cera (figura 7C). Logo que foram liberadas dos potes pelas operárias, algumas rainhas se escondiam na parte de baixo dos discos. Esse comportamento de se esconder foi mais visto em rainhas virgens mais jovens de 0-4 dias de idade, e conforme iam ficando mais velhas, as RV ficavam mais ativas e interagiam mais com as operárias (figura 7D), tendo em vista que em nosso estudo a média de idade de rainhas introduzidas era de 6,57 ($\pm 4,22$). Somente duas rainhas foram executadas, uma 24h após a introdução e a outra após 48h.

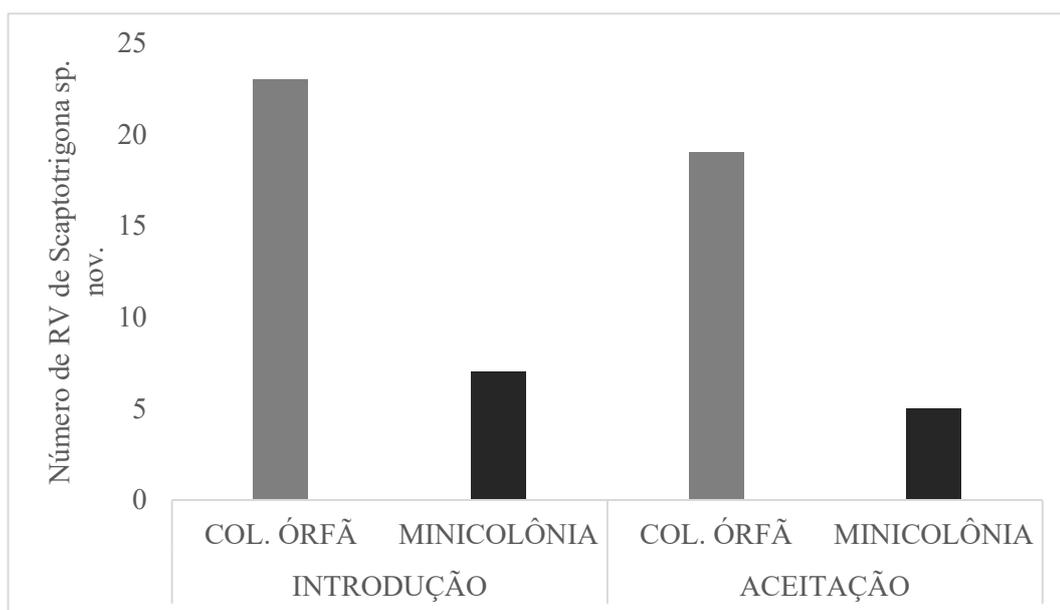
Figura 15 – Módulo melgueira com setas indicando os locais vedados com madeira, potes, placa e túnel de cera (A), a mesma colônia preparada com discos emergentes e novos (B). Introdução de rainha virgem marcada em pote perfurado fixado próximo aos favos de crias (C). Rainha virgem aceita sobre disco novo e interagindo com operarias após sua aceitação.



Fonte: elaborada pelo autor.

Em colônias órfãs foram realizadas seis introduções de RV *in vitro*, nas quais duas RV não foram aceitas. Já em minicolônias foram realizadas 23 introduções de rainhas virgens e com não aceitação de quatro rainhas (gráfico 2).

Gráfico 4 – Número de rainhas virgens de *Scaptotrigona* sp. nov. produzidas *in vitro* que foram introduzidas e aceitas em colônias órfãs e minicolônias durante o período experimental.



As observações eram feitas diariamente pelo menos uma vez ao dia, para descrever o comportamento e avaliar a aceitação das rainhas. Em média o tempo de permanência das rainhas virgens nas colônias após sua introdução foi de 5,61 ($\pm 4,02$). Logo que as rainhas virgens se apresentavam dominantes, essas colônias eram colocadas no meliponário. Eventualmente, algumas dessas colônias foram pilhadas por outras abelhas sociais existentes na área como a *Apis mellifera* e *Melipona subnitida*, ou solitária como a *Euglossa cordata* L.

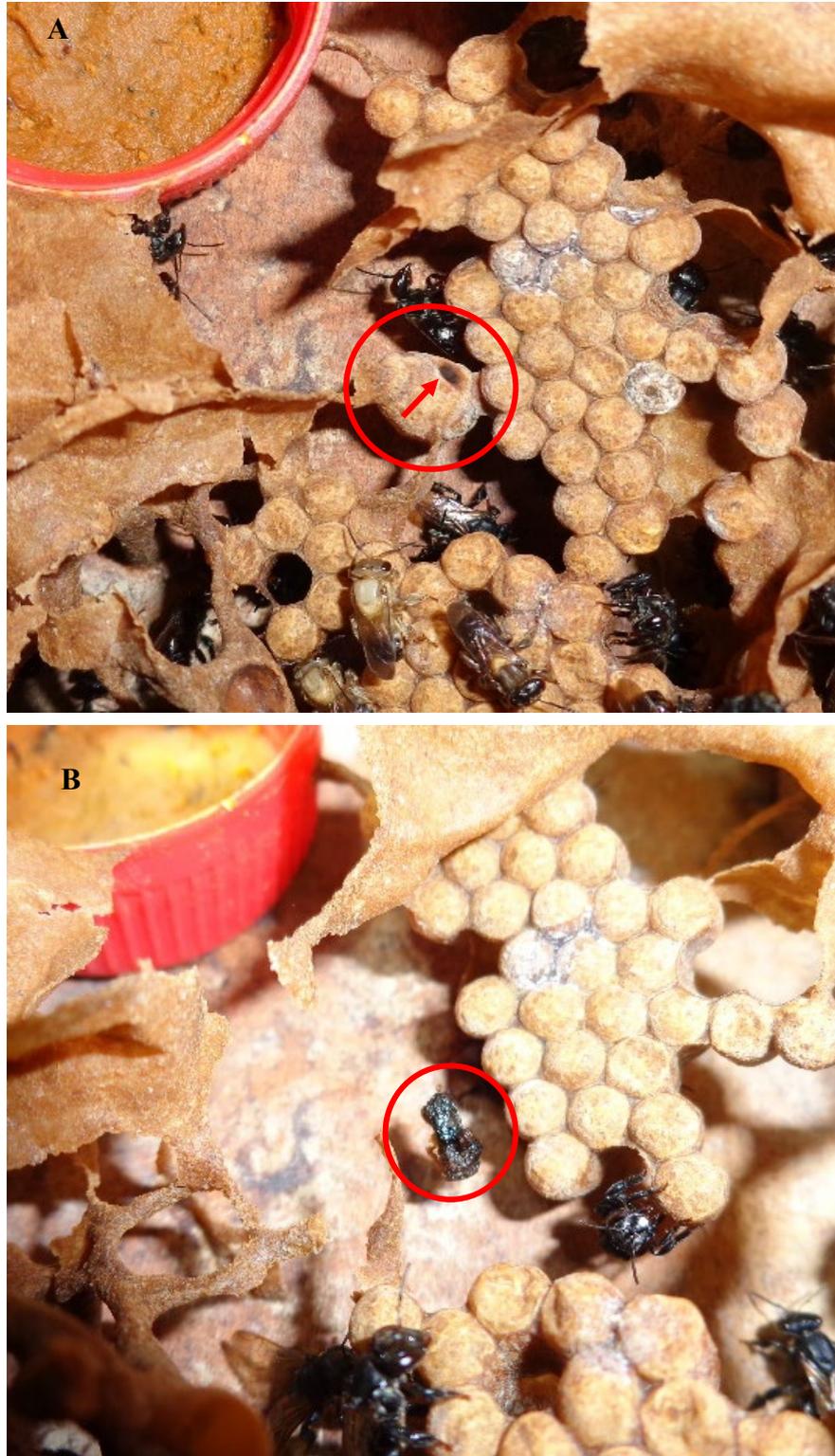
As rainhas introduzidas foram separadas em três classes de idades em dias 0 a 4 (77%), 5 a 9 (82%) e 10 a 14 (100%). Na comparação entre as idades de introdução de rainhas virgens para verificar se há uma idade de maior aceitação, encontramos que não existe diferença ($p > 0.05$) entre o tempo de idades de rainhas introduzidas para esse trabalho. Embora o estudo tenha apresentado uma boa taxa de aceitação (80%), as rainhas que saíram para o voo nupcial não retornaram. Talvez o reduzido número de machos no local tenha afetado essa fase do estudo.

13 DISCUSSÕES

Os fungos são muito importantes para abelhas, apresentando uma íntima associação necessária para o desenvolvimento das larvas desses insetos (MENEZES et al, 2013), sendo encontrados até mesmo em espécies já extintas, como a *Proplebeia dominicana* (CANO, 1994). Essa associação com fungos existente entre abelhas da espécie estudada também já foi observada para outras abelhas deste gênero (MENEZES, 2013), e permite a possibilidade de utilização de outra fonte de alimento larval para a produção de rainhas *in vitro*. No entanto, faz-se necessário mais testes sobre a tipo de fungo encontrado para em *Scaptotrigona* sp. nov., bem como o desenvolvimento das larvas da espécie em estudo utilizando outros tipos de alimento larval em que o fungo se desenvolve, assim como os possíveis efeitos do seu uso em operárias e sexuais (rainhas e machos) da colônia.

Qualquer ser vivo está sujeito a doenças, e as abelhas não estão livres desse mal comum (NOGUEIRA–NETO, 1997). De modo geral, a maioria dos casos de doenças em abelhas esteja relacionada à *Apis mellifera* e há poucos registros para as abelhas sem ferrão (NOGUEIRA–NETO, 1997; SHANKS *et al.*, 2017). O primeiro caso de doença em colônias de abelhas sem ferrão foi constatado em colônias de *Tetragonula carbonaria* na Austrália (SHANKS, 2017). Dentro da colônia de *Scaptotrigona* sp. nov. as larvas com manchas escuras eram vistas sobre o invólucro, discos novos e emergentes, e depois de algum tempo as operárias as retiravam para colocá-las na lixeira da colônia. Em alguns casos era possível ver nas colônias de observação dessa espécie, presentes no laboratório, células novas de operárias sendo abertas para retirada de larvas de cor cinza escuro e em alguns casos pretas, ficando grandes falhas nos discos novos, e que ao ficarem emergentes serviam de passagem para as operárias (NOGUEIRA–NETO, 1997). Até mesmo as pupas naturais de rainhas não estavam livres desse problema, pois em dois casos foram observadas células reais prestes a emergir rainhas virgens que apresentaram pequenos pontos pretos e circulares na parte externa da célula real emergente (figura 8A) dias antes de emergir a rainha virgem, e que ao serem abertas pelas operárias podia ser visto uma pupa morta com o corpo de tamanho bem reduzido e totalmente escurecido (figura 8B).

