



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

**MARIA DA CONCEIÇÃO PARENTE**

**CARACTERIZAÇÃO DE INDIVÍDUOS REPRODUTIVOS ORIUNDOS DE  
REALEIRAS EM *Plebeia flavocincta* COCKERELL (HYMENOPTERA: APIDAE) A  
PARTIR DE COLÔNIAS MANEJADAS**

**FORTALEZA**

**2025**

MARIA DA CONCEIÇÃO PARENTE

CARACTERIZAÇÃO DE INDIVÍDUOS REPRODUTIVOS ORIUNDOS DE REALEIRAS  
EM *Plebeia flavocincta* COCKERELL (HYMENOPTERA: APIDAE) A PARTIR DE  
COLÔNIAS MANEJADAS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Zootecnia. Área de concentração: Abelhas e polinização.

Orientador: Prof. PhD. Breno Magalhães Freitas.

FORTALEZA

2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Sistema de Bibliotecas  
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- P252c Parente, Maria da Conceição.  
Caracterização de indivíduos reprodutivos oriundos de realeiras em *Plebeia flavocincta* Cockerell (Hymenoptera: Apidae) a partir de colônias manejadas / Maria da Conceição Parente. – 2025.  
105 f.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Fortaleza, 2025.  
Orientação: Prof. Dr. Breno Magalhães Freitas.
1. Rainhas virgens. 2. Machos gigantes. 3. Multiplicação assistida. 4. Produção de colônias. 5. Meliponicultura. I. Título.

CDD 636.08

---

MARIA DA CONCEIÇÃO PARENTE

CARACTERIZAÇÃO DE INDIVÍDUOS REPRODUTIVOS ORIUNDOS DE REALEIRAS  
EM *Plebeia flavocincta* COCKERELL (HYMENOPTERA: APIDAE) A PARTIR DE  
COLÔNIAS MANEJADAS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Zootecnia. Área de concentração: Abelhas e polinização.

Aprovada em: 21/07/2025.

BANCA EXAMINADORA

---

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

---

Dr. Francisco Deoclécio Guerra Paulino  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Dr. Luiz Wilson Lima-Verde  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Às duas mulheres amadas, calorosas e grandes  
incentivadoras: minha mãe, Dona Ângela (*in  
memoriam*) e minha avó, Dona Maria (*in  
memoriam*).

Ao grande mestre, amigo e fonte de inspiração,  
Seu Ximenes (*in memoriam*).

A estes, que há tão pouco tempo partiram para  
um outro universo, com eterno carinho  
e saudade dedico.

## AGRADECIMENTOS

Com amor à minha mãe, Ângela Maria Frederico Parente (*in memoriam*), que tão inesperadamente partiu para outro universo. Apesar da dureza diária que é conviver com sua ausência, tendo as lembranças e a saudade como um conforto, tem em mente sua calma, seu carinho e suas palavras de amor e incentivo de quem sempre torceu muito pela minha felicidade e pelas minhas conquistas são um verdadeiro combustível diário para continuar sempre em frente. E aqui estou, continuando minha jornada como a senhora sempre sonhou ver em vida. Sinto seu cuidado e proteção sempre, para onde quer que eu vá.

Ao meu pai, Antônio Ildácio Parente, e ao meu único irmão, Antônio Ildácio Parente Júnior, pelo amor, incentivo em minhas escolhas de vida até aqui e pelo acolhimento em momentos difíceis.

Aos meus avós maternos, Maria da Conceição da Silva Osterno (*in memoriam*) e Francisco das Chagas Frederico (*in memoriam*), de quem sempre me lembrarei com amor, respeito e saudade da convivência diária, dos cuidados, do incentivo e dos conselhos de sabedoria dedicados a mim.

Aos meus tios mais próximos, Marta Maria Frederico e Antônio Nacélio Frederico, pelo acolhimento desde pequena e por me incentivarem tanto no meu crescimento pessoal quanto profissional.

Aos meus amigos André Alves e Lucas Batista, grandes companheiros de vida que transcenderam a época de graduação e se fazem presentes até hoje, e também ao meu mais recente amigo Luiz Júnior, a quem tive a enorme sorte de conhecer e me aproximar cada vez mais. Sou imensamente grata pelo apoio, reciprocidade e momentos tão agradáveis juntos que, independente da fase ou caminho da vida os quais estamos vivendo, sempre procuramos dar um jeito de permanecer na vida um do outro. E que assim continue!

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia (PPGZ) da Universidade Federal do Ceará pelo aporte institucional e pela oportunidade de realizar o curso de mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo amparo financeiro através da bolsa concedida durante essa jornada.

Ao Prof. PhD Breno Magalhães Freitas por esse longo período de orientação e parceria, desde a graduação até aqui. Agradeço também pelo aprendizado obtido, pela confiança em meus propósitos de pesquisa, assim como pela paciência e compreensão, especialmente nos momentos mais difíceis. Desejo que continue obtendo muito sucesso e

disseminando suas sementes de conhecimento onde quer que esteja, que são um reflexo da sua dedicação por trabalhar com abelhas.

Ao Dr. Francisco Deoclécio Guerra Paulino por aceitar o convite para a banca de argüição e pelas suas valorosas contribuições. Também sou grata pelo legado de seu trabalho no Laboratório de Abelhas da UFC, não somente pelo enorme conhecimento compartilhado, mas também pelo cuidado e convivência amistosa, sempre acompanhada de um sorriso no rosto por amar o que faz e as pessoas ao seu redor.

Ao Dr. Luiz Wilson Lima-Verde, igualmente pela aceitação do convite como integrante da banca de argüição, bem como pela gentil disponibilidade em enriquecer tão grandemente o presente trabalho com sua vasta experiência junto às abelhas sem ferrão.

Ao Grupo de Pesquisa com Interação Abelha-Planta para Polinização e Produção (GPA) da UFC pela receptividade, bons momentos vividos e oportunidades de aprendizado desde a graduação até aqui.

Ao técnico de laboratório, Leonardo Gurgel, pela amizade e convivência diária, bem como pelo apoio sempre que necessário e conselhos motivadores.

Aos demais funcionários do Setor de Abelhas da UFC, pela disponibilidade em ajudar que sempre se fez presente.

À Profa. Érica Calvet, bem como aos seus bolsistas e demais servidores do Laboratório de Manejo de Ácaros e Insetos da UFC (Setor de Fitossanidade, Departamento de Fitotecnia) pela receptividade e por disponibilizarem seu espaço e os estereomicroscópios quantas vezes foi necessário para que eu fizesse as análises e registros fotográficos dos machos da espécie com a qual trabalhei neste experimento.

Às incríveis amigas no Laboratório de Abelhas da UFC, que tornaram os meus dias mais leves durante essa jornada: Ananda Soares, Ana Vitória, Arianne Moreira, Carolina Moura, Dalila Martins, David Rezende, Dejaime Teófilo, Epifânia Rocha, Eros Muniz, Felipe Jackson, Janaely Pereira, Luan dos Santos, Lucas Silva, Nádia Carvalho, Paloma Eleutério, Patrícia Taynara, Renan Esmeraldo e Stefanie do Nascimento. Sou imensamente grata pelos diversos momentos compartilhados e por se fazerem tão importantes, cada um a sua maneira. O companheirismo e forte incentivo de vocês foram fundamentais e grandes combustíveis para que eu seguisse em frente.

Ao Cayo Gomes e à Rayssa Teixeira, igualmente valiosas amigas que aconteceram em meio do caos do mestrado como um verdadeiro presente, pelas quais também sempre serei grata. Em meio às horas quase intermináveis de estudos, a sua gentileza, presença e momentos de risadas infinitas de sempre foram essenciais para tornar tudo mais leve.

Aos amigos abelhudos que foram alçar outros vôos e desbravar novos caminhos, Artur Bruno, David Nogueira, Felipe Rosa, Gercy Soares, Hiara Meneses, Iraildes Lima, João Paulo Fernandes e Larysson Feitosa, agradeço pela amizade, apoio e por se mostrarem sempre presentes, não importa a distância.

À equipe que, além da grande amizade e carinho construídos, me auxiliou na elaboração desta dissertação, trabalho este feito por várias mãos. Dejaime Teófilo, Epifânia Rocha e Paloma Eleutério, obrigada não somente pela ajuda consistente nos manejos das colônias no meliponário e ensaios de acasalamento controlado (que renderam muito aprendizado e muitas risadas em certos momentos), mas também pela troca mútua de valiosos conhecimentos. Minha mais verdadeira gratidão também ao Felipe Jackson e Janaely Pereira por contribuírem enormemente com todas as análises de dados deste trabalho, me ajudando a traduzir em gráficos e em linguagem estatística tudo o que foi desvendado ao observar o incrível comportamento dessas pequeninas.

Aos amigos criadores dessa espécie, Arianne Moreira, Dejaime Teófilo, Epifânia Rocha, Everardo Alves, Eduarda de Lemos e Rômulo Saraiva, que gentilmente doaram crias de suas colônias (principalmente realeiras) para ajudar na execução deste trabalho.

Ao grande mestre, amigo e incentivador, Francisco Ximenes Braga (*in memoriam*), que tão de repente partiu e tem nos feito tanta falta. Sempre me lembrarei com carinho e saudade de sua gentileza, mansidão e humildade, assim como do modo cuidadoso e tão humano com o qual lidava com suas amadas abelhas sem ferrão e toda a natureza ao seu redor, que inclusive é de grande inspiração para mim. Infelizmente não foi possível que em vida pudesse ver de perto a conclusão dessa etapa em minha vida, mas ainda assim espero que em algum lugar deste universo você possa estar presente, sabendo que este trabalho também é dedicado à sua memória.

E, por fim, à espécie que foi o modelo de estudo escolhido para este trabalho, as pequeninas e fascinantes abelhas jati (*Plebeia flavocincta*), que instigaram a minha curiosidade e tornaram possível essa jornada tão cheia de aprendizado e descobertas diárias. Pequenas no tamanho, mas ao mesmo tempo tão grandiosas em tudo o que fazem.

## RESUMO

*Plebeia flavocincta* é uma espécie de abelha sem ferrão de grande importância ecológica e socioeconômica no Nordeste do Brasil, especialmente na região do semiárido, onde é amplamente manejada por meliponicultores. Apesar dessa relevância, limitações reprodutivas comuns entre meliponíneos também afetam *P. flavocincta*, particularmente quanto à produção de colônias em larga escala por métodos tradicionais. Este estudo apresenta a primeira investigação sobre a biologia reprodutiva da espécie, com foco no comportamento de rainhas virgens recém-emergidas e suas interações com operárias, como etapa inicial da multiplicação assistida de colônias. Ensaio preliminares de acasalamento controlado também foram realizados com parte dessas rainhas. Adicionalmente, foi observada e analisada a emergência de machos gigantes a partir de realeiras. Esses indivíduos apresentaram morfologia desproporcional, indicando possível comprometimento cognitivo e reprodutivo. Foram comparados parâmetros morfométricos entre machos gigantes e normais, discutindo-se as implicações na reprodução natural e assistida. Os resultados indicam que é possível formar novas colônias utilizando rainhas virgens monitoradas isoladamente em protocolônias, com baixa demanda de recursos das colônias-matrizes. Além disso, a ocorrência de machos gigantes pode reduzir a disponibilidade real de rainhas viáveis, sugerindo que o método tradicional de doação de favos com realeiras seja menos eficiente nesse contexto. O monitoramento isolado das realeiras também se mostrou promissor para antecipar a emergência de machos gigantes, reduzindo a possibilidade de diagnósticos equivocados quanto à perda de rainhas. Esses achados oferecem uma base promissora para aprimorar estratégias de manejo reprodutivo em *P. flavocincta* e avançar nas técnicas de multiplicação assistida em abelhas sem ferrão.

**Palavras-chave:** rainhas virgens; machos gigantes; multiplicação assistida; produção de colônias; meliponicultura.

## ABSTRACT

*Plebeia flavocincta* is a stingless bee species of significant ecological and socioeconomic importance in Northeastern Brazil, particularly in the semi-arid region, where it is widely kept by meliponiculturists. Despite this relevance, reproductive limitations common to many stingless bees also affect *P. flavocincta*, especially regarding large-scale colony production using traditional methods. This study provides the first investigation into the reproductive biology of *P. flavocincta*, focusing on the behavior of newly-emerged virgin queens and their interactions with workers as an initial step in assisted colony multiplication. Preliminary trials of controlled mating were also conducted with a subset of these virgin queens. Additionally, the emergence of giant males from queen cells was observed and analyzed. These individuals exhibited disproportional morphology, potentially indicating cognitive and reproductive impairments. The study compared morphometric parameters of giant and normal males and discussed their implications for both natural and assisted reproduction. Results indicate that new colonies can be successfully formed using virgin queens monitored in isolated protocolonies, with minimal resource extraction from mother colonies. Furthermore, the occurrence of giant males may reduce the actual availability of viable virgin queens, suggesting that traditional brood comb donation methods may be less effective. Isolated monitoring of queen cells also proved useful for early detection of giant males, thereby reducing misinterpretation of queen loss. These findings offer a promising foundation for improving reproductive management strategies in *P. flavocincta* and advancing assisted multiplication techniques for stingless bees.