Figura 16 – Célula real emergente apresentando mancha lateral escura na parte externa (A), e dois dias depois foi destruída pelas operárias e dentro dela estava uma pupa de tamanho bem reduzido e cor preta (B).



Fonte: elaborada pelo autor.

Não podemos constatar que os casos de perdas de larvas enxertadas nesse estudo tenham sido relacionadas a algum patógeno existente em colônias de *Scaptotrigona* sp. nov., pois as mortes de larvas, com possíveis falhas nos discos de crias, podem estar também relacionadas com outros fatores, como termorregulação da colônias pelas abelhas (LOLI, 2008), fatores genéticos como a produção de machos diploides (FRANCINI; NUNES-SILVA; CARVALHO-ZILSE, 2012; SANTOS *et al.*, 2013; VOLLET-NETO *et al.*, 2015), o manejo inadequado da colônia durante uma simples revisão com possível afogamento da larva no alimento larval ou simplesmente porque os ovos goram (NOGUEIRA-NETO, 1997).

13.1 Produção de rainhas *in vitro* de *Scaptotrigona* sp. nov.

O controle de umidade é fator crucial para o bom desenvolvimento de larvas na produção de rainhas *in vitro* (PRATO, 2010; MENEZES; VOLLET-NETO; IMPERATRIZ-FONSECA 2013), bem como para o desenvolvimento do fungo, além de também para evitar o ressecamento do alimento antes que as larvas possam finalizar seu consumo, prejudicando assim o seu desenvolvimento.

Diferente do que ocorre no gênero *Melipona*, onde a produção de rainhas é determinada por fatores genéticos e ambientais, em abelhas do gênero *Scaptotrigona*, a quantidade de alimento consumido é fator limitante para a determinação de castas (KERR, 1948; WILLE, 1983; NOGUEIRA-NETO, 1997). Neste estudo a quantidade de 150µL de alimento larval depositada em cada poço para a formação das rainhas se mostrou suficiente para suprir as necessidades das larvas de modo que essas pudessem tornar-se rainhas. Não foi observada a ocorrência de indivíduos intermediários (intercastas), nem de machos gigantes como em estudos realizados com produção de rainhas deste gênero (CABRAL, 2009; MENEZES; VOLLET-NETO; IMPERATRIZ-FONSECA, 2013), mesmo sendo observada o acúmulo de alimento no fundo do alvéolo artificial.

A utilização de alimento larval de uma espécie para alimentar larvas outra já foi testada em outros estudos, até mesmo o alimento larval *Scaptotrigona* aff. *depilis* na produção de rainhas de *Tetragonisca angustula* (PRATO, 2013), embora em alguns casos não tenham obtido sucesso (CASTRO, 2012), fazendo com que a prática fosse considerada inviável. A utilização do alimento de *Scaptotrigona* aff. *depilis* para produzir rainhas de *S.* sp. nov. mostrou ser uma possibilidade viável, visto que das nove larvas transferidas que consumiram alimento

larval de *S. aff. depilis*, três tornaram-se rainhas, mostrando ser possível utilizar alimento larval de *S. aff. depilis* para produzir rainhas de *Scaptotrigona* sp. nov. Contudo, é necessário avaliar a composição proteica dos dois alimentos larvais para as duas espécies de abelhas. Esse resultado é importante, pois do ponto de vista de manejo e desenvolvimento das colônias podemos tornar a produção de rainhas menos prejudicial para a espécie alvo da multiplicação. Assim, ao invés de retirarmos todo o material para produção das novas rainhas de uma única espécie, poderíamos diluir esse esforço entre duas espécies diferentes, aonde as larvas viriam da espécie alvo e o alimento larval de outra espécie que fosse mais abundante quantidade de discos novos.

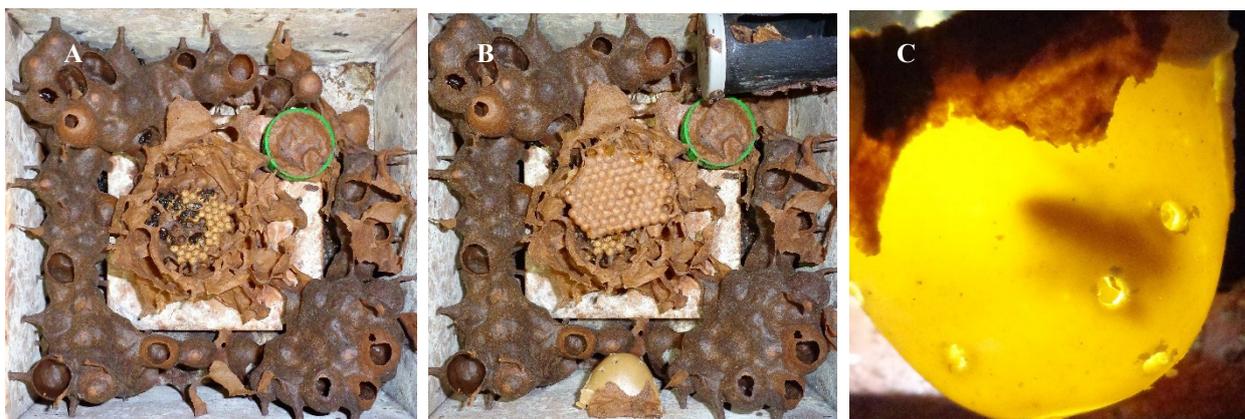
13.2 Formação de novas colônias e aceitação das rainhas *in vitro*

Os estudos que tratam dos comportamentos e interações entre rainhas e operárias afirmam que rainhas recém emergidas são menos atrativas e, por esse motivo, suscetíveis a ataques de operárias (IMPERATRIZ–FONSECA; ZUCCHI, 1995; NOGUEIRA–FERREIRA; SILVA–MATOS; ZUCCHI., 2009; KARCHER *et al.*, 2013). Para evitar que rainhas recém introduzidas fossem mortas, utilizamos na introdução das rainhas em minicolônias e principalmente em colônias órfãs potes de cera previamente perfurados de modo a simular a introdução de realeira como forma de minimizar uma possível rejeição às rainhas, principalmente por parte de operárias mais velhas. Achamos a opção de confecção de potes de cera ao invés de gaiolas de confinamento uma alternativa mais viável, pois evitaria a possível vedação das gaiolas com cera pelas operárias, o que poderia causar a morte das rainhas virgens (PRATO, 2010). Após a introdução da rainha em pote perfurado, observamos que em alguns casos as operárias se aglomeravam em seu entorno e tentavam tocar a rainha através das perfurações do pote de confinamento. Esse comportamento deixava a rainha mais agitada dentro do pote de confinamento, e era comum nas colônias que tinham operárias mais velhas do que em colônias com operárias jovens (pouco pigmentadas). Após algumas horas toda a colônia estava em um mesmo ritmo de agitação que a rainha confinada. Essas interações possivelmente indicariam o possível início de produção de feromônios pelas rainhas (IMPERATRIZ–FONSECA; ZUCCHI, 1995), e provavelmente sua aceitação na colônia.

Para minimizar possíveis rejeições de rainhas virgens, as colônias órfãs tinham sua população de operárias campeiras reduzidas (figura 9A) com a sua troca de local com uma

colônia fraca da mesma espécie, mas com rainha reprodutiva presente. Em seguida a colônia órfã recebiam discos emergentes para aumentar a quantidade de operárias jovens na colônia, um disco novo e a rainha virgem marcada e confinada em pote de cera perfurado (figura 9B e 9C). Esse manejo permitiu que as rainhas introduzidas nas colônias órfãs permanecessem mais tempo vivas, possibilitando seu sucesso na aceitação pelas operárias. A liberação da rainha podia durar de poucos minutos para colônias órfãs, e até 2 dias em minicolônias, por exemplo. Este fato pode ter sido influenciado pela idade das operárias, pois em colônias órfãs, embora em número menor, havia operárias de diferentes idades e nas minicolônias a maioria das operárias tinham idades equivalentes na maior parte bem jovens.

Figura 17 - Colônia órfã de *Scapototrigona* sp. nov. preparada para receber rainha virgem in vitro com a redução da população e introdução de disco emergente (A), disco novo e a rainha virgem confinada em pote de cera (B). Detalhe da rainha no interior do pote de cera (C).



Fonte: Esquema de fotos elaborado pelo autor.

Imediatamente após sua liberação, a rainha corria em direção aos discos podendo ficar refugiada sobre eles ou abaixo deles, sendo considerado um comportamento comum às rainhas recém emergidas (KARCHER *et al.*, 2013). Também poderiam continuar dentro do pote interagindo com as operárias, solicitando e recebendo alimento (trofaláxis) por pequenas aberturas feitas pelas operárias (IMPERATRIZ-FONSECA; ZUCCHI, 1995). Comumente, colônias que tivessem uma maior população de operárias jovens (minicolônias) demoravam mais para liberar a rainha do pote de cera que as colônias que tinham em sua maioria operárias mais velhas (colônias órfãs), provavelmente por serem menos suscetíveis a feromônios que as operárias mais velhas, talvez por esse motivo as rainhas preferiam se refugiar junto as operárias

mais jovens por ter menos chances de serem rejeitadas e mortas depois de sua introduzidas na colônia (IMPERATRIZ-FONSECA; ZUCCHI, 1995; KARCHER *et al.*, 2013). Em colônias órfãs que recebiam as rainhas virgens foi observada a construção de novas células e seu provisãoamento 48 horas a após a introdução da rainha virgem.

Somente em dois casos do experimento as operárias foram responsáveis pela morte das rainhas. Talvez pelo fato de as duas rainhas executadas terem pouco mais de 1 dia de idade ao serem introduzidas, mas provavelmente ainda pouco atrativas apesar de bem ativas no momento da introdução (confinada em pote perfurado) (IMPERATRIZ-FONSECA; ZUCCHI, 1995; NOGUEIRA-FERREIRA; SILVA-MATOS; ZUCCHI, 2009; VEIGA; MENEZES; CONTRERA, 2017) para que as operárias as aceitassem. Provavelmente isso está relacionado à capacidade de reconhecimento entre os indivíduos do ninho, nesse caso entre as operárias e a nova rainha virgem, visto que a atratividade é adquirida ao logo da fase adulta por meio de compostos químicos de reconhecimento de casta e status reprodutivo por exemplo, e por comportamento (IMPERATRIZ-FONSECA; ZUCCHI, 1995; KARCHER, *et al.*, 2013; VEIGA; MENEZES; CONTRERA, 2017).

Observamos que as rainhas virgens, neste estudo, quando estavam bem atrativas e interagindo com as operárias, costumavam ficar sobre o disco novo, inflar o abdômen ficando bem maiores, tinham movimentos rápidos em várias direções, elevavam e abaixavam o abdome enquanto batiam as asas e esfregavam o último par de pernas no abdome. A resposta a esse comportamento por parte das operárias era a formação de corte ao redor da rainha, oferecer alimento e tocar a rainha com as antenas. Esse comportamento era visto tanto em colônias órfãs que recebiam rainhas virgens quanto nas minicolônias, sendo descrito em vários estudos como interações legítimas que indicam a aceitação o da rainha pelas operárias e propícias ao voo nupcial (JARAU, *et al.*, 2009; VEIGA; MENEZES; CONTRERA, 2017). Ao observar esses comportamentos, a colônia tinha a entrada liberada para que a rainha pudesse sair para voo nupcial.

Neste estudo não pudemos constatar a eficiência das rainhas *in vitro* de *Scaptotrigona* sp. nov., no estabelecimento de novas colônias, pois nenhuma das rainhas aceitas retornaram do voo nupcial, talvez nesse momento tenham sido predadas ou não conseguiram localizar a colônia de origem. Provavelmente o reduzido número de machos existentes na área, na época em que as colônias foram formadas e liberadas, também tenha contribuído com esse fato.

14 CONCLUSÕES

É possível utilizar alimento larval de *Scaptotrigona* aff. *depilis* na alimentação de larvas de *Scaptotrigona* sp. nov. para produção de rainhas, tornando a prática menos prejudicial para a espécie alvo.

O desenvolvimento do fungo foi satisfatório para a alimentação das larvas, mesmo para aquelas que receberam alimento larval de *Scaptotrigona* aff. *depilis*.

Neste estudo, o volume de 150 μ L de alimento larval colocado em cada alvéolo artificial se mostrou suficiente para que as larvas se tornassem rainhas, sem que ocorresse a formação de intercastas, nem de machos gigantes.

REFERÊNCIAS

- AMBIENTE BRASIL. **Clima - Classificação dos Climas do Brasil**. Disponível em: http://ambientes.ambientebrasil.com.br/natural/clima/clima_-_classificacao_dos_climas_do_brasil.html. Acesso em: 07 de jan. 2018.
- ASCHER, J. S.; PICKERING, J. **Discover life: bee species guide and world checklist** (Hymenoptera: Apoidea: Anthophila). Disponível em: http://www.discoverlife.org/mp/20q?guide=Apoidea_species&flags=HAS. Acesso em: 01 de mar. 2018.
- AZMI, W. A., *et al.*, Effects of stingless bee (*Heterotrigona itama*) pollination on greenhouse cucumber (*Cucumis sativus*). **Malaysian Applied Biology**. [s. l.] v. 46, n. 1, p. 51–55. 2017.
- BAPTISTA, C. F. **Polinização de *Cucurbita pepo* (Cucurbitaceae) por *Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera: Apidae: Meliponini) em cultivo protegido**. [s. l.] 2016. Dissertação (Mestrado). Departamento de Entomologia, Universidade Federal de Viçosa, 32 f. 2016.
- BAPTISTELLA, A. R. *et al.* Techniques for the *in vitro* production of queens in stingless bees (Apidae, Meliponini). **Sociobiology**, [s. l.] v. 59, n. 1, p. 297-310, 2012.
- BARTELLI, B. F.; SANTOS, A. O. R.; NOGUEIRA-FERREIRA, F. H. Colony performance of *Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera, Meliponina) in a Greenhouse of *Lycopersicon esculentum* (Solanaceae). **Sociobiology**, [s. l.] v. 61, n. 1, p. 60-67, 2014.
- BEZERRA, A. D. M. **Uso da abelha canudo (*Scaptotrigona* sp. nov.) na polinização do meloeiro (*Cucumis melo* L.) em ambiente protegido**. 2014. 94 f. Dissertação (mestrado em zootecnia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-CE, 2014.
- BLOCHTEIN, B.; B. HARTE-MARQUES. 2002. Hymenoptera, p. 25-45. In: A.A.B. MARQUES; C.S. FONTANA; E. VÉLEZ; G.A. BENCKE; M. SCHNEIDER & R.E. DOS REIS (Eds). **Lista das espécies da fauna ameaçadas de extinção no Rio Grande do Sul**. Decreto nº 41.672, de 11 de junho de 2002. Porto Alegre, FZB/MCT-PUCRS/PANGEA, 52p.
- BOMFIM, I. G. A. *et al.* Adaptive and foraging behavior of two stingless bee species in greenhouse mini watermelon pollination. **Sociobiology**, [s. l.] v. 61, n. 4, p. 502-509, 2014.
- BOSCH, J.; KEMP, W. Developing and establishing bee species as crop pollinators: the example of *Osmia* spp. (Hymenoptera: Megachilidae) and fruit trees. **Bulletin of entomological research**, [s. l.] v. 92, n. 1, p. 3-16, 2002.
- CABRAL, G. C. P. **Efeitos da quantidade de alimento larval sobre a determinação de castas da abelha sem ferrão *Scaptotrigona* aff. *depilis* (Moure, 1942) (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) – uma análise morfométrica, de expressão gênica e de títulos de hormônio juvenil**. 2009. Dissertação (Mestrado em Entomologia). Universidade de São Paulo, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto. 83 f. 2009.

CAMARGO, J. M. F.; PEDRO, S. R. M. Meliponini neotropicais: o gênero *Partamona* Schwarz, 1939 (Hymenoptera, Apidae, Apinae) - bionomia e biogeografia. **Revista Brasileira de Entomologia**, [s. l.] vol.47, n.3, pp.311-372, 2003.

CAMARGO, J. M. F.; PEDRO, S. R. M., 2013. Meliponini Lepeletier, 1836. In Moure, J. S., Urban, D. & Melo, G. A. R. (Orgs). **Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region - online version**. [s. l.] Disponível em: <http://www.moure.cria.org.br/catalogue>. Acesso: 10 de set. 2017.

CANO, R. J. *et al.* Bacillus DNA in fossil bees: an ancient symbiosis?. **Applied and Environmental Microbiology**, [s. l.] v. 60, n. 6, p. 2164-2167, 1994.

CORTOPASSI-LAURINO, M. *et al.* Global meliponiculture: challenges and opportunities. **Apidologie**, [s. l.] v. 37, n. 2, p. 275-292, 2006.

CRUZ, D. de O.; CAMPOS, A. de O. Polinização por abelhas em cultivos protegidos. **Current Agricultural Science and Technology**, [s. l.] v. 15, n. 1-4, 2009.

CRUZ, D. O. *et al.* Adaptação e comportamento de pastejo da abelha jandaíra (*Melipona subnitida* Ducke) em ambiente protegido. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, [s. l.] v. 26, n. 3, p. 293-298, 2004.

CRUZ, D.O., *et al.*, Pollination efficiency of the stingless bee *Melipona subnitida* on greenhouse sweet pepper. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, [s. l.] v. 40, p. 1197-1201. 2005.

CRUZ, D.O.; FREITAS, B.M.; SILVA, L.A.; SILVA, E.M.S.; BOMFIM, I.G.A. Adaptação e comportamento de pastejo da abelha jandaíra (*Melipona subnitida* Ducke) em ambiente protegido. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, [s. l.] v. 26, n. 3, p. 293-298, 2004.

DANTAS, M. R. T. Thermogenesis in stingless bees: an approach with emphasis on brood's thermal contribution. **JABB-Online Submission System**, [s. l.] v. 4, n. 4, p. 101-108, 2016.

DEL SARTO, M. C. L. **Avaliação de *Melipona quadrifasciata* Lepeletier (Hymenoptera: Apidae) como polinizador da cultura do tomateiro em cultivo protegido**. 2005. 61 f. Tese (Entomologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2005.

DEL SARTO, M.C.L.; PERUQUETTI, R.C.; CAMPOS, L.A.O. Evaluation of the Neotropical stingless bee *Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera: Apidae) as pollinator of greenhouse tomatoes. **Journal of Economic Entomology**, [s. l.] v.98, p. 260-266, 2005.

DUTRA, J. C. S. **Atividade de meliponíneos (Hymenoptera: Apidae) em ambiente protegido**. 2009. 87 f. Tese (Entomologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009.

FABICHAK, I. **Abelhas indígenas sem ferrão Jataí**. [s. l.] Nobel, São Paulo, 1989.

FRANCINI, I. B.; NUNES-SILVA, C. G.; CARVALHO-ZILSE, G. A. Diploid male production of two Amazonian *Melipona* bees (Hymenoptera: Apidae). **Psyche: A Journal of Entomology**, [s. l.] v. 2012, 2012.

FREE, J. B. *et al* **Insect pollination of crops**. 2ª ed. London: Academic Press, 684 pp., 1993.