**Keywords:** virgin queens; giant males; assisted multiplication; colony production; meliponiculture.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Meliponário experimental do Setor de Abelhas (Departamento de Zootecnia, Universidade Federal do Ceará), local onde foi conduzido o experimento ..... 32
- Figura 2 – Manejo de suplementação alimentar fornecido às colônias de *Plebeia flavocincta* durante o período experimental. Mel diluído de *Apis mellifera* (a), pólen desidratado e moído de *A. mellifera* (b), composto fermentado enriquecido com pólen fresco de meliponíneos (c). Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – Ceará, 2024; 2025 ..... 33
- Figura 3 – Exemplo de colônia saudável de *Plebeia flavocincta*, em condições de doar favos de cria e operárias. Rainha fisogástrica ativa, bem como atividade de postura de ovos e construção de favos ocorrendo de modo constante e uniforme (a), boa quantidade de favos de cria emergentes e com realeira disponíveis (b). Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – Ceará, 2024; 2025 ..... 34
- Figura 4 – Protocolônia montada com os seus devidos elementos para as observações comportamentais das rainhas virgens de *Plebeia flavocincta*, com destaque para a realeira circulada em vermelho. Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – Ceará, 2024; 2025 ..... 35
- Figura 5 – Procedimento de observação e registros comportamentais de rainhas virgens de *Plebeia flavocincta* após emergirem. Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – Ceará, 2024; 2025 ..... 36
- Figura 6 – Etapa experimental do acasalamento controlado de *Plebeia flavocincta* em ambiente externo. Núcleo de acasalamento utilizado para as observações (a); registros comportamentais das interações entre rainha e machos antes, durante e após a cópula (b). Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – Ceará, 2024; 2025 ..... 40
- Figura 7 – Procedimento de marcação das rainhas de *Plebeia flavocincta* recém-acasaladas. Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza –

	Ceará, 2024; 2025 .....	41
Figura 8	– Transferência dos elementos da protocolônia de <i>Plebeia flavocincta</i> para caixa racional modelo INPA. Preparação da caixa com alimento (mel e pólen) e cerume (a), rainha recém-acasalada (com marcação de tinta rosa no tórax) e operárias interagindo após realizada a transferência (b). Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – Ceará, 2024; 2025 .....	42
Figura 9	– Produção mensal de realeiras em oito colônias manejadas de <i>Plebeia flavocincta</i> ao longo do ano experimental (janeiro de 2024 a janeiro de 2025) no Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – Ceará .....	44
Figura 10	– Rainhas virgens de <i>Plebeia flavocincta</i> de duas categorias distintas produzidas: à esquerda, com marcação amarela no tórax, uma rainha em miniatura (emergida de uma célula regular); à direita, uma rainha de tamanho normal (oriunda de realeira). Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – Ceará, 2024; 2025 .....	45
Figura 11	– Construção da câmara de proteção em <i>Plebeia flavocincta</i> . Rainha virgem iniciando a construção do círculo de cerume, auxiliada por um pequeno grupo de operárias (a). Princesa ao centro da câmara exibindo ações típicas de dominância ao bater as asas e inflar o abdômen (b) e manipular cerume (c), até que estrutura começasse a tomar uma forma mais definida (d). Câmara finalizada, sendo perceptível o orifício (ou túnel) na parte superior (e). Princesa transitando fora da câmara algumas horas após a sua finalização, estabelecendo contato com as operárias do meio externo (f). Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – Ceará, 2024; 2025 .....	47
Figura 12	– Gráfico Biplot contendo os componentes principais relacionados aos comportamentos de dominância das rainhas virgens de <i>Plebeia flavocincta</i> . Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – Ceará, 2024; 2025 .....	48
Figura 13	– Gráficos em Boxplot para os valores médios da frequência dos	

comportamentos de dominância das rainhas virgens de <i>Plebeia flavocincta</i> conforme cada dia de observação. Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – Ceará, 2024; 2025 .....	51
Figura 14 – Primeiro dia de observação das rainhas virgens de <i>Plebeia flavocincta</i> . O círculo vermelho mostra a câmara sendo construída pela princesa e um pequeno grupo de operárias, enquanto ao redor da protocolônia observa-se um grande número de outras operárias não engajadas nesse processo. Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – Ceará, 2024; 2025 .....	57
Figura 15 – Círculos de proteção de cerume construídos pelas rainhas e operárias de <i>Plebeia flavocincta</i> (circulados com tinta verde e enumerados ao centro). Nessa mesma protocolônia, observa-se que foram construídos ao todo cinco círculos de cerume. Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – Ceará, 2024; 2025 .....	59
Figura 16 – Potencial competitividade entre dois machos de <i>Plebeia flavocincta</i> (um à esquerda e outro à direita) ao tentarem acasalar com a rainha virgem (ao centro). Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – Ceará, 2024; 2025 .....	61
Figura 17 – Demonstração de presença e conseqüente atratividade por parte da rainha virgem de <i>Plebeia flavocincta</i> . Movimentos de levantar e/ou girar o abdômen para atrair os machos circundantes (a); investida de um dos machos em dominar a rainha virgem através da monta, enquanto outro macho próximo se prepara para também realizar uma posterior tentativa (b). Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – Ceará, 2024; 2025 .....	63
Figura 18 – Evolução inicial da fisogastría em rainhas recém-acasaladas de <i>Plebeia flavocincta</i> . O abdômen começa a tomar um formato mais arredondado e os tergitos passam a ficar mais dilatados (listras mais claras, indicadas pela seta vermelha) (a); vista lateral do abdômen quando a fisogastría apresenta estágio mais avançado, quando as placas dorsais (tergitos) e ventrais (esternitos) do abdômen começam a se separar (b). Setor de Abelhas da	

.....	64
Figura 19 – Interações das rainhas fecundadas e operárias de <i>Plebeia flavocincta</i> durante o processo de construção de células de cria. Primeiras células com estruturas disformes e formato irregular (note a operária aprovisionando uma delas com alimento) (a); comportamento de inspeção constante das células pela rainha, que ainda está em processo de fisogastría (b); início da construção de células definitivas após alguns dias, onde é perceptível que estão uniformes e simétricas (c); rainha com o abdômen bem mais dilatado, indicando fisogastría bastante desenvolvida, posicionada no primeiro disco de cria já construído (d). Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – Ceará, 2024; 2025 .....	65
Figura 20 – Procedimento de análise via estereomicroscópio e registros fotográficos dos machos de <i>Plebeia flavocincta</i> em laboratório (a); as duas categorias de machos lado a lado: macho gigante (à esquerda, com marcação rosa no tórax) e macho normal (à direita) (b) .....	73
Figura 21 – Gráfico demonstrativo da ocorrência de rainhas virgens e machos gigantes em <i>Plebeia flavocincta</i> ao longo do período experimental. Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – Ceará, 2024; 2025 .....	75
Figura 22 – Macho gigante de <i>Plebeia flavocincta</i> detectado no interior de uma das realeiras observadas no experimento, através do qual é nítida a pigmentação mais escura da cutícula. Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – Ceará, 2024; 2025 .....	76
Figura 23 – Valores de correlação entre as variáveis morfométricas para os machos normais de <i>Plebeia flavocincta</i> , coletados aleatoriamente de colônias manejadas no Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – Ceará, 2024; 2025 .....	77
Figura 24 – Valores de correlação entre as variáveis morfométricas para os machos gigantes de <i>Plebeia flavocincta</i> , emergidos de realeiras de diferentes localidades e coletados a partir das protocolônias de observação	

.....	78
Figura 25 – Gráficos em boxplot referentes aos valores médios das respectivas variáveis morfológicas em relação aos machos normais e machos gigantes de <i>Plebeia flavocincta</i> .....	81

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Modelo de etograma com os respectivos comportamentos de dominância considerados para as avaliações comportamentais das rainhas virgens de <i>Plebeia flavocincta</i> . Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – Ceará, 2024; 2025 .....	37
Tabela 2	– Matriz de escores para os comportamentos de dominância das rainhas virgens de <i>Plebeia flavocincta</i> monitoradas nos dois componentes principais selecionados (PC1 e PC2). Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – Ceará, 2024; 2025 .....	49
Tabela 3	– Valores de média e desvio padrão para cada etapa relacionada aos ensaios de acasalamento controlado entre indivíduos reprodutivos de <i>Plebeia flavocincta</i> . Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – Ceará, 2024; 2025 .....	53
Tabela 4	– Comportamentos observados após a emergência entre machos gigantes e machos normais de <i>Plebeia flavocincta</i> , coletados a partir das protocolônias de observação e de colônias manejáveis em Fortaleza, Ceará, Brasil, respectivamente .....	79
Tabela 5	– Valores de média e desvio padrão para as variáveis morfométricas entre machos gigantes e machos normais de <i>Plebeia flavocincta</i> , coletados a partir das protocolônias de observação e de colônias manejáveis em Fortaleza, Ceará, Brasil, respectivamente .....	80

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
INPA	Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia
IPECE	Instituto de Pesquisa e Estratégia Econômica do Ceará

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	14
1.1	Origem e distribuição dos meliponíneos .....	14
1.2	Características gerais .....	15
1.3	Parâmetros reprodutivos .....	17
1.4	Importância dos meliponíneos: ecológica, econômica e social .....	22
1.5	Entraves na meliponicultura .....	24
1.6	Gênero <i>Plebeia</i> .....	26
<b>2</b>	<b>ASPECTOS COMPORTAMENTAIS E REPRODUTIVOS COM BASE NO MANEJO DE RAINHAS DE <i>Plebeia flavocincta</i></b> .....	28
2.1	Introdução .....	30
2.2	Material e métodos .....	32
2.2.1	Local de estudo .....	32
2.2.2	Espécie utilizada, manejo de fortalecimento das colônias e monitoramento de realeiras produzidas .....	33
2.2.3	Obtenção de rainhas virgens de <i>Plebeia flavocincta</i> .....	33
2.2.4	Observações comportamentais das rainhas virgens de <i>Plebeia flavocincta</i> .	36
2.2.5	Aproveitamento das rainhas virgens observadas: testes preliminares de acasalamento livre e controlado.....	38
2.2.6	Análises estatísticas .....	43
2.3	Resultados .....	43
2.4	Discussão .....	53
2.5	Conclusões .....	66
<b>3</b>	<b>OCORRÊNCIA DE MACHOS GIGANTES EM <i>Plebeia flavocincta</i> E IMPLICAÇÕES NA PRODUÇÃO DE NOVAS COLÔNIAS</b> .....	68
3.1	Introdução .....	70
3.2	Material e métodos .....	71
3.2.1	Local de estudo .....	71
3.2.2	Constatação da emergência de machos a partir de realeiras de <i>Plebeia flavocincta</i> .....	72
3.2.3	Coleta, montagem e armazenamento dos machos gigantes de <i>Plebeia flavocincta</i> pós-emergência .....	72

<b>3.2.4</b>	<b>Análise de características morfométricas dos machos gigantes coletados ...</b>	<b>73</b>
<b>3.2.5</b>	<b>Análises estatísticas .....</b>	<b>74</b>
<b>3.3</b>	<b>Resultados .....</b>	<b>74</b>
<b>3.4</b>	<b>Discussão .....</b>	<b>82</b>
<b>3.5</b>	<b>Conclusões .....</b>	<b>87</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>88</b>

## 1 REFERENCIAL TEÓRICO

### 1.1. Origem e distribuição dos meliponíneos

Dentre a grande abundância de espécies de abelhas existente ao redor do mundo, as abelhas sem ferrão, também conhecidas como meliponíneos, mostram-se como indivíduos de maior destaque. Estas formam um grupo bastante diversificado e abrangente de insetos altamente eusociais e apresentam ampla ocorrência tanto em zonas tropicais quanto subtropicais, cuja distribuição mundial já data de 605 espécies (Slaa *et al.*, 2006; Michener, 2007; Hrncir *et al.*, 2016; Grüter, 2020; Engel *et al.*, 2023). Tal diversidade expressiva de meliponíneos apresenta maior riqueza na região neotropical, onde são registradas 474 espécies e, no caso do Brasil, já se tem conhecimento de que 259 destas podem ser encontradas, até o presente momento (Engel *et al.*, 2023; Nogueira, 2023).

Os meliponíneos (Meliponini) fazem parte do grupo das abelhas corbiculadas (Hymenoptera, Apidae) juntamente às tribos Apini (abelhas melíferas, tal qual a conhecida *Apis mellifera*), Bombini (indivíduos do gênero *Bombus*) e Euglossini (abelhas das orquídeas) (Michener, 2007). É sabido que as abelhas sem ferrão constituem o grupo mais antigo de insetos eusociais, com evidências de que sua evolução se deu no período Cretáceo Superior, há 70-87 milhões de anos (Rasmussen; Cameron, 2010; Cardinal; Danforth, 2011; Grüter, 2020). Aliado a isso, estudos das últimas décadas apontam vários cenários para buscar explicar a distribuição pantropical desses indivíduos, dentre os quais o principal e mais abordado é de que essas abelhas tiveram seu local de origem e de dispersão na África tropical, no antigo continente Gondwana (Michener, 2007; Rasmussen; Cameron, 2010; Grüter, 2020).

O fóssil mais antigo conhecido é o de uma pequena operária de *Cretotrigona prisca* (~5 mm) preservada em âmbar, descoberto em Nova Jersey na América do Norte (Michener; Grimaldi, 1988a; 1988b). Tal registro é considerado o de maior similaridade a algumas abelhas sem ferrão existentes e acredita-se que esta tenha habitado o final do período Cretáceo (Maastrichtiano), há 65-70 milhões de anos (Engel, 2000; Grüter, 2020). Muito embora ao longo do tempo e outros registros fósseis de antigos espécimes de meliponíneos tenham sido obtidos e analisados, as informações acerca de sua história evolutiva e de como estes conseguiram habitar lugares tão distintos no mundo inteiro são de alta complexidade e, portanto, ainda escassas (Rasmussen; Cameron, 2010; Grüter, 2020).

Diversos estudos acerca do levantamento das espécies de meliponíneos mostram que atualmente sua distribuição mundial é bastante ampla, podendo ser encontradas desde a América do Sul, Central e do Norte (México), passando pela África Subsaariana, Índia, a porção sul da China, sudeste asiático até a porção norte da Austrália (Rasmussen; Cameron, 2010). Assim, a maior diversidade de indivíduos está localizada principalmente na região Neotropical, sendo o Brasil o país com o maior número de espécies válidas registradas até o momento, ainda que muitos desses grupos de abelhas necessitem ser revisados com a perspectiva de que outras novas espécies possam ser descritas (Pedro, 2014; Nogueira, 2023).

## 1.2. Características gerais

Os meliponíneos são caracterizados como insetos altamente eusociais, ou seja, estes vivem em colônias perenes com, em geral, uma rainha, várias operárias e machos, apresentam distinção morfológica marcante entre as castas de rainha e operária e, por fim, estabelecem divisão de tarefas dentro e fora do ninho conforme a idade dos indivíduos (polietismo etário), como, por exemplo, a construção interna, cuidado com as crias, coleta de recursos alimentares em campo (néctar e pólen), defesa contra possíveis inimigos naturais, dentre outras funções (Michener, 2007; Boomsma; Gawne, 2018; Grüter, 2020).

O usual termo “abelhas sem ferrão” se deve ao fato de que, à época de surgimento destas, seus ancestrais já haviam perdido ao longo de processos evolutivos a funcionalidade do ferrão. Na verdade, tal termo é considerado um tanto equivocado, já que estas possuem um resquício vestigial do que antes costumava ser o aparato para ferocar, porém, não conseguem utilizá-lo para se defender (Kerr; Lello, 1962; Michener, 2007). Dessa forma, a condição de não serem capazes de ferocar levou os meliponíneos a desenvolverem outras estratégias eficientes para proteger a colônia, tais como o uso de mandíbulas potentes, de componentes para imobilizar ou afugentar inimigos naturais (própolis a partir de resinas vegetais, deposição de substâncias cáusticas, etc.), camuflar a entrada do ninho ou até mesmo produzir operárias especializadas para a função de guarda (Souza *et al.*, 2007; Shackleton *et al.*, 2015; Grüter *et al.*, 2017; Baudier *et al.*, 2019; Shanahan; Spivak, 2021).

O tamanho das colônias de meliponíneos é, consideravelmente, variável, cuja média populacional pode ser pouco expressiva, representada por menos de 100 indivíduos (observado em *Melipona phenax*), ou atingir uma quantidade abundante, capaz de chegar a mais de 100.000 abelhas adultas, tal qual foi visto para *Trigona amazonensis* (Grüter, 2020). O estado populacional do ninho constitui um fator muito importante para várias perspectivas

do modo de vida social desses insetos, tais como a divisão de trabalho, saúde geral e produtividade da colônia, recrutamento de abelhas a campo, competição por recursos florais e, inclusive, conflitos reprodutivos (Oster; Wilson, 1978; Karsai; Wenzel, 1998; Jarau *et al.*, 2003; Ratnieks *et al.*, 2006; Lichtenberg *et al.*, 2010; Barbosa *et al.*, 2020).