FREITAS, B. M. *et al.* Diversity, threats and conservation of native bees in the Neotropics. **Apidologie**, v. 40, n. 3, p. 332-346, 2009.

FREITAS, B. M.; BOMFIM, I. G. A. A necessidade de uma convivência harmônica da agricultura com os polinizadores. *In: _____*. **Importância dos polinizadores na produção de alimentos e na segurança alimentar global**. Brasília: Centro de Gestão e Estudos Estratégicos, 2017. Cap. 2. p. 39 – 50.

FUNCEME – **Calendário das Chuvas no Estado do Ceará**. [s. l.]. Disponível em: <http://www.funceme.br/app/calendario/produto/municipios/maxima/anual>, acesso em: 09/09/2017.

GARÓFALO, C. A. **As abelhas e a sustentabilidade dos serviços de polinização**. [s. l.] 2013. 15 f. Projeto de Pesquisa, Departamento de Biologia, Ribeirão Preto, SP. 2013.

GARÓFALO, C. A.; MATINS, C.F.; AGUIAR, C.M.L.; DEL LAMA, M.A. ALVES-DOS-SANTOS, I. As abelhas solitárias e perspectivas para seu uso na polinização no Brasil. *In: Polinizadores no Brasil: contribuição e perspectivas para a biodiversidade, uso sustentável, conservação e serviços ambientais*. IMPERATRIZ-FONSECA, V.L.; CANHOS, D.A.L.; ALVES, D.A.; SARAIVA, A.M. (eds.), São Paulo: Edusp, cap. 9, p. 183-202. 2012.

HEARD, R.A. The role of stingless bees in crop pollination. **Annual Review of Entomology**. [s. l.] v.44. p.183-206, 1999.

HILÁRIO, S. D.; RIBEIRO, M. F.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. Impacto da precipitação pluviométrica sobre a atividade de voo de *Plebeia remota* (Holmberg, 1903). (Apidae, Meliponini). **Biota Neotropica**, [s. l.] v. 7, n. 3, 2007.

HILÁRIO, S. D.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; KLEINERT, A. M. P. Flight activity and colony strength in the stingless bee *Melipona bicolor* (Apidae, Meliponinae). **Revista brasileira de biologia**, [s. l.] v. 60, n. 2, p. 299-306, 2000.

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. *et al.* 3.3 Brazilian Pollinators Initiative: Biodiversity and Sustainable Use of Pollinators. **Caring for Pollinators**, [s. l.] p. 64, 2008.

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. KOEDAM, D. HRNCIR M. **Abelha jandaíra: no passado, presente e no futuro**. Mossoró: EdUFERSA, 254p.: il. 2017.

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; NUNES-SILVA, P. As abelhas, os serviços ecossistêmicos e o Código Florestal Brasileiro/Bees, ecosystem services and the Brazilian Forest Code. **Biota Neotropica**, [s. l.] v. 10, n. 4, p. 59, 2010.

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; ZUCCHI, R. Virgin queens in stingless bee (Apidae, Meliponinae) colonies: a review. **Apidologie**, [s. l.] v. 26, n. 3, p. 231-244, 1995.

INSITUTO DE PESQUISAS E ESTRATÉGIAS ECONÔMICAS DO CEARÁ (IPCE). **Perfil Básico Municipal**. Fortaleza, 2016. Disponível em:

http://www.ipece.ce.gov.br/perfil_basico_municipal/2016/Fortaleza.pdf. Acesso em: 07 de jan. 2018.

IPBES (2016). **The assessment report of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services on pollinators, pollination, and food production**. S.G. Potts, V. L. Imperatriz-Fonseca, and H. T. Ngo, (eds). Secretariat of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services, Bonn, Germany. 552 pages.

ITIS, 2010. Interagency Taxonomic Information System. **World Bee Checklist Project**. [s. l.]. Disponível em: <http://www.catalogueoflife.org/annual-checklist/2010/details/database/id/67>. Acesso em: 11 de mar. 2017.

JAFFÉ, R. *et al.* Bees for development: Brazilian survey reveals how to optimize stingless beekeeping. **PloS one**, [s. l.] v. 10, n. 3, p. e0121157, 2015.

JARAU, Stefan *et al.* Virgin queen execution in the stingless bee *Melipona beecheii*: the sign stimulus for worker attacks. **Apidologie**, [s. l.] v. 40, n. 4, p. 496-507, 2009.

KÄRCHER, M. H. *et al.* Factors influencing survival duration and choice of virgin queens in the stingless bee *Melipona quadrifasciata*. **Naturwissenschaften**, [s. l.] v. 100, n. 6, p. 571-580, 2013.

KERR, W. E. Estudos sobre o gênero *Melipona*. **Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, [s. l.] v. 5, p. 181-276, 1948.

KERR, W. E. *et al.* Aspectos pouco mencionados da biodiversidade amazônica. **Parcerias Estratégicas**, [s. l.] v. 6, n. 12, p. 20-41, 2001.

KERR, W. E. **Formação das castas no gênero *Melipona* (Illiger, 1806)**. Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, v. 3, p. 288-312, 1946.

KERR, W. E. Genetic determination of castes in the genus *Melipona*. **Genetics**, [s. l.] v. 35, p. 143-152. (AA 105/51). 1950.

KISHAN TEJ, M. *et al.* Stingless bee *Tetragonula iridipennis* Smith for pollination of greenhouse cucumber. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, [s. l.] v. 5, n. 4, p. 1729-1733. 2017.

KLEINERT, A. M. P. *et al.* Abelhas sociais (Bombini, Apini, Meliponini). **Bioecologia e nutrição de insetos-Base para o manejo integrado de pragas**, [s. l.] p. 373-426, 2009.

KOFFLER, S. **Influência da quantidade de recursos alimentares e da sazonalidade sobre a produção de sexuais em *Scaptotrigona aff. depilis* (Apidae, Meliponini)**. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, Departamento de Ecologia, 2013.

LEÃO, K. de S. **Manejo de *Scaptotrigona* sp. (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) para polinização da rambuteira (*Nephelium lappaceum* L.)**. 2014. 72 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal do Pará, Embrapa Amazônia Oriental, Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, PA.

- LEMOS, C. Q. **Abelha *Plebeia cf. flavocincta* como potencial polinizador do cacaueteiro (*Theobroma cacao* L.) no semiárido brasileiro**. 2014. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE.
- LOLI, D. **Termorregulação colonial e energética individual em abelhas sem ferrão *Melipona quadrifasciata* Lepeletier (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)**. 2008. 229 f. Tese (Doutorado em Fisiologia Geral) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.
- MAGALHÃES, T. L.; VENTURIERI, G. C. **Aspectos econômicos da criação de abelhas indígenas sem ferrão (Apidae: Meliponini) no Nordeste Paraense**. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental. 1 ed., p. 36, 2010.
- MALAGODI-BRAGA, K. S.; KLEINERT, A. M. P.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. Abelhas sem ferrão e polinização. **Revista Tecnologia e Ambiente**, Criciúma, v.10, p. 59-70, 2004.
- MARTINI, R. P.; PFÜLLER, E. E.; MARTINS, E. C. Importância ambiental das abelhas sem ferrão. **RAMVI, Getúlio Vargas**, [s. l.] v. 02, n. 04. 2015.
- MECCA, G. F.; BEGO, L. R. **O comportamento forrageiro das operárias de *Scaptotrigona aff. depilis* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini), relacionado a fatores climáticos**. 2003.[s.n.], Ribeirão Preto, 2003.
- MENESES, H. M. **Desenvolvimento de colônias de jandaíra (*Melipona subnitida*) sob confinamento e avaliação de métodos de multiplicação**. 2016. Dissertação (Mestrado), Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 2016
- MENEZES, C. *et al.* The role of useful microorganisms to stingless bees and stingless beekeeping. In: **Pot-Honey**. [s. l.] Springer New York. cap.10. p. 153-171. 2013.
- MENEZES, C. **A produção de rainhas e a multiplicação de colônias em *Scaptotrigona aff. depilis* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)**. 2010. Tese de Doutorado. PhD Thesis University of São Paulo, Ribeirão Preto, Brazil: 97 p. 2010,
- MENEZES, C.; VOLLET-NETO, A.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. A method for harvesting unfermented pollen from stingless bees (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). **Journal of Apicultural Research**, v. 51, n. 3, p. 240-244, 2012.
- MENEZES, C.; VOLLET-NETO, A.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. An advance in the *in vitro* rearing of stingless bee queens. **Apidologie**, [s. l.] v. 44, n. 5, p. 491-500, 2013.
- MICHENER, C. D. **The bees of the world**. [s. l.] JHU press, 2007.
- MICHENER, Charles Duncan. **The bees of the world**. [s. l.] JHU press, 2007.
- MICHENER. C. D. The Meliponini. In: **Pot-Honey**. Springer New York, 2013. p. 3-17.

NOGUEIRA-FERREIRA, F.H; SILVA-MATOS, E.V.; ZUCCHI, R. Interaction and behavior of virgin and physogastric queens in three Meliponini species (Hymenoptera, Apidae). **Genetics and Molecular Research**, [s. l.] v. 8, n. 2, p. 703-708, 2009.

NOGUEIRA-NETO, P. **Vida e criação de abelhas indígena sem ferrão**. [s. l.] São Paulo: Editora Nogueirapis, 1997. 445p.

NOGUEIRA-NETO, P. **Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão**. [s. l.] Nogueirapis, 1997.

NUNES-SILVA, P. *et al.* Stingless bees, *Melipona fasciculata*, as efficient pollinators of eggplant (*Solanum melongena*) in greenhouses. **Apidologie**, [s. l.] v. 44, n. 5, p. 537-546, 2013.

NUNES-SILVA, P. *et al.* The behaviour of *Bombus impatiens* (Apidae, Bombini) on tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill., Solanaceae) flowers: pollination and reward perception. **Journal of Pollination Ecology**, [s. l.] v. 11, n. 5, p. 33-40, 2013.

OLIVEIRA, F.; KERR, W.E. Divisão de uma colônia de jupará (*Melipona compressipes manaosensis*) usando-se uma colmeia e o método de Fernando Oliveira. **INPA**, [s. l.] v.10, 2000. 7p.