Em relação a sua biologia de nidificação, os meliponíneos apresentam uma ampla capacidade de adaptação a diversos tipos de locais, os quais podem variar entre espécies que nidificam emocos de árvores, no solo, em galhos, em cavidades feitas por outros animais (ex. cupins, formigas, pássaros etc.), ou, até mesmo, constroem ninhos suspensos, com a estrutura exposta (Wille; Michener, 1973; Roubik, 2006; Witter *et al.*, 2007). Tal plasticidade de nidificação ainda pode ser observada em substratos inusitados como, por exemplo, em fendas entre rochas, ripas de palmeira, ou em construções feitas pelo homem, tais como frestas em paredes danificadas, tubulações, caixas de passagem elétrica, estacas em cercas, dentre outras (Roubik, 1983; Nogueira-Neto, 1997; Grüter, 2020).

Um aspecto peculiar da arquitetura de ninho das abelhas sem ferrão é o arranjo das células de cria, de onde emergirão novos indivíduos que irão povoar as colônias. Tal característica é bastante variável entre as espécies e estas podem construir basicamente três principais tipos de arranjos: em forma de favos horizontais (maioria das espécies), de favos verticais (ocorre em *Scaura longula* e no gênero *Dactylurina*) ou agrupados entre si, o qual se assemelha a um “cacho”. Além dessas formas mais convencionais, também podem ocorrer outras variações em formas intermediárias, tais como as células de cria que são arranjadas em formato de espiral, ou ainda os denominados “semi-favos”, nos quais as células são dispostas de modo irregular, desniveladas umas das outras (Wille, 1983; Nogueira-Neto, 1997; Roubik, 2006; Njoya *et al.*, 2016; Grüter, 2020; Nogueira *et al.*, 2021).

O desenvolvimento de crias em meliponíneos, desde a oviposição até a emergência dos adultos, é consideravelmente mais lento em comparação ao grupo de abelhas eusociais que compreende as *Apis mellifera*. Enquanto a produção de operárias em *A. mellifera* leva em média 21 dias, nas abelhas sem ferrão a geração desses indivíduos requer pelo menos duas vezes mais desse tempo, em torno de 35 a 55 dias (Winston, 1987; Grüter, 2020). Uma das razões que podem explicar tal fato é a de que, em geral, os meliponíneos possuem limitações na capacidade de manter a constância da temperatura no interior do ninho, ao passo que as *A. mellifera* são mais aptas a manter temperaturas altas e constantes na área de cria da colônia. Outra justificativa que pode ter afetado o tempo de desenvolvimento dos meliponíneos é a maior dificuldade das larvas ao digerir o alimento na célula, em razão da

baixa proporção de secreções glandulares e do alto teor de pólen na composição da dieta das crias (Engels *et al.*, 1995; Moo-Valle *et al.*, 2004).

A produção de crias em abelhas sem ferrão tende a sofrer impacto de forma direta conforme a disponibilidade de recursos alimentares em campo e, como consequência, na quantidade de alimento armazenado nas colônias, ressaltando, assim, uma intensa relação ao panorama sazonal de determinada região (Alves *et al.*, 2009; Prato; Soares, 2013; Maia-Silva *et al.*, 2016; Barbosa *et al.*, 2020). Em geral, quando submetidas a condições ambientais hostis em dada época do ano (invernos extremos ou quadra chuvosa intensa), determinadas espécies podem entrar em diapausa reprodutiva, interrompendo a produção de novas crias temporariamente até que as condições voltem a ser favoráveis (Santos *et al.*, 2014a). Essa circunstância gera mudanças adaptativas até mesmo nos indivíduos adultos do ninho, principalmente nas operárias, que reduzem a construção de células e as atividades de coleta de alimento em campo, e nas rainhas, podendo ocasionar perda de peso e menor grau de fisogastría, provavelmente devido à redução da postura (Pick; Blochtein, 2002; Ribeiro *et al.*, 2003; Santos *et al.*, 2014a)

### **1.3. Parâmetros reprodutivos**

Em contraponto à quantidade consideravelmente constante de operárias produzidas na colônia, a produção de rainhas em meliponíneos ao longo do ano representa um investimento limitado em prol da sobrevivência do ninho (Engels; Imperatriz-Fonseca, 1990). As rainhas virgens (ou “princesas”), na maioria das espécies, constituem uma menor porcentagem de indivíduos e sua produção está relacionada às reservas de alimento no ninho e à disponibilidade de machos no ambiente, uma vez que as condições ambientais estejam favoráveis. Por se tratar de um grupo de espécies que se reproduz através de enxameação com poucas rainhas por vez, a produção de machos exerce bastante influência na geração de novas fêmeas reprodutivas, já que se trata de um investimento oneroso para a colônia mãe (Moo-Valle *et al.*, 2001; Van Veen *et al.*, 2004; Cronin *et al.*, 2013; Grüter, 2020).

Em grande parte dos meliponíneos a determinação de rainhas é mediada pelo viés trófico, ou seja, fatores ambientais ligados à nutrição. Para tal, o desenvolvimento de novas rainhas se dá em células de cria especializadas, denominadas realeiras, geralmente localizadas na borda dos favos, e comportam uma quantidade maior de alimento larval em comparação às células de operárias e machos, que são menores para ambos. Uma variação da determinação trófica, que ocorre em apenas alguns gêneros (em geral, os que constroem

cachos), as larvas são criadas em células comuns, porém, algumas crias ganham acesso a alimento extra através de células anexas (Engels; Imperatriz-Fonseca, 1990; Faustino *et al.*, 2002; Grüter, 2020). De ambas as formas, a ingestão de maior volume de alimento provoca mudanças no sistema endócrino, o que leva ao desenvolvimento de indivíduos maiores e aptos a se tornarem rainhas (Hartfelder *et al.*, 2006).

Já para as espécies do gênero *Melipona*, a determinação de rainhas é caracterizada pela interação entre os fatores genético e nutricional (Schwander *et al.*, 2010). Como o viés genético é o principal fator determinante entre as castas, de modo que o aspecto nutricional exerce menor influência nessa diferenciação, não ocorre construção de realeiras para armazenar mais alimento larval, o que justifica o desenvolvimento dos indivíduos desse grupo (sejam rainhas, operárias ou machos) em células de mesmo tamanho e sem distinção da quantidade de alimento (Kerr 1950a; 1950b; Engels; Imperatriz-Fonseca, 1990; Grüter, 2020). Outra peculiaridade desse gênero é de que há uma produção de rainhas em excesso ao longo do ano, supostamente sem controle por parte da colônia, na qual para cada favo de cria há uma proporção entre 5 a 25% de fêmeas reprodutivas que irão emergir (Imperatriz-Fonseca; Zucchi, 1995; Sommeijer *et al.*, 2003; Wenseleers; Ratnieks, 2004; Hartfelder *et al.*, 2006).

Em alguns gêneros, a produção de rainhas se dá não somente através de realeiras, mas também em células regulares, de onde seria esperada a emergência de operárias. Nesse caso, emergem rainhas “em miniatura” ou “anãs”, assim chamadas por serem consideravelmente menores do que as de tamanho normal. Há registros de tal fenômeno para os gêneros *Cephalotrigona* (*C. capitata* e *C. femorata*), *Nannotrigona* (*N. testaceicornis*), *Schwarziana* (*S. quadripunctata*) e de forma ampla em *Plebeia* (*P. droryana*, *P. emerina*, *P. julianii*, *P. mosquito*, *P. pugnax* e *P. remota*) (Engels; Imperatriz-Fonseca, 1990; Imperatriz-Fonseca; Zucchi, 1995; Imperatriz-Fonseca *et al.*, 1997; Bourke; Ratnieks, 1999; Wenseleers *et al.*, 2005; Ribeiro *et al.*, 2006, Alves *et al.*, 2009).

Apesar de as rainhas em mininiatura serem funcionais e aptas a liderar colônias, há evidências de que estas possuem redução ovariana e produção de poucos ovariíolos, o que pode resultar em uma baixa taxa de oviposição e em ovos menores. Além disso, hipóteses propõem que o surgimento desses indivíduos pode ser uma estratégia reprodutiva alternativa, em que uma parcela das larvas parece se desviar do controle social das operárias (quantidade de alimento nas células), ampliando a própria aptidão através de outro destino, o de se tornar uma rainha; ou também de que o viés genético pode ser um fator determinante, tal qual ocorre em *Melipona* (Imperatriz-Fonseca *et al.*, 1997; Cruz-Landim, 2000; Ribeiro;

Alves, 2001; Wenseleers *et al.*, 2005; Ribeiro *et al.*, 2006). Essas e outras questões ainda permanecem inconclusivas, sendo necessários mais estudos para melhor investigar tal acontecimento peculiar na diferenciação de castas.

Outro fenômeno que foge do convencional e permeia a diferenciação de castas é a ocorrência de machos gigantes, sendo produzidos em realeiras ao invés de emergirem de células regulares. Tal fato já foi observado em *Friesella schrottkyi*, *Geotrigona mombuca*, *Nannotrigona testaceicornis*, *Paratrigona subnuda*, *Scaptotrigona postica*, *Schwarziana quadripunctatae* em algumas espécies de *Plebeia* (*P. droryana*, *P. emerina*, *P. julianii* e *P. remota*) (Camillo, 1971; Bego; Camargo, 1984; Engels; Imperatriz-Fonseca, 1990; Santos-Filho *et al.*, 2006; Alves *et al.*, 2009). Há evidências de que tais indivíduos tomam mais tempo de desenvolvimento e produzem número maior de espermatozoides, porém, ainda não é sabido se, de fato, são funcionais e sobre como se dá o seu desempenho ao acasalar, por exemplo. Estudos também apontam hipóteses divergentes de que este seria um tipo de evento acidental na colônia, ou mesmo uma estratégia alternativa de regular a produção de rainhas virgens (Camillo, 1971; Imperatriz-Fonseca, 1976; Bego; Camargo, 1984; Alves *et al.*, 2009). Diante disso, ainda não se sabe até que ponto a produção de machos gigantes impacta na reprodução dos meliponíneos, sendo necessários estudos mais aprofundados a respeito.

A emergência de uma rainha virgem representa impacto significativo especialmente para as operárias, já que esta tem potencial de se tornar a nova fêmea reprodutiva e, assim, ser parte fundamental para manter a aptidão evolutiva da colônia (Grüter, 2020). Além do papel de, quando aptas, substituir a rainha que antes estava dominante, as rainhas virgens geralmente podem ter outros dois principais destinos: um deles é enxamear junto a um grupo de operárias para nidificarem em novo local; e o outro, considerado o mais drástico, é o fato de que a maioria deverá ser morta pouco tempo após emergir (Imperatriz-Fonseca; Zucchi, 1995).

Um provável quarto destino, o qual precisa ser mais investigado para a variada gama de espécies de meliponíneos, é o parasitismo social, cujas princesas rejeitadas pelas operárias, que conseguiram fugir ou foram expulsas, saem da colônia mãe e adentram outros ninhos não aparentados como estratégia de tentar obter algum proveito reprodutivo. Tal fenômeno está, geralmente, relacionado ao gênero *Melipona*, em razão da quantidade excessiva de princesas que são produzidas (Sommeijer *et al.*, 2003; Wenseleers *et al.*, 2011; Oliveira *et al.*, 2022).

Em alguns indivíduos do gênero *Melipona*, em geral, as princesas costumam emergir pouco atrativas e até esse primeiro contato as operárias demonstram pouco interesse, ao passo que estas começam a ficar mais reativas com o passar dos dias (Imperatriz-Fonseca; Zucchi, 1995; Souza *et al.*, 2017). Já nos demais gêneros, a depender da espécie, as princesas tanto podem emergir pouco pigmentadas e com baixa atratividade, quanto é possível que sejam tão atrativas desde as primeiras horas de vida a ponto de provocar resposta imediata por parte das operárias, seja tolerante ou agressiva (Imperatriz-Fonseca; Zucchi, 1995; Van Benthem *et al.*, 1995). Logo, em busca da aceitação pela colônia em prol de se tornarem dominantes, essas rainhas virgens podem apresentar uma gama variada de comportamentos após emergir, tais como: mover-se vigorosamente pelo ninho, vibrar e dilatar o abdômen, girar, bater as asas, dentre outros (Imperatriz-Fonseca; Zucchi, 1995; Kärcher *et al.*, 2013; Veiga *et al.*, 2017; Otesbelgue *et al.*, 2018). Além disso, a escolha de uma nova rainha também pode ser mediada pela composição química de feromônios que estas liberam, bem como fatores genéticos (Imperatriz-Fonseca, 1977; Jarau *et al.*, 2009; Meunier *et al.*, 2011).

Desse modo, os primeiros dias após a emergência das rainhas virgens são cruciais para definir se de fato estas serão aceitas ou rejeitadas pela colônia, pois, além dos comportamentos típicos de dominância exibidos, geralmente nesse intervalo de tempo ocorre o amadurecimento glandular necessário à produção adequada de feromônios sexuais dessas fêmeas reprodutivas (Engels, 1987; Engels; Engels, 1988). Em situações cuja colônia necessita de uma rainha dominante, as operárias podem se mostrar mais tolerantes, aumentando, assim, a expectativa de sobrevivência dessas princesas. Porém, não são incomuns circunstâncias em que as operárias continuem a rejeitar e eliminar rainhas virgens, mesmo estando órfãs (Silva *et al.*, 1972; Van Veen *et al.*, 1999; Kärcher *et al.*, 2013).

Quando toleradas pelas operárias, algumas rainhas virgens podem ser mantidas em globos construídos com cerume, conhecidos como “câmaras de aprisionamento”. Esse comportamento já foi visto em algumas espécies dos gêneros *Plebeia*, *Frieseomelitta*, *Tetragonisca*, *Friesella*, *Scaura* e *Schwarziana* (Juliani, 1962; Imperatriz-Fonseca; Zucchi, 1995; Roubik, 2006). Acreditava-se que essas rainhas eram frequentemente encurraladas pelas operárias e que estas construía paredes de cerume ao seu redor, reforçando a ideia de algo imposto, tal qual uma “prisão” (Nogueira-Neto, 1958; Juliani, 1962). Contudo, estudos em espécies já observadas propõem que tais rainhas não só aparentam permanecer nas câmaras de modo voluntário, já que podem sair e retornar a qualquer momento, como também podem atuar em sua construção (Imperatriz-Fonseca *et al.*, 1975; Engels;

Imperatriz-Fonseca, 1990; Imperatriz-Fonseca; Zucchi, 1995; Nogueira-Ferreira *et al.*, 2009). No contexto colonial, até então sabido que as funções mais apontadas às câmaras é armazenar princesas para posterior uso, além de protegê-las contra possíveis ataques de operárias ou da própria rainha fisogástrica (Imperatriz-Fonseca, 1977; Drumond *et al.*, 1995; Witter *et al.*, 2007). Entretanto, tal comportamento parece variar consideravelmente entre os gêneros, sendo necessários estudos mais direcionados e com outras espécies, a fim de investigar outras possíveis hipóteses e como tal fenômeno pode influenciar na aceitação de uma nova fêmea reprodutiva.

Uma vez que a nova rainha dominante foi selecionada pela colônia, em seus primeiros dias de vida, esta já demonstra atratividade e aptidão para que ocorra o voo de acasalamento. Alguns dias antes, quando o voo está prestes a acontecer, é típico que a rainha virgem mantenha seu abdômen inflado enquanto recebe uma corte de operárias a sua volta. Além disso, a princesa costuma permanecer próxima à entrada do ninho ou no túnel de ingresso e, ao deixar a colônia, procura realizar voos de orientação e reconhecimento nas imediações do ambiente externo (Imperatriz-Fonseca, 1977; Sommeijer *et al.*, 2003; Vollet-Neto *et al.*, 2018; Grüter, 2020). Em geral, o voo nupcial acontece durante as horas mais quentes do dia (entre 10h e 14h) e seu tempo de duração é variável. A idade com a qual as rainhas partem para o voo também pode apresentar variações, corroborando com os poucos estudos até então realizados, os quais mostram que em espécies do gênero *Melipona* as fêmeas são propensas a acasalar mais jovens, ao passo que nos demais gêneros estas podem tender a apresentar atratividade para os machos com mais idade (Engels; Engels, 1988; Veiga *et al.*, 2017; Vollet-Neto *et al.*, 2018).

Na maioria das espécies de meliponíneos, os machos formam agregados fora do ninho recém estabelecido, ou que recebeu uma nova rainha (em caso de substituição) (Engels, 1987; Engels; Imperatriz-Fonseca, 1990; Imperatriz-Fonseca; Zucchi, 1995; Fierro *et al.*, 2011). Tais indivíduos (oriundos de diversos ninhos localizados a vários metros de distância) costumam chegar às zonas de agregação pela manhã, demonstrando um pico de atratividade no início da tarde, e no início da noite já começam a se dispersar (Roubik, 1990; Paxton, 2000; Cortopassi-Laurino, 2007; Santos *et al.*, 2014b).

Geralmente, esses machos são observados parados em determinado ponto ou sobrevoando as proximidades da entrada da colônia (Roubik, 1990; Von Zuben, 2017). Conforme a espécie, os agregados podem ser pequenos, constituídos de algumas dezenas de indivíduos, ou bastante numerosos, chegando a ter milhares de machos envolvidos (Fierro *et al.*, 2011; Bänziger; Khamyotchai, 2014; Grüter, 2020). Assim, pode ocorrer inclusive de os

mesmos indivíduos permanecerem visitando um mesmo agregado específico durante alguns dias. Depois de ocorrido o acasalamento, as agregações tanto podem se desfazer rapidamente, quanto, a depender da situação, podem persistir por mais algum tempo, ainda que a rainha já tenha acasalado (Kerr *et al.*, 1962; Cortopassi-Laurino, 2007; Galindo López; Kraus, 2009; Fierro *et al.*, 2011; Koffler *et al.*, 2016).

Ao selecionarem seus parceiros, as rainhas virgens podem lutar contra os machos que, possivelmente, são menos aptos, até se mostrarem receptivas a outros que serão de fato bem-sucedidos ao acasalar com elas. Os machos, por sua vez, podem demonstrar mais atratividade por fêmeas com maior aptidão reprodutiva, mediados pela influência de feromônios sexuais (Grüter, 2020; Smith, 2020). Tais proposições corroboram com o fato de que, na maioria dos casos observados, a rainha acasala apenas uma vez, ou seja, o sêmen armazenado para a produção de ovos em toda a sua vida será proveniente de um único macho. Em relação aos machos, estes não conseguem copular mais do que uma vez, já que perdem a genitália após o acasalamento, culminando em sua morte pouco tempo depois (Engels; Imperatriz-Fonseca, 1990; Veiga *et al.*, 2018; Smith, 2020).

#### **1.4. Importância dos meliponíneos: ecológica, econômica e social**

Não é de hoje que o convívio junto às abelhas sem ferrão é uma prática recorrente. Em tempos mais remotos, tal atividade já era realizada de forma intensiva e em larga escala pela civilização Maia desde a era pré-colombiana, aproximadamente em meados dos últimos 1700-2000 anos (Crane, 1992; Žralka *et al.*, 2014, 2018; Quezada-Euán, 2018). Nesse contexto, os meliponíneos também eram considerados seres sagrados e importantes no que se refere à cosmologia e mitologia, a exemplo da espécie *Melipona beecheii*, a qual tem um longo histórico de, na cultura Maia, ter sido tradicionalmente cultuada como uma divindade, sendo chamadas por “Xunan kab” ou “abelha-jovem”, e o mel produzido por elas era visto como um produto sagrado (Cortopassi-Laurino *et al.*, 2006; Carvalho *et al.*, 2018; Quezada-Euán, 2018; Quezada-Euán *et al.*, 2018; Žralka *et al.*, 2018).

Já no Brasil, o contexto histórico que envolve as primeiras criações de meliponíneos está fortemente ligado às comunidades Kayapó, que habitam majoritariamente a região amazônica. Estas já foram responsáveis por ajudar a nomear e classificar em torno de 34 espécies de abelhas sem ferrão, dentre as quais nove se tornaram conhecidas como manejáveis ou semi-domesticadas (Posey; Camargo, 1985; Camargo; Posey, 1990; Cortopassi-Laurino *et al.*, 2006). Era um forte costume desses povos que alguns dos

produtos meliponícolas, tais como mel, cerume e resina, fossem utilizados tanto para fins medicinais quanto em cerimônias religiosas. Além disso, os Kayapó também costumavam cultivar espécies botânicas as quais observavam ser mais atrativas para os meliponíneos, reforçando a ideia de que estes aparentavam estar cientes da ação dessas abelhas na polinização de culturas agrícolas (Cortopassi-Laurino *et al.*, 2006; Slaa *et al.*, 2006).

Com o passar do tempo, a relevância dos meliponíneos no viés ambiental, econômico e social tem ganhado notável destaque, especialmente nas últimas décadas. Diante disso, a meliponicultura, nome dado à criação racional de abelhas sem ferrão por Nogueira-Neto (1953), vem sendo colocada a cada dia mais em evidência. Essa atividade, cujas características podem variar de acordo com conhecimento tradicional da região, é considerada um dos pontos chave para o desenvolvimento sustentável, pois tem potencial promissor de melhorar a qualidade de vida de comunidades nativas através do consumo e venda dos produtos obtidos pelos criadores, denominados de meliponicultores (Cortopassi-Laurino *et al.*, 2006; Quezada-Euán *et al.*, 2018; Félix; Freitas, 2021).

Aliado a isso, a renda adicional adquirida com a venda de produtos meliponícolas se torna um incentivo para reduzir a necessidade de explorar outros recursos naturais, o que ajuda a aumentar o entendimento sobre a importância de preservar os locais onde essas abelhas fazem seus ninhos e buscam fontes de alimento. Além da obtenção do mel, pólen, cerume e resina como importantes fontes de renda, há também o aluguel e venda de colônias para o uso a favor da polinização agrícola (Cortopassi-Laurino *et al.*, 2006; Slaa *et al.*, 2006; Jaffé *et al.*, 2015).

Ainda nesse sentido, os meliponíneos possuem importante papel na produção de alimentos, sendo vistas como alternativa para suprir a demanda progressiva por polinização e compensar o declínio nas populações de outras espécies, a exemplo da conhecida abelha africanizada (*Apis mellifera*) e, dessa forma, garantir visitantes florais complementares para polinizar mais eficientemente os variados tipos de cultivos agrícolas (Kearns *et al.*, 1998; Aizen; Harder, 2009; Brown; Paxton, 2009; Garibaldi *et al.*, 2013; Eleutério *et al.*, 2024; Parente *et al.*, 2024; Rocha *et al.*, 2024). Além disso, elas também atuam como agentes de manutenção da biodiversidade, pois são nativas de variadas regiões tropicais e subtropicais e possuem relação muito particular com as condições ambientais e espécies de plantas desses locais, evidenciando a alta capacidade de adaptação desses insetos, tornando-os polinizadores essenciais à flora nativa (Roubik, 1992; Slaa *et al.*, 2006; Jaffé *et al.*, 2015).

### 1.5. Entraves na meliponicultura

Embora a meliponicultura se mostre como uma atividade vantajosa e promissora, tanto na obtenção dos produtos das abelhas em ferrão quanto ao seu uso na polinização e como ferramenta de conservação, esta enfrenta entraves consideráveis que dificultam sua consolidação como uma prática comercial (Meneses, 2016). A exemplo disso, há a problemática sobre as perspectivas futuras para essa atividade, já que é observada certa dificuldade de perpetuar o interesse pela criação tradicional em novas gerações, principalmente em relação aos filhos de produtores rurais, bem como há uma carência no repasse de informações (Barbieri, 2018; Reyes-González *et al.*, 2020). Ademais, há outras principais limitações nesse quesito, destacando-se não somente a domesticação das espécies, mas também a multiplicação assistida e, conseqüentemente, a produção de novas colônias em larga escala (Slaa *et al.*, 2006; Meneses, 2016; Eleutério *et al.*, 2022).

No que se refere à domesticação, esta é considerada um grande desafio para a criação adequada dos meliponíneos, uma vez que a diversidade de espécies é muito ampla e cada uma destas possui aspectos em sua biologia e comportamento muito particulares entre si. Tal fato se mostra como fator limitante no desenvolvimento de um conjunto de técnicas de manejo compatíveis a cada espécie, ampliando, dessa forma, a demanda de um conhecimento mais aprofundado diante da pluralidade de abelhas sem ferrão existente, principalmente quanto aos seus diferentes aspectos reprodutivos (Meneses, 2016; Vollet-Neto *et al.*, 2018; Eleutério *et al.*, 2024; Rocha *et al.*, 2024).

O manejo para a produção de colônias na meliponicultura engloba práticas que, nos dias de hoje, são muito propagadas entre os criadores. Nesse sentido, a multiplicação artificial de enxames deve atuar como ferramenta de conservação dos meliponíneos, visto que o intuito é formar colônias filhas a partir de matrizes já contidas no meliponário, previamente obtidas por meio da compra regulamentada ou do resgate de colônias em situação de risco, ou mesmo através de iscagem, dessa forma não se perpetuando a prática da retirada de ninhos em seu contexto natural (Villas-Bôas, 2018; Conama, 2020; Eleutério *et al.*, 2024; Parente *et al.*, 2024).

Mesmo com a popularização de técnicas entre os criadores, estas ainda são insuficientes e restritas a diferentes espécies para suprir a crescente demanda na produção de colônias, além do fato de que essas abelhas possuem menores taxas de reprodução por enxameação (Cortopassi-Laurino *et al.*, 2006; Menezes, 2010; Villas-Bôas, 2018). Nesse cenário, são obtidos poucos ninhos ao ano, dificultando sua criação em larga escala não

somente para produzir mel e derivados, mas também para aluguel ou venda, incluindo o uso na polinização agrícola (Eleutério *et al.*, 2024; Rocha *et al.*, 2024). Este configura um entrave de grande importância para a atividade, visto que, além da obtenção de um grande número de colônias, estas também precisam estar saudáveis e homogêneas, bem como é necessário que as rainhas tenham boa aptidão genética (Menezes, 2016).

Em vista de alcançar o objetivo de produzir um maior número de colônias, é essencial que antes de tudo ocorra a obtenção de muitas rainhas viáveis. No entanto, esse fator determinante encontra limitações, uma vez que a maioria das espécies de meliponíneos (exceto para *Melipona*) constrói realeiras e demanda uma grande quantidade de alimento para tal, implicando, assim, na produção de um baixo número de rainhas por ano (Van Veen; Sommeijer, 2000; Santos-Filho *et al.*, 2006; Grüter, 2020). Além disso, o tempo mais prolongado de amadurecimento da nova rainha dominante, o desenvolvimento mais lento das colônias-filhas, condições climáticas adversas e escassez de recursos tróficos em campo também são características de impacto relevante no processo de multiplicação artificial de enxames (Engels; Engels, 1988; Van Veen; Sommeijer, 2000; Menezes, 2010; Menezes, 2016).

Estudos recentes têm proposto técnicas alternativas a fim de amenizar esse importante entrave na etapa inicial da produção de colônias, que é a disponibilidade de rainhas virgens. Dentre estes, destacam-se a produção em maior escala dessas fêmeas reprodutivas pelo método *in vitro* (Prato, 2010; Menezes *et al.*, 2013; Baptistella *et al.*, 2014; Rocha *et al.*, 2024), bem como o sistema de aproveitamento de princesas, já que em condições normais a maioria destas seria morta pelas operárias no próprio ninho (Eleutério *et al.*, 2022). Ademais, visando contornar possíveis problemas acerca do voo nupcial e do retorno da rainha à colônia após esse processo, testes de acasalamento controlado têm sido estudados e, dessa forma, apontados como procedimentos que podem auxiliar não somente na compreensão dos parâmetros reprodutivos de diferentes espécies, mas também para possibilitar maiores chances de sucesso na multiplicação assistida (Vollet-Neto *et al.*, 2018; Bueno *et al.*, 2023; Eleutério *et al.*, 2024).

Diante dos avanços recentes e de grande relevância à reprodução assistida de meliponíneos, muitos aspectos relacionados ainda necessitam de investigação minuciosa. Além de serem testados e adaptados a diferentes espécies, tais métodos alternativos devem levar em consideração questões preliminares importantes na multiplicação artificial de enxames, a exemplo da aceitação das rainhas virgens recém-emergidas pelas operárias e suas interações comportamentais, além de questões fisiológicas e/ou condições externas ao ninho

que podem interferir no sucesso do voo de acasalamento (Menezes, 2010; Prato, 2010; Menezes, 2016; Veiga *et al.*, 2017; Eleutério *et al.*, 2024). É fundamental também que essas informações possam ser propagadas de forma adequada para que sirvam de ferramentas úteis aos criadores em contextos diversos, dado os entraves aqui mencionados para a expansão da meliponicultura.