OLIVEIRA, M. O. Declínio populacional das abelhas polinizadoras de culturas agrícolas. **Acta Apicola Brasilica**, [s. l.] v. 3, n. 2, p. 01-06, 2015.

OLIVEIRA, R. C. *et al.* Trap-nests for stingless bees (Hymenoptera, Meliponni). **Apidologie**, [s. l.] v. 44, n. 1, p. 29-37, 2013.

OLIVERIA, F. F. *et al.* **Guia ilustrado das abelhas" sem ferrão" das Reservas Amanã e Mamirauá, Amazonas, Brasil (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)**. [s. l.] 2013.

PICK, R. A.; BLOCHTEIN, B. Atividades de voo de *Plebeia saiqui* (Holmberg) (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) durante o período de postura da rainha e em diapausa. **Revista Brasileira de Zoologia**, [s. l.] v. 19, n. 3, p. 827-839, 2002.

PINHEIRO, M., *et al.* Polinização por abelhas. In: **Biologia da polinização**. Rio de Janeiro: Projecto Cultural, 2014. cap. 9, p. 205 – 233.

PRATO, M. **Ocorrência natural de sexuais, produção *in vitro* de rainhas e multiplicação de colônias em *Tetragonisca angustula* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)**. 2011. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2011.

PRATO, M. **Ocorrência natural de sexuais, produção *in vitro* de rainhas e multiplicação de colônias em *Tetragonisca angustula* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)**. 2010. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2010.

PRATO, M.; SOARES, A. E. E. Production of sexuals and mating frequency in the stingless bee *Tetragonisca angustula* (Latreille) (Hymenoptera, Apidae). **Neotropical entomology**, [s. l.] v. 42, n. 5, p. 474-482, 2013.

R Core Team (2017). **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

RODRIGUES, M.; SANTANA, W. C.; SOARES, A. E. E. Flight activity of *Tetragona clavipes* (Fabricius, 1804) (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) at the São Paulo University campus in Ribeirão Preto. **Bioscience Journal**, [s. l.] v. 23, 2007.

ROSELINO, A.C.; BISPO DOS SANTOS, S.A.; BEGO, L. R. Qualidade dos frutos de pimentão (*Capsicum annum* L.) a partir de flores polinizadas por abelhas sem ferrão (*Melipona quadrifasciata anthidioides* Lepeletier 1836 e *Melipona scutellaris* Latreille 1811) sob cultivo protegido. **Revista Brasileira de Biociências**, [s. l.] v. 8, n. 2, p. 154-158, 2010.

SADEH, A.; SHMIDA, A.; KEASAR, T. The carpenter bee *Xylocopa pubescens* as an agricultural pollinator in greenhouses. **Apidologie**, [s. l.] v. 38, n. 6, p. 508-517, 2007.

SANTOS, C. F. *et al.* A scientific note on diploid males in a reproductive event of a eusocial bee. **Apidologie**, [s. l.] v. 44, n. 5, p. 519-521, 2013.

SANTOS, C. F.; SANTOS, P. D. S.; BLOCHTEIN, B. *In vitro* rearing of stingless bee queens and their acceptance rate into colonies. **Apidologie**, [s. l.] v. 47, n. 4, p. 539-547, 2016. HILÁRIO

SANTOS, T. C. A.; CRUZ-LANDIM, C. Determinação das castas em *Scaptotrigona postica* (Latreille) (Hymenoptera, Apidae, Meliponini): diferenciação do ovário. **Revista Brasileira de Zoologia**, [s. l.] p. 703-714, 2002.

SHANKS, J. L. *et al.* First confirmed report of a bacterial brood disease in stingless bees. **Journal of invertebrate pathology**, [s. l.] v. 144, p. 7-10, 2017.

SILVA, C. I. *et al.* Guia ilustrado de abelhas polinizadoras no Brasil. **São Paulo: Instituto Avançado da Universidade de São Paulo, Co-editor: Ministério do Meio Ambiente-Brasil**, [s. l.] 2014.

SILVA, M. A.; OLIVEIRA, F. A.; HRNCIR, M. Efeito de diferentes tratamentos de polinização em berinjela em casa de vegetação. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, [s. l.] v. 11, n. 1, p. 30-36, 2016.

SILVEIRA, F. A.; MELO, G. A. R.; ALMEIDA, E. A. B. **Abelhas brasileiras: sistemática e identificação**. Belo Horizonte (MG, Brazil): Fernando A. Silveira, 2002.

TEIXEIRA, L. V. **Produção de rainhas em espécies de abelhas sem ferrão com células de cria dispostas em cacho (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)**. 2012. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa 39f. 2012.

TEIXEIRA, L. V.; CAMPOS, F. N. M. Início da atividade de voo em abelhas sem ferrão (Hymenoptera, Apidae): influência do tamanho da abelha e da temperatura ambiente. **Revista Brasileira de Zootecias**, [s. l.] v. 7, n. 2, 2009.

VEIGA, J. C.; MENEZES, C.; CONTRERA, F. A. L. Insights into the role of age and social interactions on the sexual attractiveness of queens in an eusocial bee, *Melipona flavolineata* (Apidae, Meliponini). **The Science of Nature**, [s. l.] v. 104, n. 3-4, p. 31, 2017.

VENTURIERI, G. C. **Criação de abelhas indígenas sem ferrão**. [s. l.] Embrapa Amazônia Oriental, 2004.

VENTURIERI, G. C.; CONTRERA, F. A. L. Biodiversidade de Abelhas na Amazônia: os Meliponíneos e seu Uso na Polinização de Culturas Agrícolas. **III Semana dos Polinizadores: palestras e resumos**, [s. l.] p. 26, 2012.

VENTURIERI, G. R. **Ecologia da polinização do açaizeiro (*Euterpe oleracea*) com e sem a introdução de colônias da abelha urucu-amarela (*Melipona flavolineata*)**. 2015. 122 p. Dissertação (Mestrado) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2015.

VILLAS-BÔAS, J. **Manual tecnológico: mel de abelhas sem ferrão**. Brasília: ISPN, 2012.

VOLLET-NETO, A., *et al.* Diploid males of *Scaptotrigona depilis* are able to join reproductive aggregations (Apidae, Meliponini). **Journal of Hymenoptera Research**, [s. l.] v. 45, p. 125, 2015.

WILLE, A. Biology of the stingless bees. **Annual review of entomology**, [s. l.] v. 28, n. 1, p. 41-64, 1983.

WINSTON, M. L. **A biologia da abelha**. Porto Alegre: Magister, 2003.

WITTER, S. *et al.* **As abelhas e a agricultura**. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2014.

ZANELLA, F. C. V.; MARTINS, C. F. Abelhas da Caatinga: biogeografia, ecologia e conservação. **Ecologia e conservação da Caatinga**, [s. l.] p. 75-134, 2003.

15 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O intuito inicial desse trabalho foi estudar o desenvolvimento de novas técnicas para multiplicação de colônias de abelhas sem ferrão, independente do gênero, Meliponíneos ou Trigoníneos. Contudo uma nova espécie de *Scaptotrigona*, chamou nossa atenção por seu potencial na polinização de cucurbitáceas em áreas de cultivo protegido, que estavam em andamento no período de início dos trabalhos de manejo para essa Tese. Esses estudos comprovaram a eficiência do uso dessa nova espécie, que se destacou até mesmo em relação à jandaíra (*Melipona subnitida*).

Esse grupo de abelhas apresentava colônias populosas e de rápido desenvolvimento, quando manejada adequadamente. Iniciamos realizando um levantamento de estudos anteriores do comportamento dessa espécie alvo na coleta de recursos (pólen e néctar), bem como de seus horários de atividade de voo, pois queríamos saber quando as campeiras saíam para forragear em maior número. Paralelo a isso foi realizado a coleta de pólen in natura de potes recém-construídos para se ter uma ideia do espectro de espécies vegetais visitadas pela espécie alvo. Todos esses levantamentos foram realizados em paralelo ou já publicados por outros estudantes e pesquisadores do laboratório e meliponário experimental da UFC.

Começando a fazer as primeiras observações para identificar possíveis colônias matrizes utilizadas para divisões posteriores. Ao todo tínhamos 11 colônias (numeradas de 1-11), mas nem todas estavam em boas condições. Algumas tinham sido utilizadas em experimentos em casa de vegetação e estavam se recuperando do período de experimento confinado. Desse modo, começamos por observar o desenvolvimento das colônias e o tempo que cada uma delas iniciava a construção de novas realeiras, muitas vezes mais de uma na mesma colônia. O que motivava essa produção de novas rainhas em períodos que muitas vezes não havia muitos recursos na área.

Na maior parte das vezes estas rainhas virgens (RV) ao emergirem eram encontradas mortas dentro da colônia ou expulsas. Observamos então que essa pequena demanda de rainhas virgens não estava sendo aproveitada. Desse modo, começamos a monitorar as colônias a fim de identificar as realeiras desde o início da construção até sua emergência.

Por pertencerem a um grupo de abelhas que necessitam de um aporte nutricional para produção de novas rainhas (células reais), abelhas desse gênero, precisam ter sempre uma realeira para que possa ser realizada uma divisão ou multiplicação. Esse fato pode gerar um

aumento no tempo para iniciar o período de formação de novas colônias para a maioria dos meliponicultores, e mesmo assim ter uma rainha não é sinal de sucesso na produção desse novo enxame.

Assim, desenvolver técnicas racionais de manejo e multiplicação de colônias de *Scaptotrigona* sp. nov., poderiam ser uma forma de melhorar o manejo e tradicional já existente e que não mudou no passar dos anos. As novas técnicas de produção de rainhas *in vitro* de diversas espécies de Trigoníneos vieram para auxiliar nessa fase da meliponicultura que estava surgindo. Espécies do gênero *Melipona* possuem rainhas emergindo diariamente e que muitas vezes não são aproveitadas. É necessário ressaltar que no mesmo período de desenvolvimento desse trabalho, estudos com a espécie *M. subnitida* estão sendo realizados, a fim de aproveitar esse excedente de rainhas virgens de maneira zootecnicamente racional, e que serão publicados brevemente.