### 1.6. Gênero *Plebeia*

O gênero *Plebeia* (Schwarz, 1938) é caracterizado como o grupo mais antigo conhecido dentre os meliponíneos, juntamente ao *Protoplebeia*, tendo como base registros fósseis preservados em âmbar, datados de aproximadamente 25 a 40 milhões de anos atrás. Estudos mostram que a origem e distribuição do gênero em questão tiveram seu ponto de partida na porção sudeste do Brasil (Camargo; Wittmann, 1989; Poinar, 1994). Por se tratar de um grupo composto por abelhas de pequeno porte com ampla distribuição Neotropical, bem como por sua morfologia primitiva em relação a outros gêneros e variada riqueza comportamental, tais indivíduos são considerados modelos de estudo importantes tanto no viés da evolução social dos meliponíneos, quanto em parâmetros relacionados à genética, sistemática e taxonomia (Van Benthem *et al.*, 1995; Francisco *et al.*, 2013; Alvarez *et al.*, 2016; Werneck, 2016).

Tal gênero mostra distribuição bastante diversificada por toda a faixa Neotropical do continente americano, com registros de ocorrência concentrados desde a região sul do México até a porção norte da Argentina, totalizando 47 espécies válidas até o momento, ao passo que, somente no Brasil, já se tem registro que 17 dessas espécies podem ser encontradas (Nogueira, 2023). Caracterizado como um grupo de meliponíneos de pequeno porte, as *Plebeia* podem apresentar tamanho variável entre 3 e 6 mm, além do que, salvo raras exceções, são consideradas espécies mansas, rústicas e de manejo simplificado, o que contribui para que sua criação tenha se tornado tão popular entre os meliponicultores, comumente para a produção de mel (Michener, 2007; Witter *et al.*, 2007; Jaffé *et al.*, 2015; Parente *et al.*, 2024).

Das espécies desse gênero que são mais populares no Nordeste brasileiro, a *Plebeia flavocincta* (Cockerell, 1912) é considerada uma das mais relevantes, isso devido ao fato de esta ser nativa da região, apresentando distribuição restrita a essa localidade, principalmente no que se refere às áreas de clima semiárido. Embora as colônias dessa espécie produzam mel em menor escala, tal produto é caracterizado como de alto valor agregado em razão de

sua importância no uso alimentício e medicinal por diversas comunidades locais (Silva *et al.*, 2015; Potts *et al.*, 2016; Maia *et al.*, 2020; Maia *et al.*, 2022).

Ademais, as *P. flavocincta* possuem alta capacidade de adaptação a variadas condições ambientais e ecológicas, além de serem notáveis agentes polinizadores. Estas visitam diversas espécies vegetais nativas do semiárido e contribuem para o equilíbrio desse ecossistema, bem como atuam como indivíduos em potencial na polinização agrícola, especialmente em cultivares com flores pequenas, em áreas menores ou em cultivos protegidos, cujas condições são menos favoráveis a abelhas de maior porte (Imperatriz-Fonseca *et al.*, 2017; Ribeiro; Taura, 2019; Maia *et al.*, 2022; Parente *et al.*, 2024).

As abelhas *P. flavocincta*, muito conhecidas como “jati” ou “mosquito”, são encontradas com frequência em variados meliponários na região da Caatinga. Como consequência de sua vasta distribuição no semiárido, de serem dóceis e isso possibilitar a manipulação mais simples das colônias, sua criação foi se tornando mais difundida entre os meliponicultores, em especial para a produção de mel, pólen e própolis, bem como essa espécie é considerada como alternativa mais viável para criadores iniciantes na meliponicultura, até mesmo em áreas urbanas (Maia *et al.*, 2015; Félix; Freitas, 2021; Maia *et al.*, 2022).

Entretanto, assim como para outros meliponíneos, a adequação de criatórios racionais consolidados e regulares para tal espécie enfrenta muitos desafios, principalmente no que se refere à produção em maior escala de novas colônias através de métodos de multiplicação assistida (Meneses, 2016; Eleutério *et al.*, 2022). Apesar de ser uma espécie relativamente fácil de ser criada, é comum que meliponicultores se queixem sobre a dificuldade de multiplicar suas colônias. Isso provavelmente ocorre devido ao fato de a reprodução ser um dos aspectos ainda pouco estudados para *P. flavocincta*, havendo, desse modo, grande carência de estudos mais aprofundados sobre sua biologia relacionada a esse quesito, bem como acerca das técnicas de manejo reprodutivo que são mais compatíveis às peculiaridades dessa espécie.

Portanto, visando contribuir com tais informações – ainda não descritas na literatura para a referida espécie – o presente estudo buscou investigar os aspectos comportamentais e reprodutivos de rainhas e machos oriundos de realeiras em *P. flavocincta* e o potencial impacto que suas peculiaridades podem representar na multiplicação natural e assistida, bem como discutir acerca das técnicas de manejo que são mais compatíveis e eficientes para a criação dessa espécie.

## 2 ASPECTOS COMPORTAMENTAIS E REPRODUTIVOS COM BASE NO MANEJO DAS RAINHAS DE *Plebeia flavocincta*

### RESUMO

Devido à carência de informações acerca das particularidades da reprodução de *Plebeia flavocinctae* o fato de essa espécie ainda ser pouco investigada a esse respeito, o presente estudo teve por objetivo ser o primeiro a investigar os aspectos relacionados à sua biologia reprodutiva. Assim, avaliaram-se os comportamentos das rainhas virgens recém-emergidas e seus efeitos sobre as operárias como primeira fase do processo de multiplicação assistida e, como etapa posterior, foram realizados testes preliminares de acasalamento controlado utilizando uma parcela dessas princesas. Tais observações demonstraram que as princesas dessa espécie exibiam mecanismos de imposição de dominância eficientes logo nas primeiras horas de vida, bem como que este possuiu relação espontânea com o processo de construção de câmaras de cerume, do qual 90,9% das princesas observadas participaram ativamente. Portanto, observou-se que as ações que levam a construção de câmaras constituíram um sistema de proteção às rainhas virgens coordenado por elas próprias, e não um “aprisionamento”, onde estas alcançavam de modo progressivo seu domínio sobre as operárias, aumentando, assim, o tempo de sobrevivência dessas fêmeas reprodutivas. Quanto aos ensaios preliminares de acasalamento controlado, embora apenas cinco rainhas virgens tenham sido utilizadas, quatro destas obtiveram êxito em formar novas colônias, com um percentual de 80% de taxa de sucesso, demonstrando ser um método promissor a ser testado com um maior número de repetições. Também se mostrou importante o contexto ambiental externo como um estímulo para definir o estabelecimento do novo ninho, considerando o momento ideal no qual os indivíduos da colônia recém-formada devem sair do confinamento em laboratório. Contudo, foi possível formar novos ninhos de *P. flavocincta* utilizando poucos recursos de colônias matrizes mediante o aproveitamento de rainhas virgens, sob o método de observação isolada em protocônias como primeira etapa da multiplicação, bem como o estudo preliminar dos eventos de cópula entre indivíduos dessa espécie se mostrou um marco inicial para que avaliações futuras e mais aprofundadas possam ser realizadas.

**Palavras-chave:** rainhas virgens; comportamentos reprodutivos; meliponicultura; multiplicação assistida; produção de colônias; acasalamento controlado.

## BEHAVIORAL AND REPRODUCTIVE ASPECTS RELATED TO QUEEN MANAGEMENT IN *Plebeia flavocincta*

### ABSTRACT

Due to the lack of information about the reproductive particularities of *Plebeia flavocincta* and the fact that little has been studied about it, the present study aims to be the first to investigate the aspects related to its reproductive biology. Therefore, the behavior of newly emerged virgin queens and their effects on workers were assessed as the first phase of the assisted multiplication process. Subsequently, preliminary controlled mating trials were carried out using a portion of these gynes. The observations reveal that the gynes of this species displayed effective dominance-imposing mechanisms within the first few hours of life. This behavior was also spontaneously associated with the construction of cerumen chambers, in which 90,9% of the observed gynes actively participated. Hence, it was observed that the actions leading to the construction of these chambers constituted a self-coordinated protection system by the virgin queens, rather than an act of “imprisonment”. Through this process, they gradually established dominance over the workers, thereby increasing the survival time of these reproductive females. About the preliminary controlled mating trials, although only five virgin queens were used, four successfully formed new colonies, resulting in an 80% success rate. This indicates a promising method to be tested with a higher number of repetitions. The external environmental context also proved to be an important factor, serving as a stimulus in determining the ideal moment for individuals from the newly formed colony to leave laboratory confinement, and establish a new nest. However, it was possible to form new *P. flavocincta* nests using minimal resources from mother colonies by using virgin queens under the method of isolated observation in protocolonies as the first step of multiplication. Additionally, the preliminary study of mating events among individuals of this species proved to be a starting point for future, more in-dept assessments to be carried out.

**Keywords:** virgin queens; reproductive behaviors; meliponiculture; assisted multiplication; colony production; controlled mating.

## 2.1. INTRODUÇÃO

O aumento da visibilidade da meliponicultura nas últimas décadas está relacionado ao seu importante papel não somente no viés econômico e social, mas também como ferramenta ecológica promissora, no que se refere à conservação das populações de meliponíneos (Cortopassi-Laurino *et al.*, 2006; Quezada-Euán *et al.*, 2018; Félix; Freitas, 2021). Embora a meliponicultura seja considerada vantajosa em diversos aspectos, esta ainda enfrenta variados entraves para ser estabelecida como atividade comercial, dentre os quais a adaptação de técnicas de domesticação compatíveis a diferentes espécies aliada ao manejo reprodutivo para a produção de novas colônias em larga escala são apontados como os fatores mais limitantes nesse quesito (Meneses, 2016; Vollet-Neto *et al.*, 2018; Eleutério *et al.*, 2024; Rocha *et al.*, 2024).

Mesmo com a atual difusão das técnicas de multiplicação entre os criadores, estas são insuficientes para suprir a grande demanda na produção de colônias, visto que o manejo reprodutivo frente à ampla gama de espécies conhecidas é considerado um grande desafio. Ademais, os métodos convencionais costumam utilizar uma quantidade considerável de recursos a partir das matrizes doadoras, podendo aumentar o risco de enfraquecimento desses ninhos, não sendo garantia de que a formação de novas colônias filhas será bem-sucedida (Cortopassi-Laurino *et al.*, 2006; Menezes, 2010; Reyes-González *et al.*, 2016; Eleutério *et al.*, 2022; Eleutério *et al.*, 2024). Diante disso, principalmente em relação à maioria das espécies de meliponíneos (exceto no gênero *Melipona*), a obtenção de um grande número de rainhas viáveis é um ponto limitante, haja vista a construção de realeiras implicar em uma quantidade considerável de alimento investida pela colônia, levando a uma baixa produção de fêmeas reprodutivas ao longo do ano (Van Veen; Sommeijer, 2000; Santos-Filho *et al.*, 2006; Grüter, 2020).

Além da problemática quanto à obtenção de poucas rainhas virgens disponíveis ao ano a partir de realeiras, a maioria dessas princesas após emergir terá o destino de ser eliminada pelas operárias diante da presença de rainha fisogástrica ativa na colônia, reforçando ainda mais tal limitação (Engels; Imperatriz-Fonseca, 1990; Imperatriz-Fonseca; Zucchi, 1995; Eleutério *et al.*, 2024). Dessa forma, a baixa disponibilidade de rainhas é caracterizada como um dos mais importantes entraves logo na etapa inicial do processo de multiplicação assistida, sendo esse um enfoque utilizado em alguns estudos recentes, os quais visam propor métodos alternativos e investigar possíveis soluções para amenizar tal dificuldade geral na criação de meliponíneos.

A exemplo disso, recentemente Eleutério *et al.* (2022), com base na produção excessiva de rainhas virgens em *Melipona subnitida*, propuseram um método de aproveitamento dessas fêmeas reprodutivas como forma de minimizar perdas logo após estas emergirem e acelerarem processo de multiplicação de colônias. Portanto, realizar o acompanhamento individual das princesas recém-emergidas para que possam expressar seus comportamentos de dominância antes de serem eliminadas, bem como ambientá-las aos poucos a pequenos grupos de operárias jovens, demonstrou ser um procedimento eficiente em otimizar o processo inicial de multiplicação. Desse modo, no caso da ampla gama de espécies que produz um baixo número de rainhas ao ano, tal técnica também poderia ser adaptada e testada para investigar suas particularidades, assim como para avaliar se esse método é promissor na tentativa de prolongar ao máximo possível a sobrevivência das princesas nessa etapa preliminar.

No decorrer da formação de novas colônias, depois de observada a aceitação das rainhas virgens por parte das operárias, a etapa do voo nupcial também consiste em um viés determinante para a continuidade do processo. Diante disso, podem ocorrer problemas durante e após o acasalamento, principalmente em virtude do risco que as fêmeas correm de não retornarem ao ninho, assim ressaltando mais uma vez o entrave relacionado à perda destas. Portanto, a fim de contornar possíveis adversidades durante essa fase do ciclo de vida das princesas, o acasalamento controlado é apontado como um método alternativo para tal, podendo dessa forma ser uma ferramenta para melhor compreender os requerimentos reprodutivos de variadas espécies, bem como proporcionar maiores chances de o manejo de multiplicação assistida ser bem-sucedido (Vollet-Neto *et al.*, 2018; Bueno *et al.*, 2023; Eleutério *et al.*, 2024).

Apesar da relevante popularidade no Nordeste brasileiro e de ser bastante encontrada em diversos meliponários do semiárido, a espécie *Plebeia flavocincta* enfrenta limitações relacionadas à produção de colônias em larga escala através de métodos de multiplicação tradicionais. Em razão de haver considerável carência de informações acerca de suas particularidades reprodutivas, já que essa espécie ainda é pouco estudada, é necessário analisar mais a fundo sua biologia nesse quesito, bem como avaliar a partir disso quais técnicas de manejo reprodutivo são mais compatíveis e eficientes. Outrossim, o presente estudo objetivou investigar, de modo individualizado, os comportamentos reprodutivos das rainhas virgens de *P. flavocincta* e seus efeitos sobre as operárias como primeira etapa do processo de multiplicação assistida, assim como posteriormente realizar testes preliminares

de acasalamento controlado utilizando uma parcela das fêmeas reprodutivas monitoradas, já que ainda não há na literatura científica informações a esse respeito para a referida espécie.

## 2.2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.2.1. Local de estudo

O estudo foi conduzido no meliponário experimental do Setor de Abelhas, situado no Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Ceará (UFC) (Figura 1), no período compreendido entre abril de 2024 e janeiro de 2025, na localidade de Fortaleza - CE (03° 43' 02"S e 38° 32' 35"W; Altitude: 16 m). O município em questão possui clima Tropical Quente Subúmido (conforme a classificação de Köppen), estação chuvosa (janeiro a maio, com média pluviométrica de 1378 mm) e seca (junho a dezembro) características, bem como variação de temperatura média anual entre 26°C a 28°C (Ipece, 2024). A vegetação do referido local é caracterizada como Mata de Tabuleiro (Moro *et al.*, 2015).

Figura 1 – Meliponário experimental do Setor de Abelhas (Departamento de Zootecnia, Universidade Federal do Ceará), local onde foi conduzido o experimento.



Fonte: Ribamar Neto.

### 2.2.2. Espécie utilizada, manejo de fortalecimento das colônias e monitoramento de realeiras produzidas

A espécie adotada como modelo de estudo foi *Plebeia flavocincta* (conhecida como abelha jati ou mosquito) e os ninhos submetidos ao manejo foram oriundos do próprio meliponário do Setor de Abelhas da UFC. Para realizar a manutenção e fortalecimento das colônias do meliponário em questão, bem como estimular a produção de realeiras ao longo do período experimental, estas foram suplementadas a cada sete dias com alimentação energética (mel de *Apis mellifera* diluído em água filtrada, na proporção de 1:1) e protéica (pólen desidratado e moído de *Apis mellifera*, ou à base de um composto fermentado enriquecido com pólen fresco de meliponíneos, a depender da disponibilidade) (Figura 2). Além disso, simultaneamente às atividades de manejo semanais realizadas, também foram monitoradas as realeiras já construídas para estipular a quantidade mensal produzida.

Figura 2 – Manejo de suplementação alimentar fornecido às colônias de *Plebeia flavocincta* durante o período experimental. Mel diluído de *Apis mellifera* (a), pólen desidratado e moído de *A. mellifera* (b), composto fermentado enriquecido com pólen fresco de meliponíneos (c). Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – Ceará, 2024; 2025.



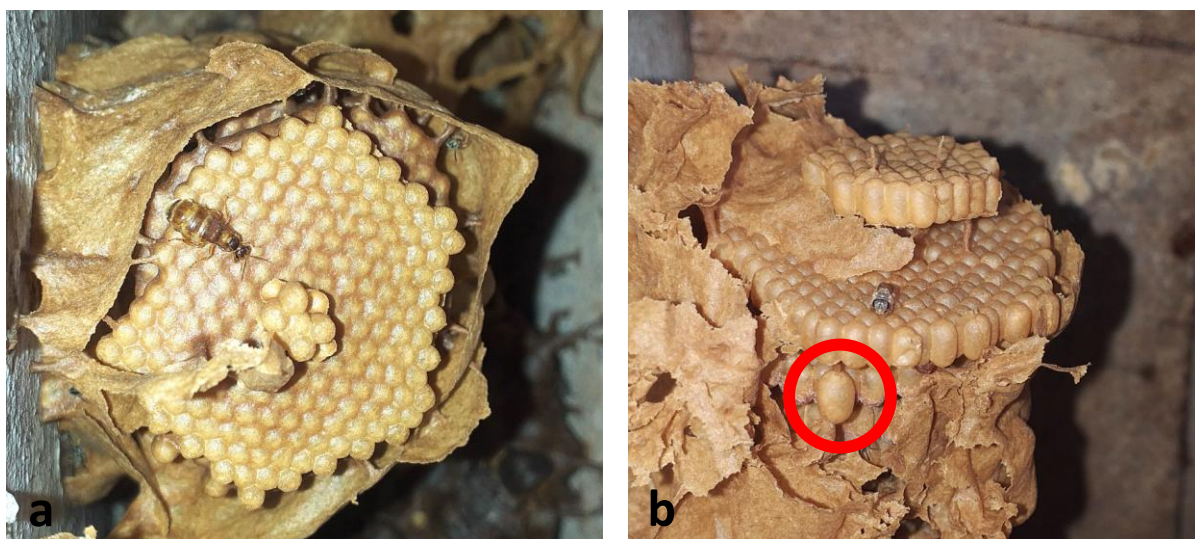
Fonte: elaborado pela autora.

### 2.2.3. Obtenção de rainhas virgens de *Plebeia flavocincta*

A fim de analisar de modo isolado o comportamento logo após emergir das rainhas virgens (ou princesas) da espécie em questão, bem como suas interações em relação às operárias que compartilhavam do mesmo espaço, era preciso obtê-las em quantidade

necessária para tal. Para isso, foram selecionadas oito colônias matrizes saudáveis (com rainha fisogástrica ativa e boa disponibilidade para ceder crias) do meliponário experimental do Setor de Abelhas da UFC para a doação de favos emergentes (os quais era possível visualizar os olhos já pigmentados das pupas) e com realeira (Figura 3a e 3b). Para evitar sobrecarregar as colônias do local de estudo, diversificar o plantel e complementar as repetições de rainhas a serem observadas, também foram recebidas doações de realeiras de meliponicultores dessa espécie em três outros meliponários situados em diferentes áreas de Fortaleza, e oriundos de outras localidades do Ceará, sendo estes ninhos um do município de Apuiarés, um de Ocara e dois de Pacatuba.

Figura 3 – Exemplo de colônia saudável de *Plebeia flavocincta*, em condições de doar favos de cria e operárias. Rainha fisogástrica ativa, bem como atividade de postura de ovos e construção de favos ocorrendo de modo constante e uniforme (a), boa quantidade de favos de cria emergentes e com realeira disponíveis (b). Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – Ceará, 2024; 2025.

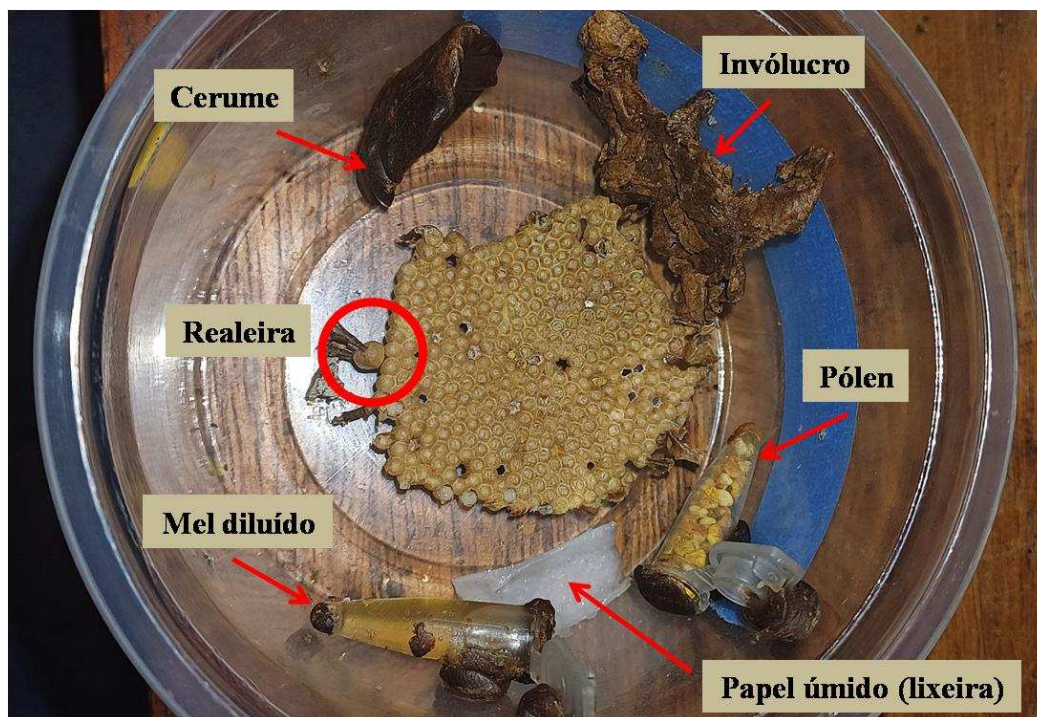


Fonte: elaborado pela autora.

Cada favo emergente com realeira coletado foi acondicionado em potes de plástico transparente (9,2 cm de diâmetro x 6 cm de altura) junto a uma quantidade inicial de 15 a 20 operárias jovens (recém emergidas e/ou aquelas encontradas na superfície dos favos de cria), provendo, assim, indivíduos para realizarem atividades de limpeza, manutenção e cuidado à rainha que estava prestes a emergir. Tal quantidade de operárias também foi sendo adicionada diariamente durante todo o período em que as rainhas, após emergirem, permaneceram acondicionadas dessa forma. Também foram adicionados alguns elementos

para tornar tal microambiente sensorial mais similar possível ao natural, sendo estes alguns pedaços de invólucro e discos moldados com cerume bruto de meliponíneos, ambos retirados das colônias do plantel dessa espécie. Em acréscimo, todos os potes receberam dois tubos Eppendorf® de 0.5 mL, um com alimento energético (mel diluído de *Apis mellifera*) e o outro protéico (pólen desidratado ou fermentado) à vontade, bem como foi destinada uma pequena área com papel toalha umedecido para o acúmulo de lixo pelas abelhas (Figura 4).

Figura 4 – Protocolônia montada com os seus devidos elementos para as observações comportamentais das rainhas virgens de *Plebeia flavocincta*, com destaque para a realeira circulada em vermelho. Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – Ceará, 2024; 2025.



Fonte: elaborado pela autora.

Com as protocolônias (termo utilizado com base na adaptação aqui feita a partir do método proposto por Eleutério *et al.*, 2022) já montadas nos potes, estes foram armazenados em estufa artesanal com lâmpada vermelha de 15W do próprio laboratório experimental, a fim de assegurar maior conforto térmico às crias e protegê-las da luminosidade excessiva, assim como um termo-higrômetro digital de modelo MT-241, Minipa® foi acoplado para o controle da temperatura e umidade. Após a realização desse procedimento, a estufa foi monitorada diariamente, durante os períodos da manhã e da tarde, com o intuito de aguardar

as rainhas virgens e os demais indivíduos emergirem e, dessa maneira, dar início aos registros das observações comportamentais. Ao todo, foram montadas 26 protocolônias, considerando a quantidade total de realeiras coletadas e observadas ( $n = 24$ ), bem como as rainhas em miniatura emergidas ( $n = 2$ ), também incluídas nas observações comportamentais.

#### **2.2.4. Observações comportamentais das rainhas virgens de *Plebeia flavocincta***

As análises comportamentais foram iniciadas a partir do momento em que as rainhas virgens já haviam emergido das realeiras, sendo conduzidas do primeiro ao quinto dia de vida destas, onde cada protocolônia era retirada da estufa e levada a um laboratório escuro para tal, com o auxílio de uma luminária sob luz vermelha. Dessa forma, após a constatação da emergência desses indivíduos, as observações foram realizadas durante cinco minutos a cada hora registrada ao longo do dia. Todo esse procedimento foi documentado em vídeos a cada hora observada, utilizando câmera de celular em modo macro do modelo Samsung® Galaxy A34 (Figura 5a). De modo a facilitar a visualização do observador e os registros, os potes de plástico permaneciam vedados com uma lâmina de vidro durante todo esse período (Figura 5b).

Figura 5 – Procedimento de observação e registros comportamentais de rainhas virgens de *Plebeia flavocincta* após emergirem. Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – Ceará, 2024; 2025.



Fonte: elaborado pela autora.

Para investigar as interações que as rainhas virgens manifestavam logo após emergirem em relação às operárias dentro do intervalo de dias estipulado, foram enumeradas as ações típicas mais recorrentes relacionadas à dominância no formato de um etograma. Por meio disso, a contabilização da frequência dos comportamentos foi feita com base em cada vídeo gravado, com o auxílio de um contador manual analógico de quatro dígitos. A esse respeito, com base na literatura científica, dez comportamentos de dominância foram levados em consideração para o método de observação das rainhas virgens em questão, tal qual uma espécie de etograma (Tabela 1).

Tabela 1 – Modelo de etograma com os respectivos comportamentos de dominância considerados para as avaliações comportamentais das rainhas virgens de *Plebeia flavocincta*. Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – Ceará, 2024; 2025.

Identificação da rainha virgem:		Dia de observação:	
Comportamentos de dominância das rainhas virgens	Códigos	Frequência contabilizada	
Caminhar vigorosamente pela área da protocolônia	CVA		
Abrir, fechar e vibrar as asas	AFAS		
Vibrar e/ou girar o abdômen	VGA		
Movimentos rápidos de giro em torno de si mesma	MGIR		
Interações de trofalaxia com as operárias	TRFX		
Contato entre antenas em relação às operárias	ANT		
Repelir operárias para longe (com as pernas e/ou abdômen)	ALREP		
Esfregar o abdômen contra a cabeça das operárias	ESFAB		
Caminhar sobre as operárias	CAM		
Manipular cerume (arrancar com as mandíbulas, retirar de um lugar e depositar em outro, moldar, etc.)	CERMAN		

Fonte: elaborada pela autora.

### 2.2.5. Aproveitamento das rainhas virgens observadas: testes preliminares de acasalamento livre e controlado

A primeira etapa de aproveitamento das rainhas observadas para a formação de novas colônias foi conduzida no meliponário experimental do Setor de Abelhas da UFC, no período entre abril a agosto de 2024, a qual consistiu em liberar essas fêmeas reprodutivas para acasalarem a céu aberto, conforme observado em contexto natural, seguindo métodos já relatados na literatura em estudos realizados anteriormente com rainhas de outras espécies de meliponíneos (Menezes, 2010; Eleutério *et al.*, 2022; Rocha *et al.*, 2024). Nesse sentido, um total de seis rainhas virgens foi destinado aos testes de acasalamento livre, em que cada uma foi marcada no tórax com canetas à base de água do tipo Posca Uni-ball® em cores sortidas (Figura 7) e depois transferidas para caixa racional modelo INPA (ninho e sobreninho: 8x8x5 cm; melgueira: 8x8x3cm) junto às operárias que a haviam aceitado

previamente em suas respectivas protocolônias no decorrer da primeira fase do experimento, bem como alimento energético (mel diluído de *Apis mellifera*) e protéico (pólen desidratado ou fermentado de *A. mellifera* ou de meliponíneos) à vontade (Figura 8). Também foram disponibilizados fragmentos de cerume bruto e certa quantidade de operárias jovens para manter a população da nova colônia, reforçando, assim, indivíduos em quantidade para o cuidado à nova rainha e manutenção do ninho.

No entanto, após detectado o recorrente fracasso dessas rainhas virgens expostas à cópula em ambiente livre ao retornarem aos ninhos manejados, as quais três foram vistas mortas na caixa, bem como as outras três nem sequer chegaram a ser encontradas dentro dos ninhos racionais desde que saíram para o voo, a partir de então fez-se necessário aplicar outro tratamento para testar a fecundação dessas fêmeas reprodutivas. Sob tal perspectiva, a fim de contornar essas intercorrências em relação às rainhas durante o voo de cópula a céu aberto e dar continuidade aos estudos de comportamento, foi conduzida uma segunda etapa direcionada à produção de novas colônias, dessa vez relacionada ao acasalamento em ambiente controlado. Tal procedimento também foi realizado no meliponário experimental do Setor de Abelhas da UFC, no período compreendido entre setembro de 2024 a janeiro de 2025 e, ao todo, houve disponibilidade de serem testadas cinco rainhas virgens.