O uso de formação de minicolônias, com uso das RV em contexto social de colônias, utilizando operárias de diferentes idades (com preferência para as mais jovens) foi crucial para a aceitação dessas RV. Assim, a utilização desse método se mostrou próspero para na formação de novas colônias em um menor período. O fato das colônias criadas pelo método minicolônias foram as que tiveram rainhas mais rápidas a iniciar a atividade de postura e se tornar independente.

Contudo, contar com somente com as rainhas produzidas naturalmente ainda não era o bastante, pois o manejo nutricional poderia ser também utilizado para produção de alimento larval suficiente para produção de rainhas em uma escala maior e mais eficiente, como já comprovado em outros estudos de produção de rainhas *in vitro*.

O uso da técnica de produção de rainhas aliado ao manejo racional, aprimorado, para formação de novas colônias se mostrou viável e mostrou ser um aliado na redução do déficit de produção de novas colônias. Evitando o manejo predatório e a migração indiscriminada de espécies de abelhas nativas sem ferrão entre diferentes biomas.

REFERÊNCIAS

- AMBIENTE BRASIL. **Clima - Classificação dos Climas do Brasil**. Disponível em: http://ambientes.ambientebrasil.com.br/natural/clima/clima_-_classificacao_dos_climas_do_brasil.html. Acesso em: 07 de jan. 2018.
- ASCHER, J. S.; PICKERING, J. **Discover life: bee species guide and world checklist** (Hymenoptera: Apoidea: Anthophila). Disponível em: http://www.discoverlife.org/mp/20q?guide=Apoidea_species&flags=HAS. Acesso em: 01 de mar. 2018.
- AZMI, W. A., *et al.*, Effects of stingless bee (*Heterotrigona itama*) pollination on greenhouse cucumber (*Cucumis sativus*). **Malaysian Applied Biology**. [s. l.] v. 46, n. 1, p. 51–55. 2017.
- BAPTISTA, C. F. **Polinização de *Cucurbita pepo* (Cucurbitaceae) por *Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera: Apidae: Meliponini) em cultivo protegido**. 2016. Dissertação (Mestrado). Departamento de Entomologia, Universidade Federal de Viçosa, 32 f. 2016.
- BAPTISTELLA, A. R. *et al.* Techniques for the *in vitro* production of queens in stingless bees (Apidae, Meliponini). **Sociobiology**, [s. l.] v. 59, n. 1, p. 297-310, 2012.
- BARTELLI, B. F.; SANTOS, A. O. R.; NOGUEIRA-FERREIRA, F. H. Colony performance of *Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera, Meliponina) in a Greenhouse of *Lycopersicon esculentum* (Solanaceae). **Sociobiology**, [s. l.] v. 61, n. 1, p. 60-67, 2014.
- BEZERRA, A. D. M. **Uso da abelha canudo (*Scaptotrigona sp. nov.*) na polinização do meloeiro (*Cucumis melo* L.) em ambiente protegido**. [s. l.] 2014. 94 f. Dissertação (mestrado em zootecnia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-CE, 2014.
- BLOCHTEIN, B.; B. HARTER-MARQUES. 2002. Hymenoptera, p. 25-45. In: A.A.B. MARQUES; C.S. FONTANA; E. VÉLEZ; G.A. BENCKE; M. SCHNEIDER & R.E. DOS REIS (Eds). **Lista das espécies da fauna ameaçadas de extinção no Rio Grande do Sul**. Decreto nº 41.672, de 11 de junho de 2002. Porto Alegre, FZB/MCT-PUCRS/PANGEA, 52p.
- BOMFIM, I. G. A. *et al.* Adaptive and foraging behavior of two stingless bee species in greenhouse mini watermelon pollination. **Sociobiology**, v. 61, n. 4, p. 502-509, 2014.
- BOSCH, J.; KEMP, W. Developing and establishing bee species as crop pollinators: the example of *Osmia* spp. (Hymenoptera: Megachilidae) and fruit trees. **Bulletin of entomological research**, [s. l.] v. 92, n. 1, p. 3-16, 2002.
- BRUENING, H. Abelha jandaíra. **ESAM**, [s. l.] Coleção Mossoroense C, v. 557, 1990.

CABRAL, G. C. P. Efeitos da quantidade de alimento larval sobre a determinação de castas da abelha sem ferrão *Scaptotrigona aff. depilis* (Moure, 1942) (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) – uma análise morfométrica, de expressão gênica e de títulos de hormônio juvenil. 2009. Dissertação (Mestrado em Entomologia). Universidade de São Paulo, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto. 83 f. 2009.

CAMARGO, J. M. F.; PEDRO, S. R. M. Meliponini neotropicais: o gênero *Partamona* Schwarz, 1939 (Hymenoptera, Apidae, Apinae) - bionomia e biogeografia. **Revista Brasileira de Entomologia**, [s. l.] vol. 47, n. 3, pp. 311-372, 2003.

CAMARGO, J. M. F.; PEDRO, S. R. M., 2013. Meliponini Lepeletier, 1836. In Moure, J. S., Urban, D. & Melo, G. A. R. (Orgs). **Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region - online version**. Disponível em: <http://www.moure.cria.org.br/catalogue>. Acesso em: 18 de set. 2017.

CANO, R. J. *et al.* Bacillus DNA in fossil bees: an ancient symbiosis?. **Applied and Environmental Microbiology**, [s. l.] v. 60, n. 6, p. 2164-2167, 1994.

CORTOPASSI-LAURINO, M. *et al.* Global meliponiculture: challenges and opportunities. **Apidologie**, [s. l.] v. 37, n. 2, p. 275-292, 2006.

CRUZ, D. de O.; CAMPOS, A. de O. Polinização por abelhas em cultivos protegidos. **Current Agricultural Science and Technology**, [s. l.] v. 15, n. 1-4, 2009.

CRUZ, D. O. *et al.* Adaptação e comportamento de pastejo da abelha jandaíra (*Melipona subnitida* Ducke) em ambiente protegido. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, [s. l.] v. 26, n. 3, p. 293-298, 2004.

CRUZ, D. O.; CAMPOS, L. A. O. POLINIZAÇÃO POR ABELHAS EM CULTIVOS PROTEGIDOS. **Current Agricultural Science and Technology**, [s. l.] v. 15, n. 1-4, 2009.

CRUZ, D. O.; FREITAS, B. M. Diversity of bee species floral visitors and potential pollinators of oleaginous crops in Northeast of Brazil. **AMBIÊNCIA**, [s. l.] v. 9, n. 2, p. 411-418, 2013.

CRUZ, D.O., *et al.*, Pollination efficiency of the stingless bee *Melipona subnitida* on greenhouse sweet pepper. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, [s. l.] v. 40, p. 1197-1201. 2005.

CRUZ, D.O.; FREITAS, B.M.; SILVA, L.A.; SILVA, E.M.S.; BOMFIM, I.G.A. Adaptação e comportamento de pastejo da abelha jandaíra (*Melipona subnitida* Ducke) em ambiente protegido. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, [s. l.] v. 26, n. 3, p. 293-298, 2004.

DANTAS, M. R. T. Thermogenesis in stingless bees: an approach with emphasis on brood's thermal contribution. **JABB-Online Submission System**, [s. l.] v. 4, n. 4, p. 101-108, 2016.

DEL SARTO, M. C. L. **Avaliação de *Melipona quadrifasciata* Lepeletier (Hymenoptera: Apidae) como polinizador da cultura do tomateiro em cultivo protegido.** 2005. 61 f. Tese (Etomologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2005.

DEL SARTO, M.C.L.; PERUQUETTI, R.C.; CAMPOS, L.A.O. Evaluation of the Neotropical stingless bee *Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera: Apidae) as pollinator of greenhouse tomatoes. **Journal of Economic Entomology**, [s. l.] v.98, p. 260-266, 2005.

DUTRA, J. C. S. **Atividade de meliponíneos (Hymenoptera: Apidae) em ambiente protegido.** 2009. 87 f. Tese (Etomologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009.

FABICHAK, I. **Abelhas indígenas sem ferrão Jataí.** Nobel, São Paulo, 1989.

FELIX, J. A. **Perfil zootécnico da meliponicultura no estado do Ceará, Brasil.** 2015. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Fortaleza, 2015.

FRANCINI, I. B.; NUNES-SILVA, C. G.; CARVALHO-ZILSE, G. A. Diploid male production of two Amazonian *Melipona* bees (Hymenoptera: Apidae). **Psyche: A Journal of Entomology**, [s. l.] v. 2012, 2012.

FREE, J. B. et al **Insect pollination of crops.** [s. l.] 2ª ed. London: Academic Press, 684 pp., 1993.

FREITAS, B. M. *et al.* Diversity, threats and conservation of native bees in the Neotropics. **Apidologie**, [s. l.] v. 40, n. 3, p. 332-346, 2009.

FREITAS, B. M.; BOMFIM, I. G. A. A necessidade de uma convivência harmônica da agricultura com os polinizadores. *In:* _____. **Importância dos polinizadores na produção de alimentos e na segurança alimentar global.** Brasília: Centro de Gestão e Estudos Estratégicos, 2017. Cap. 2. p. 39 – 50.

FREITAS, B. M.; NUNES-SILVA, P. Polinização agrícola e sua importância no Brasil. *In:* Imperatriz-Fonseca V. L, Canhos D. A. L, Alves D. A., Saraiva AM (eds) Polinizadores no Brasil. Edusp, São Paulo, pp 103–118. GIANNINI, T. *et al.* The dependence of crops for pollinators and the economic value of pollination in Brazil. **Journal of economic entomology**, [s. l.] v. 108, n. 3, p. 849-857, 2015.

FUNCEME – **Calendário das Chuvas no Estado do Ceará.** [s. l.] disponível em: <http://www.funceme.br/app/calendario/produto/municipios/maxima/anual>, acesso em: 09/09/2017.

GARÓFALO, C.A. **As abelhas e a sustentabilidade dos serviços de polinização.** [s. l.] 2013. 15 f. Projeto de Pesquisa, Departamento de Biologia, Ribeirão Preto, SP. 2013.

GARÓFALO, C.A.; MATINS, C.F.; AGUIAR, C.M.L.; DEL LAMA, M.A. ALVES-DOS-SANTOS, I. As abelhas solitárias e perspectivas para seu uso na polinização no Brasil. *In:* **Polinizadores no Brasil: contribuição e perspectivas para a biodiversidade, uso**

sustentável, conservação e serviços ambientais. [s. l.] IMPERATRIZ-FONSECA, V.L.; CANHOS, D.A.L.; ALVES, D.A.; SARAIVA, A.M. (eds.), São Paulo: Edusp, cap. 9, p. 183-202. 2012.

HEARD, R.A. The role of stingless bees in crop pollination. **Annual Review of Entomology**, [s. l.] v.44. p.183-206, 1999.

HILÁRIO, S. D.; RIBEIRO, M. F.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. Impacto da precipitação pluviométrica sobre a atividade de voo de *Plebeia remota* (Holmberg, 1903). (Apidae, Meliponini). **Biota Neotropica**, [s. l.] v. 7, n. 3, 2007.

HILÁRIO, S. D.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; KLEINERT, A. M. P. Flight activity and colony strength in the stingless bee *Melipona bicolor bicolor* (Apidae, Meliponinae). **Revista brasileira de biologia**, [s. l.] v. 60, n. 2, p. 299-306, 2000.

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. *et al.* 3.3 Brazilian Pollinators Initiative: Biodiversity and Sustainable Use of Pollinators. **Caring for Pollinators**, [s. l.] p. 64, 2008.

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. KOEDAM, D. HRNCIR M. **Abelha jandaíra: no passado, presente e no futuro.** Mossoró: EdUFERSA, 254p.: il. 2017.

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. **Serviços aos ecossistemas, com ênfase nos polinizadores e polinização.** São Paulo: USP, 2004.

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L., *et al.* **Polinizadores no Brasil: contribuição e perspectivas para a biodiversidade, uso sustentável, conservação e serviços ambientais.** São Paulo: USP, 2012.

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; NUNES-SILVA, P. As abelhas, os serviços ecossistêmicos e o Código Florestal Brasileiro/Bees, ecosystem services and the Brazilian Forest Code. **Biota Neotropica**, [s. l.] v. 10, n. 4, p. 59, 2010.

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; ZUCCHI, R. Virgin queens in stingless bee (Apidae, Meliponinae) colonies: a review. **Apidologie**, [s. l.] v. 26, n. 3, p. 231-244, 1995.

INSITUTO DE PESQUISAS E ESTRATÉGIAS ECONÔMICAS DO CEARÁ (IPCE). **Perfil Básico Municipal.** Fortaleza, 2016. Disponível em: http://www.ipece.ce.gov.br/perfil_basico_municipal/2016/Fortaleza.pdf. Acesso em: 07 de jan. 2018.

IPBES (2016). **The assessment report of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services on pollinators, pollination, and food production.** [s. l.] S.G. Potts, V. L. Imperatriz-Fonseca, and H. T. Ngo, (eds). Secretariat of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services, Bonn, Germany. 552 pages.

- ITIS, 2010. Interagency Taxonomic Information System. **World Bee Checklist Project**. Disponível em: <http://www.catalogueoflife.org/annual-checklist/2010/details/database/id/67>. Acesso em: 11 de mar. 2017.
- JAFFÉ, R. *et al.* Bees for development: Brazilian survey reveals how to optimize stingless beekeeping. **PloS one**, [s. l.] v. 10, n. 3, p. e0121157, 2015.
- JARAU, Stefan *et al.* Virgin queen execution in the stingless bee *Melipona beecheii*: the sign stimulus for worker attacks. **Apidologie**, [s. l.] v. 40, n. 4, p. 496-507, 2009.
- KÄRCHER, M. H. *et al.* Factors influencing survival duration and choice of virgin queens in the stingless bee *Melipona quadrifasciata*. **Naturwissenschaften**, [s. l.] v. 100, n. 6, p. 571-580, 2013.
- KERR, W. E. Estudos sobre o gênero *Melipona*. **Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, Piracicaba, v. 5, p. 181-276, 1948.
- KERR, W. E. *et al.* Aspectos pouco mencionados da biodiversidade amazônica. **Parcerias Estratégicas**, v. 6, n. 12, p. 20-41, 2001.
- KERR, W. E. **Formação das castas no gênero *Melipona* (Illiger, 1806)**. **Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, Piracicaba, v. 3, p. 288-312, 1946.
- KERR, W. E. Genetic determination of castes in the genus *Melipona*. **Genetics**, [s. l.] v. 35, p. 143-152. (AA 105/51). 1950.
- KISHAN TEJ, M. *et al.* Stingless bee *Tetragonula iridipennis* Smith for pollination of greenhouse cucumber. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, [s. l.] v. 5, n. 4, p. 1729-1733. 2017.
- KLEINERT, A. M. P. *et al.* Abelhas sociais (Bombini, Apini, Meliponini). **Bioecologia e nutrição de insetos-Base para o manejo integrado de pragas**, [s. l.] p. 373-426, 2009.
- KOFFLER, S. **Influência da quantidade de recursos alimentares e da sazonalidade sobre a produção de sexuais em *Scaptotrigona aff. depilis* (Apidae, Meliponini)**. 2013. Dissertação (Mestrado). Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. 2013
- LEÃO, K. de S. **Manejo de *Scaptotrigona sp.* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) para polinização da rambuteira (*Nephelium lappaceum* L.)**. 2014. 72 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal do Pará, Embrapa Amazônia Oriental, Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, PA.
- LEMOES, C. Q. **Abelha *Plebeia cf. flavocincta* como potencial polinizador do cacaueteiro (*Theobroma cacao* L.) no semiárido brasileiro**. [s. l.] 2014. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE.
- LOLI, D. **Termorregulação colonial e energética individual em abelhas sem ferrão *Melipona quadrifasciata* Lapeletier (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)**. [s. l.] 2008. 229

f. Tese (Doutorado em Fisiologia Geral) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

MAGALHÃES, T. L.; VENTURIERI, G. C. **Aspectos econômicos da criação de abelhas indígenas sem ferrão (Apidae: Meliponini) no Nordeste Paraense**. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental. 1 ed., p. 36, 2010.

MALAGODI-BRAGA, K. S.; KLEINERT, A. M. P.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. Abelhas sem ferrão e polinização. **Revista Tecnologia e Ambiente**, Criciúma, v.10, p. 59-70, 2004.

MARTINI, R. P.; PFÜLLER, E. E.; MARTINS, E. C. Importância ambiental das abelhas sem ferrão. **RAMVI, Getúlio Vargas**, [s. l.] v. 02, n. 04. 2015.

MECCA, G. F.; BEGO, L. R. **O comportamento forrageiro das operárias de *Scaptotrigona aff. depilis* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini), relacionado a fatores climáticos**. [s. l.] 2003. [s.n.], Ribeirão Preto, 2003.

MENESES, H. M. **Desenvolvimento de colônias de jandaíra (*Melipona subnitida*) sob confinamento e avaliação de métodos de multiplicação**. 2016. Dissertação (Mestrado), Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 2016

MENEZES, C. *et al.* The role of useful microorganisms to stingless bees and stingless beekeeping. In: **Pot-Honey**. Springer New York. cap.10. p. 153-171. 2013.

MENEZES, C. **A produção de rainhas e a multiplicação de colônias em *Scaptotrigona aff. depilis* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)**. [s. l.] 2010. Tese de Doutorado. PhD Thesis University of São Paulo, Ribeirão Preto, Brazil: 97 p. 2010,

MENEZES, C.; VOLLET-NETO, A.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. A method for harvesting unfermented pollen from stingless bees (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). **Journal of Apicultural Research**, [s. l.] v. 51, n. 3, p. 240-244, 2012.

MENEZES, C.; VOLLET-NETO, A.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. An advance in the *in vitro* rearing of stingless bee queens. **Apidologie**, [s. l.] v. 44, n. 5, p. 491-500, 2013.

MICHENER, C. D. **The bees of the world**. [s. l.] JHU press, 2007.

MICHENER. C. D. The Meliponini. In: **Pot-Honey**. Springer New York, 2013. p. 3-17.

NASCIMENTO W. M.; GOMES E. M. L.; BATISTA E. A.; FREITAS R. A. Utilização de agentes polinizadores na produção de sementes de cenoura e pimenta doce em cultivo protegido. **Horticultura Brasileira** [s. l.] 30: 494-498. 2012.

NOGUEIRA-FERREIRA, F.H; SILVA-MATOS, E.V.; ZUCCHI, R. Interaction and behavior of virgin and physogastric queens in three Meliponini species (Hymenoptera, Apidae). **Genetics and Molecular Research**, [s. l.] v. 8, n. 2, p. 703-708, 2009.

NOGUEIRA-NETO, P. **Vida e criação de abelhas indígena sem ferrão**. São Paulo: Editora Nogueirapis, 1997. 445p.

NUNES-SILVA, P. **Capacidade vibratória e polinização por vibração nas abelhas do gênero *Melipona* (Apidae, Meliponini) e *Bombus* (Apidae, Bombini)**. 2011. 133f. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. 2011.

NUNES-SILVA, P. *et al.* Stingless bees, *Melipona fasciculata*, as efficient pollinators of eggplant (*Solanum melongena*) in greenhouses. **Apidologie**, [s. l.] v. 44, n. 5, p. 537-546, 2013.

NUNES-SILVA, P. *et al.* The behaviour of *Bombus impatiens* (Apidae, Bombini) on tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill., Solanaceae) flowers: pollination and reward perception. **Journal of Pollination Ecology**, [s. l.] v. 11, n. 5, p. 33-40, 2013.

OLIVEIRA, F. F. *et al.* **Guia ilustrado das abelhas" sem ferrão" das Reservas Amanã e Mamirauá, Amazonas, Brasil (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)**. [s. l.] 2013.