Para iniciar o processo, cerca de 10 a 15 machos eram liberados dentro de um pequeno núcleo de madeira (8 x 8 x 5 cm) forrado na parte interna com papel sulfite branco, de modo a gerar melhor contraste nos registros em vídeo e facilitar as observações (Figura 6a). Vale ressaltar que não foram observadas agregações de machos dessa espécie nas proximidades da área experimental nesse período, portanto, para o experimento os machos foram coletados diretamente de colônias variadas do meliponário em questão, considerando apenas os ninhos que não tivessem relação com a origem da rainha a ser testada. Como através desse método de captura não foi possível ter certeza sobre a idade dos machos, foram seguidos alguns critérios, geralmente, indicativos de maturidade para a escolha destes durante a coleta, tais quais pigmentação mais escura da cutícula, bem como a alta reatividade na presença de luz, manifestada pela agitação e ímpeto de voo quando as colônias eram abertas.

Quanto às rainhas, passados os seus primeiros cinco dias de vida, após a fase de registros comportamentais e a constatação de que elas haviam sido aceitas pelas operárias nos potes de observação (protocolônias), cada uma destas foi capturada manualmente e introduzida individualmente em seus respectivos núcleos de cópula para a exposição à quantidade demachos selecionada, os quais já estavam no recipiente. Durante os testes, para

manter os indivíduos confinados e permitir a entrada de luz, o núcleo permanecia vedado com lâminas de vidro. Após montado o núcleo de acasalamento com os referidos indivíduos, o recipiente era conduzido ao ambiente externo para que fossem feitos os registros comportamentais de cópula. Desse modo, os testes eram realizados sempre sob a luz natural e prioritariamente durante os horários de sol mais pleno do dia, conforme previsto em literatura, entre 10 e 14h (Vollet-Neto *et al.*, 2018).

Todos os eventos comportamentais durante essa etapa também foram registrados utilizando câmera de celular em modo macro do modelo Samsung ® Galaxy A34 (Figura 6b). Quanto ao tempo de exposição, uma vez detectado que a rainha virgem testada foi dominada por determinado macho através da monta e, em seguida, ela aceitou a cópula, esta era retirada do recipiente e conduzida a um estereomicroscópio (lupa) em laboratório, com o propósito de tentar visualizar o sinal de acasalamento (genitália do macho) acoplado na porção final de seu abdômen. Durante os testes, foi observado e contabilizado o número de investidas que as princesas receberam dos machos (tentativas de monta), bem como o tempo de exposição estimado até que fosse constatada a cópula propriamente dita.

Figura 6 – Etapa experimental do acasalamento controlado de *Plebeia flavocincta* em ambiente externo. Núcleo de acasalamento utilizado para as observações (a); registros comportamentais das interações entre rainha e machos antes, durante e após a cópula (b). Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – Ceará, 2024; 2025.



Fonte: elaborado pela autora.

Em seguida da retirada das rainhas recém-acasaladas do núcleo de observação, semelhante ao que foi descrito anteriormente, cada uma destas recebia marcação no tórax com o uso de canetas à base de água do tipo Posca Uni-ball® em cores variadas, sendo depois transferidas para caixa racional modelo INPA (ninho e sobreninho: 8x8x5 cm; melgueira: 8x8x3cm) junto à sua corte de operárias que a haviam aceitado previamente nas protocolônias de observação. Além disso, tais indivíduos recebiam alimento energético (mel diluído de *Apis mellifera*) e protéico (pólen desidratado ou fermentado de *A. mellifera* ou de meliponíneos) à vontade, bem como cerume bruto e determinada quantidade de operárias jovens para reforçar a população da nova colônia e para atividades relacionadas ao cuidado à nova rainha, bem como à manutenção do ninho.

Figura 7 – Procedimento de marcação das rainhas de *Plebeia flavocincta* recém-acasaladas. Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – Ceará, 2024; 2025.



Fonte: elaborado pela autora.

Figura 8 – Transferência dos elementos da protocolônia de *Plebeia flavocincta* para caixa racional modelo INPA. Preparação da caixa com alimento (mel e pólen) e cerume (a), rainha recém-acasalada (com marcação de tinta rosa no tórax) e operárias interagindo após realizada a transferência (b). Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – Ceará, 2024; 2025.



Fonte: elaborado pela autora.

Diante disso, as colônias eram mantidas confinadas em laboratório (sem acesso livre ao ambiente) e monitoradas diariamente pela manhã e à tarde. O confinamento permanecia em um período estipulado de até 30 dias após a data do teste de acasalamento, de modo a detectarse as operárias mantinham as mesmas demonstrações de subordinação e cuidados à rainha recém-acasalada, bem como se nesse intervalo de tempo a rainha apresentaria ou não os primeiros indícios esperados de distensão abdominal (fisogastria), seguida do início da construção de células de cria. Passado esse período, caso a nova rainha e a colônia como um todo não apresentassem tais sinais, a entrada do ninho era liberada e passaria a ter acesso pleno ao ambiente externo.

### **2.2.6. Análises estatísticas**

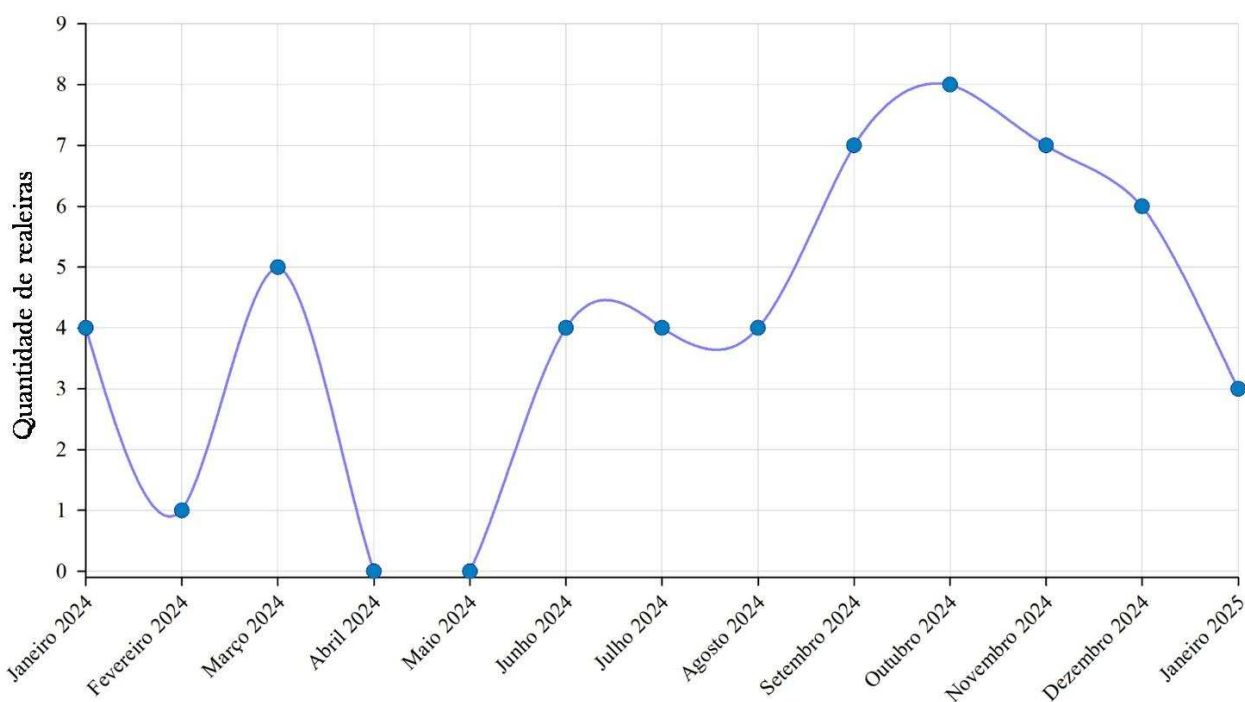
Para diminuir a distorção dos dados comportamentais referentes às rainhas virgens, foi optado por transformá-los por meio de raiz quadrada (Osborne, 2002). Posteriormente, o teste não-paramétrico de Wilcoxon foi utilizado para comparar as médias das variáveis comportamentais das rainhas em função dos dias de observação (Wilcox; Tian, 2011). Adicionalmente, a análise de componentes principais (PCA) foi realizada para analisar de forma exploratória a relação entre as variáveis e os dias de observação. Antes, os dados foram submetidos a de Kaiser-Meyer-Olkin (KMO) para determinar se eram adequados à PCA (Kaiser, 1970). Uma vez que o valor do critério de KMO foi acima de 0,60 (0,70), foi dada continuidade na análise (Shrestha, 2021). O critério de Kaiser foi utilizado para a escolha dos componentes que seriam plotados no gráfico (Shrestha, 2021). Todas as análises foram processadas por meio do *Software* RStudio (Posit Team, 2025), utilizando os pacotes *psych*, *ggpubr* e *ggplot2* (Wickham, 2016; Kassambara, 2023; Revelle, 2025; R CORETEAM, 2025).

## **2.3. RESULTADOS**

No decorrer do manejo semanal realizado nas colônias de *P. flavocincta*, foi contabilizado o total de 53 realeiras produzidas ao longo de todo o ano experimental, com um número mais expressivo entre os meses de setembro, outubro e novembro, os quais coincidem com o período seco típico da região (Figura 9). Do total de realeiras contabilizadas, 24 foram coletadas ao longo do ano experimental para dar seguimento às

observações comportamentais das futuras rainhas virgens. A partir do monitoramento laboratorial de protocolônias em estufa, das 24 realeiras foram coletadas, foi contabilizada a ocorrência de 11 rainhas virgens (45,83%) e 13 machos gigantes (54,16%). Entretanto, do total de rainhas virgens oriundas das realeiras monitoradas, apenas duas não chegaram a emergir nas protocolônias, devido ao fato de ter sido constatada a sua morte ainda dentro das realeiras e, dessa forma, as outras nove fêmeas restantes que emergiram normalmente dessas células reais foram as de fato consideradas para os registros comportamentais.

Figura 9 – Produção mensal de realeiras em oito colônias manejadas de *Plebeia flavocincta* ao longo do ano experimental (janeiro de 2024 a janeiro de 2025) no Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – Ceará.



Fonte: elaborado pela autora.

Ademais, por meio do mesmo método de monitoramento, também foi constatada a emergência de duas rainhas virgens em miniatura (oriundas de células regulares aleatórias em alguns dos favos de cria doados para as protocolônias de observação), as quais também foram incluídas nos registros comportamentais (Figura 10). Dessa forma, o número total de rainhas virgens emergidas e consideradas para a metodologia de observação comportamental, incluindo as de tamanho normal ( $n = 9$ ) e as em miniatura ( $n = 2$ ), foi de 11

fêmeas reprodutivas monitoradas. A respeito dessas duas rainhas em miniatura consideradas para as observações, estas não apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) de comportamento em relação às demais fêmeas de tamanho normal, não tendo havido, portanto, diferença na abordagem dos seus dados em relação aos demais indivíduos.

Figura 10 – Rainhas virgens de *Plebeia flavocincta* de duas categorias distintas produzidas: à esquerda, com marcação amarela no tórax, uma rainha em miniatura (emergida de uma célula regular); à direita, uma rainha de tamanho normal (oriunda de realeira). Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – Ceará, 2024; 2025.



Fonte: elaborado pela autora.

Os registros comportamentais das princesas de *P. flavocincta* durante o presente estudo não somente demonstraram que as elas já impunham demonstrações de dominância marcantes sobre as operárias logo após emergirem, como foi observado que a maioria expressiva das 11 fêmeas reprodutivas monitoradas (90,9%) apresentou comportamentos espontâneos relacionados à construção de câmaras de cerume ou de “aprisionamento”. No que diz respeito a tais comportamentos, tanto as rainhas de tamanho normal quanto as em

miniatura, além da demonstração de alta atratividade ao emergirem, desde o primeiro momento elas realizavam excursões prolongadas ao caminhar vigorosamente em círculos por toda a protocolônia. Durante esse percurso, diversas operárias direcionavam investidas agressivas às rainhas, entretanto, estas revidavam por meio de variadas ações marcantes de dominância, principalmente utilizando-se de giros rápidos para se esquivar dos ataques e de movimentos bruscos com o abdômen, repelindo-as para longe.

Por fim, após um curto período de tempo pós-emergência, as rainhas posicionavam-se em dado ponto junto a um pequeno grupo de operárias, que já não agiam mais de modo hostil. Dessa forma, notou-se que as princesas dessa espécie por si mesmas iam em direção ao cerume disponibilizado na protocolônia e o coletavam aos poucos, auxiliadas por sua diminuta corte de indivíduos, manipulando-o com as mandíbulas, dando início à delimitação de uma estrutura circular, construída em formato de anel (Figura 11a). Conforme o andamento da construção (Figura 11b, 11c, 11d), as fêmeas reprodutivas permaneciam bastante agitadas, quando também os comportamentos de vibrações e giros abdominais, esfregar o abdômen contra as operárias, bem como abrir, fechar e vibrar as asas eram exibidos com intensidade considerável.

O total de recursos visuais de mídia registrados para todas as rainhas observadas no decorrer do estudo consistiu em 22 horas de conteúdo gravado. Entretanto, apesar de o número total de rainhas virgens submetidas ao monitoramento das observações comportamentais em questão ter sido de 11 fêmeas reprodutivas, ao final do experimento somente nove destas foram consideradas para as análises estatísticas, visto que apresentaram uma padronização de registros mais uniforme entre si e adequada à metodologia utilizada, de modo que não interferisse na precisão geral dos dados coletados. Dessa forma, as duas rainhas virgens restantes não puderam ser incluídas nas análises estatísticas: uma delas foi retirada prematura da realeira pelas operárias e, assim, não ter apresentou os comportamentos típicos avaliados; já a outra rainha, apesar de ter emergido normalmente e manifestado as ações de dominância esperadas, só foi possível registrá-la no seu primeiro e segundo dia de vida, já que a câmara construída por ela estava situada em um local de difícil visualização na protocolônia, o que dificultou sua observação nos demais dias e não foi possível seguir a mesma metodologia tal qual foi feito para as outras fêmeas reprodutivas monitoradas.