OLIVEIRA, F.; KERR, W.E. Divisão de uma colônia de jupará (*Melipona compressipes manaosensis*) usando-se uma colmeia e o método de Fernando Oliveira. **INPA**, v.10, 2000. 7p.

OLIVEIRA, M. O. Declínio populacional das abelhas polinizadoras de culturas agrícolas. **Acta Apicola Brasilica**, [s. l.] v. 3, n. 2, p. 01-06, 2015.

OLIVEIRA, M. O. SOUZA, F. X; FREITAS, B. M. ABELHAS VISITANTES FLORAIS, EFICIÊNCIA POLINIZADORA E REQUERIMENTOS DE POLINIZAÇÃO NA CAJAZEIRA (SPONDIAS MOMBIN) Bee floral visitors, pollination efficiency and pollination requirements in *Spondias mombin*. **Revista Acadêmica: Ciência Animal**, [s. l.] v. 10, n. 3, p. 277-284, 2012.

OLIVEIRA, R. C. *et al.* Trap-nests for stingless bees (Hymenoptera, Meliponni). **Apidologie**, [s. l.] v. 44, n. 1, p. 29-37, 2013.

OLIVERIA, F. F. *et al.* **Guia ilustrado das abelhas" sem ferrão" das Reservas Amanã e Mamirauá, Amazonas, Brasil (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)**. [s. l.] 2013.

PICK, R. A.; BLOCHTEIN, B. Atividades de voo de *Plebeia saiqui* (Holmberg) (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) durante o período de postura da rainha e em diapausa. **Revista Brasileira de Zoologia**, [s. l.] v. 19, n. 3, p. 827-839, 2002.

PINHEIRO, M., *et al.* Polinização por abelhas. In: RECH, A.R *et al.* **Biologia da polinização**. Rio de Janeiro: Editora Projeto Cultural, 2014, cap. 9, p. 205 – 233.

PRATO, M. **Ocorrência natural de sexuais, produção *in vitro* de rainhas e multiplicação de colônias em *Tetragonisca angustula* (Hymenoptera, Apidae,**

Meliponini). [s. l.] 2011. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2011.

PRATO, M. **Ocorrência natural de sexuais, produção *in vitro* de rainhas e multiplicação de colônias em *Tetragonisca angustula* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)**. [s. l.] 2010. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2010.

PRATO, M.; SOARES, A. E. E. Production of sexuals and mating frequency in the stingless bee *Tetragonisca angustula* (Latreille) (Hymenoptera, Apidae). **Neotropical entomology**, [s. l.] v. 42, n. 5, p. 474-482, 2013.

R Core Team (2017). **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

RAW, A. Foraging behavior of wild bees at hot pepper flowers (*Capsicum annuum*) and its possible influence on cross pollination. **Annals of Botany**, [s. l.] v. 85, n. 4, p. 487-492, 2000.

RECH, A. R. *et al.* (Ed.). Biologia da polinização. **Projeto Cultural**, [s. l.] 2014.

RODRIGUES, M.; SANTANA, W. C.; SOARES, A. E. E. Flight activity of *Tetragona clavipes* (Fabricius, 1804) (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) at the São Paulo University campus in Ribeirão Preto. **Bioscience Journal**, [s. l.] v. 23, 2007.

ROSELINO, A. C.; SANTOS, S. A. B.; BEGO, L. R. Qualidade dos frutos de pimentão (*Capsicum annuum* L.) a partir de flores polinizadas por abelhas sem ferrão (*Melipona quadrifasciata anthidioides* Lepeletier 1836 e *Melipona scutellaris* Latreille 1811) sob cultivo protegido. **Revista brasileira de Biociências**, [s. l.] v. 8, n. 2, 2010.

ROUBIK, David W. Ecology, and natural history of tropical bees. **Cambridge University Press**, [s. l.] 1992.

SADEH, A.; SHMIDA, A.; KEASAR, T. The carpenter bee *Xylocopa pubescens* as an agricultural pollinator in greenhouses. **Apidologie**, [s. l.] v. 38, n. 6, p. 508-517, 2007.

SANTOS, C. F. *et al.* A scientific note on diploid males in a reproductive event of a eusocial bee. **Apidologie**, [s. l.] v. 44, n. 5, p. 519-521, 2013.

SANTOS, C. F.; SANTOS, P. D. S.; BLOCHTEIN, B. *In vitro* rearing of stingless bee queens and their acceptance rate into colonies. **Apidologie**, [s. l.] v. 47, n. 4, p. 539-547, 2016.
HILÁRIO

SANTOS, C. F.; SANTOS, P. D. S.; BLOCHTEIN, B. *In vitro* rearing of stingless bee queens and their acceptance rate into colonies. **Apidologie**, [s. l.] v. 47, n. 4, p. 539-547, 2016.
HILÁRIO

SANTOS, T. C. A.; CRUZ-LANDIM, C. Determinação das castas em *Scaptotrigona postica* (Latreille) (Hymenoptera, Apidae, Meliponini): diferenciação do ovário. **Revista Brasileira de Zoologia**, [s. l.] p. 703-714, 2002.

- SARMENTO DA SILVA, E. M. *et al.* Biologia floral do pimentão (*Capsicum annuum*) e a utilização da abelha jandaíra (*Melipona subnitida* Ducke) como polinizador em cultivo protegido. **Revista Ciência Agronômica**, [s. l.] v. 36, n. 3, 2005.
- SCHWARZ, H. F. Stingless bees (Meliponidae) of the western hemisphere, Herbert Schwarz. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, [s. l.] 1948.
- SHANKS, J. L. *et al.* First confirmed report of a bacterial brood disease in stingless bees. **Journal of invertebrate pathology**, [s. l.] v. 144, p. 7-10, 2017.
- SILVA, C. I. *et al.* **Guia ilustrado de abelhas polinizadoras no Brasil**. [s. l.] 2014.
- SILVA, C. I. *et al.* Guia ilustrado de abelhas polinizadoras no Brasil. **São Paulo: Instituto Avançado da Universidade de São Paulo, Co-editor: Ministério do Meio Ambiente-Brasil**, [s. l.] 2014.
- SILVA, M. A.; OLIVEIRA, F. A.; HRNCIR, M. Effect of different pollination treatment in eggplant in a greenhouse. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, [s. l.] v.11, n.1, p.30-36, 2016.
- SILVEIRA, F. A.; MELO, G. A. R; ALMEIDA, E. A. B. **Abelhas brasileiras: sistemática e identificação**. Belo Horizonte (MG, Brazil): Fernando A. Silveira, 2002.
- SLAA, E. J. *et al.* Stingless bees in applied pollination: practice and perspectives. **Apidologie**, [s. l.] v. 37, n. 2, p. 293-315, 2006.
- TEIXEIRA, L. V. **Produção de rainhas em espécies de abelhas sem ferrão com células de cria dispostas em cacho (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)**. 2012. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa 39f. 2012.
- TEIXEIRA, L. V.; CAMPOS, F. N. M. Início da atividade de voo em abelhas sem ferrão (Hymenoptera, Apidae): influência do tamanho da abelha e da temperatura ambiente. **Revista Brasileira de Zoociências**, [s. l.] v. 7, n. 2, 2009.
- VAISSIÈRE, B. E.; FREITAS, B. M.; GEMMILL-HERREN, B. Protocol to detect and assess pollination deficits in crops: a handbook for its use. Roma: **FAO**, 2011.
- VEIGA, J. C.; MENEZES, C.; CONTRERA, F. A. L. Insights into the role of age and social interactions on the sexual attractiveness of queens in an eusocial bee, *Melipona flavolineata* (Apidae, Meliponini). **The Science of Nature**, [s. l.] v. 104, n. 3-4, p. 31, 2017.
- VENTURIERI, G. C. **Criação de abelhas indígenas sem ferrão**. [s. l.] Embrapa Amazônia Oriental, 2004.
- VENTURIERI, G. C.; CONTRERA, F. A. L. Biodiversidade de Abelhas na Amazônia: os Meliponíneos e seu Uso na Polinização de Culturas Agrícolas. **III Semana dos Polinizadores: palestras e resumos**, [s. l.] p. 26, 2012.

VENTURIERI, G. R. **Ecologia da polinização do açaizeiro (*Euterpe oleracea*) com e sem a introdução de colônias da abelha uruçú-amarela (*Melipona flavolineata*)**. [s. l.] 2015. 122 p. Dissertação (Mestrado) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2015.

VILLAS-BÔAS, J. **Manual tecnológico: Mel de abelhas sem ferrão**. [s. l.] 2012.

VILLAS-BÔAS, J. **Manual tecnológico: mel de abelhas sem ferrão**. Brasília: ISPN, 2012.

WILLE, A. Biology of the stingless bees. **Annual review of entomology**, [s. l.] v. 28, n. 1, p. 41-64, 1983.

WINSTON, M. L. **A biologia da abelha**. Porto Alegre: Magister, 2003.

WITTER, S. *et al.* **As abelhas e a agricultura**. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2014.

WITTER, S.; NUNES-SILVA, P. **Manual de boas práticas para o manejo e conservação de abelhas nativas (meliponíneos)**. [s. l.] 2014.

ZANELLA, F. C. V.; MARTINS, C. F. **Abelhas da Caatinga: biogeografia, ecologia e conservação**. [s. l.] *Ecologia e conservação da Caatinga*, p. 75-134, 2003.

VOLLET-NETO, A., *et al.* Diploid males of *Scaptotrigona depilis* are able to join reproductive aggregations (Apidae, Meliponini). **Journal of Hymenoptera Research**, [s. l.] v. 45, p. 125, 2015.

WILLE, A. Biology of the stingless bees. **Annual review of entomology**, [s. l.] v. 28, n. 1, p. 41-64, 1983.

WINSTON, M. L. **A biologia da abelha**. Porto Alegre: Magister, 2003.

WITTER, S. *et al.* **As abelhas e a agricultura**. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2014.

ZANELLA, F. C. V.; MARTINS, C. F. **Abelhas da Caatinga: biogeografia, ecologia e conservação**. **Ecologia e conservação da Caatinga**, [s. l.] p. 75-134, 2003.