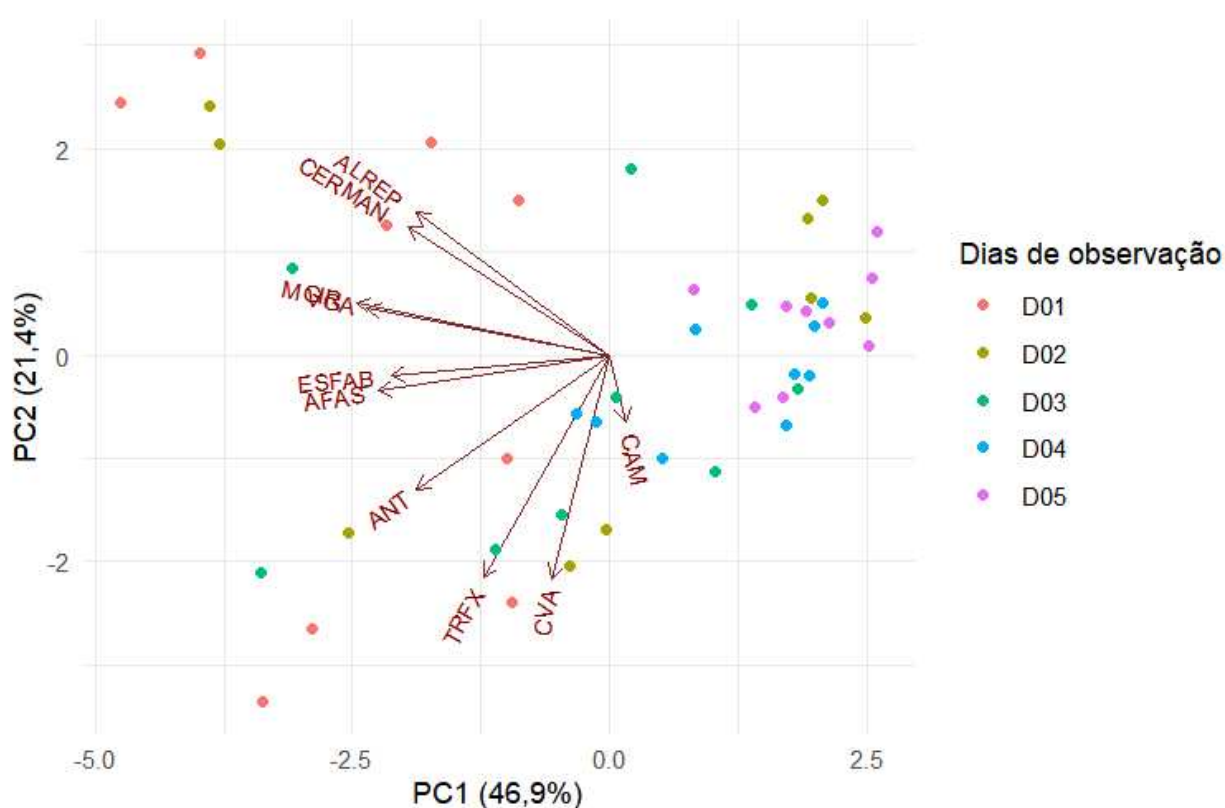
Figura 11 – Construção da câmara de proteção em *Plebeia flavocincta*. Rainha virgem iniciando a construção do círculo de cerume, auxiliada por um pequeno grupo de operárias (a). Princesa ao centro da câmara exibindo ações típicas de dominância ao bater as asas e inflar o abdômen (b) e manipular cerume (c), até que estrutura começasse a tomar uma forma mais definida (d). Câmara finalizada, sendo perceptível o orifício (ou túnel) na parte superior (e). Princesa transitando fora da câmara algumas horas após a sua finalização, estabelecendo contato com as operárias do meio externo (f). Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – Ceará, 2024; 2025.



Fonte: elaborada pela autora.

Portanto, para avaliar a progressão dos comportamentos de dominância das rainhas virgens ao longo dos cinco dias de observação, PC1 e PC2 foram plotados em gráfico Biplot (Figura 12). Nos componentes principais 1 (PC1) e 2 (PC2) foi possível explicar 46,9% e 21,4% da variabilidade dos dados, respectivamente, representando assim um total de 68,3% (Tabela 2).

Figura 12 – Gráfico Biplot contendo os componentes principais relacionados aos comportamentos de dominância das rainhas virgens de *Plebeia flavocincta*. Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – Ceará, 2024; 2025.



ALREP – repelir operárias; CERMAN – manipulação de cerume; MGIR – movimentos de giro; VGA – vibrar e girar o abdômen; ESFAB - esfregar o abdômen contra as operárias; AFAS – abrir, fechar e vibrar as asas; ANT – contato entre antenas; TRFX – interações de trofalaxia; CVA – caminhar vigorosamente pela protocolônia; CAM – caminhar sobre as operárias. Fonte: elaborado pela autora.

Tabela 2 – Matriz de escores para os comportamentos de dominância das rainhas virgens de *Plebeia flavocincta* monitoradas nos dois componentes principais selecionados (PC1 e PC2). Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – Ceará, 2024; 2025.

<b>Variáveis</b>	<b>PC1</b>	<b>PC2</b>
CVA	-0,10	-0,55
AFAS	-0,39	-0,09
VGA	-0,40	0,12
MGIR	-0,42	0,13
TRFX	-0,21	-0,55
ANT	-0,32	-0,33
ALREP	-0,32	0,35
ESFAB	-0,36	-0,05
CAM	0,03	-0,17
CERMAN	-0,34	0,32
<b>Autovalores</b>	<b>2,17</b>	<b>1,46</b>
<b>Variância (%)</b>	<b>47</b>	<b>21</b>
<b>Variância acumulada (%)</b>	<b>47</b>	<b>68</b>

CVA – caminhar vigorosamente pela protocolônia; AFAS – abrir, fechar e vibrar as asas; VGA – vibrar e girar o abdômen; MGIR – movimentos de giro; TRFX – interações de trofalaxia; ANT – contato entre antenas; ALREP – repelir operárias; ESFAB - esfregar o abdômen contra as operárias; CAM – caminhar sobre as operárias; CERMAN – manipulação de cerume. Fonte: elaborado pela autora.

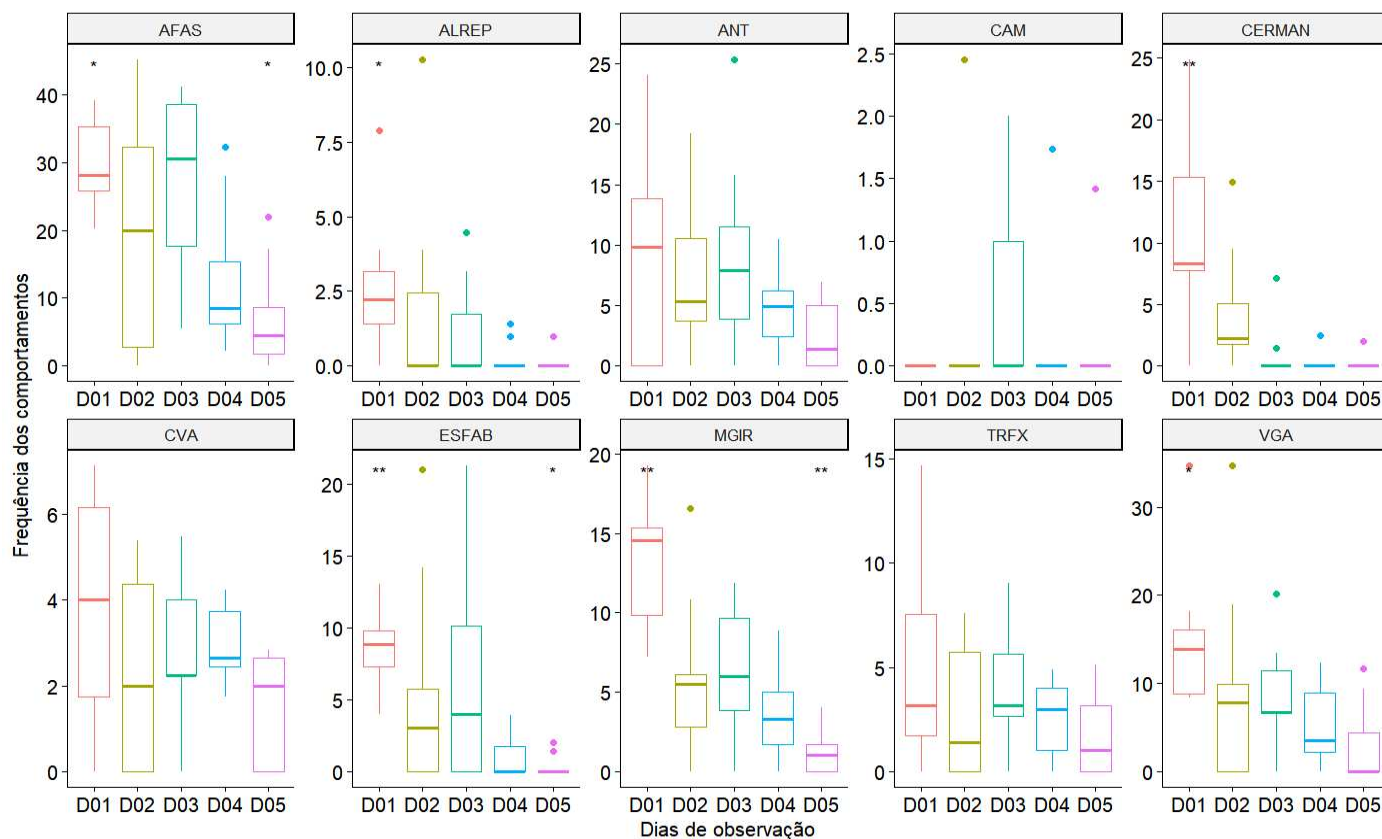
Assim, houve correlação positiva entre um conjunto de ações de dominância em dois grupamentos distintos, sendo estes o grupo 1, ALREP (repelir operárias) e CERMAN (manipulação de cerume), VGA (vibrar e girar o abdômen) e MGIR (movimentos de giro), AFAS (abrir, fechar e vibrar as asas) e ESFAB (esfregar o abdômen contra as operárias); e o grupo 2, ANT (contato entre antenas), TRFX (interações de trofalaxia) e CVA (caminhar vigorosamente pela protocolônia). Desse modo, cada um desses dois grupos mencionados esteve relacionado a diferentes estágios comportamentais das rainhas virgens ao longo dos cinco dias de monitoramento, em que o grupo 1 teve relação com o processo de construção de câmaras de cerume, marcada por demonstrações de dominância mais intensas e agressivas das rainhas logo após emergirem, e o grupo 2 com o recrutamento de operárias por parte das rainhas, quando após construído o seu território de proteção (Figura 11e), essas fêmeas reprodutivas passavam a realizar excursões mais frequentes fora da câmara e a interagir com outras operárias que ainda não haviam sido dominadas (Figura 11f). A única ação de

dominância que se mostrou menos relacionada às demais variáveis foi a de caminhar sobre as operárias (CAM).

Em relação aos dias de observação (representados pelos pontos coloridos no gráfico de PCA), notou-se forte tendência de comportamentos agonísticos das rainhas virgens associada ao dia 1 (logo após emergirem), quando essas fêmeas recrutaram de início cerca de 10% das operárias para determinado local da protocólônia, começando então a coordenar a construção da câmara de cerume a partir de tal ponto, onde essas princesas se refugiavam temporariamente. Com frequência observou-se que tais princesas saíam desse local para dominar outras novas operárias, após já iniciado anteriormente a construção, mantendo certa continuidade de tais ações nos dias 2 e 3, cuja maioria desses indivíduos presentes na protocólônia estavam ainda inicialmente dispersos e não engajados nesse processo. Em contraponto, a manifestação dessas ações de intensa agitação e agressividade das fêmeas reprodutivas diminuía consideravelmente entre os dias 4 e 5.

De acordo com as observações comportamentais das rainhas virgens para a referida espécie, houve maior intensidade de ações de dominância no primeiro dia de vida destas, ao passo que no quinto dia essas demonstrações já haviam entrado em declínio, constatações estas reafirmadas pelo teste não-paramétrico de Wilcoxon aplicado às análises (Figura 13). Nessa ótica, foi detectada diferença significativa no primeiro dia de observação relacionada aos comportamentos ALREP (repelir operárias) (D01,  $p < 0,05$ ), CERMAN (manipulação de cerume) (D01,  $p < 0,005$ ), VGA (vibrar e girar o abdômen) (D01,  $p < 0,05$ ), bem como no primeiro e no quinto dia de observação para as ações de dominância AFAS (abrir, fechar e vibrar as asas) (D01,  $p < 0,05$ ; D05,  $p < 0,05$ ), ESFAB (esfregar o abdômen contra as operárias) (D01,  $p < 0,005$ ; D05,  $p < 0,05$ ) e MGIR (movimentos de giro) (D01,  $p < 0,005$ ; D05,  $p < 0,005$ ).

Figura 13 – Gráficos em Boxplot para os valores médios da frequência dos comportamentos de dominância das rainhas virgens de *Plebeia flavocincta* conforme cada dia de observação. Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – Ceará, 2024; 2025.



Teste de Wilcoxon a  $<0,05$  (\*) e  $<0,005$  (\*\*) de significância. Fonte: elaborado pela autora.

Posteriormente às observações comportamentais e à transferência das protocolônias para as respectivas caixas racionais, no início do experimento esses ninhos tinham livre acesso ao ambiente externo para que as rainhas virgens pudessem realizar seus voos de acasalamento natural, quando lhes fossem mais convenientes. No entanto, nenhuma das seis primeiras rainhas testadas desse modo obteve êxito em retornar, ou mesmo permanecer nos ninhos após saírem em voo nupcial, representando uma falha total na produção de novas colônias por tal método tradicional de acasalamento. No entanto, as seguintes cinco rainhas virgens foram testadas de maneira diferente quando submetidas a ensaios de acasalamento controlado. Vale ressaltar que, devido à ocorrência expressiva de machos gigantes a partir de realeiras detectada na mesma época do ano a qual foram realizados os testes de cópula (mais detalhes no Capítulo 3), houve pouca disponibilidade de fêmeas reprodutivas para tais procedimentos. Portanto, a idade com a qual as fêmeas reprodutivas foram testadas em sistema controlado variou de cinco a 10 dias ( $7,20 \pm 1,90$ ) e o número de investidas dos

machos teve variação entre 16 a 51 tentativas de monta ( $33,00 \pm 13,64$ ), bem como o tempo de exposição até ser constatada a cópula variou de 3,39 a 17,59 minutos ( $8,38 \pm 5,45$ ).

No entanto, uma das cinco princesas testadas apareceu morta após alguns dias de ter sido submetida ao ensaio de acasalamento e transferida para a caixa racional, logo durante a etapa de confinamento da referida colônia em laboratório e, apesar de não haver sinal aparente de ataques por parte das operárias, também não foi possível identificar a real causa de tal perda. Dessa forma, mesmo com a pouca quantidade de rainhas virgens submetidas aos ensaios, das cinco testadas, quatro destas conseguiram ser bem-sucedidas em formar novas colônias, totalizando um percentual de 80% de taxa de sucesso, ainda que tenham sido testes preliminares.

No que se refere às etapas de desenvolvimento pós cópula, tanto das rainhas quanto da produção de crias, o tempo de confinamento teve uma variação entre cinco e 30 dias ( $17,50 \pm 14,40$ ), assim como os primeiros sinais de fisogastria foram manifestados entre dois a 13 dias ( $7,30 \pm 5,60$ ) após a liberação da colônia para ambiente externo, do mesmo modo que as primeiras tentativas de construção de células pelas operárias se deram entre um a cinco dias ( $2,00 \pm 2,00$ ) após o início da distensão abdominal das rainhas. Ademais, a construção da primeira célula definitiva variou entre cinco a 18 dias ( $12,30 \pm 6,30$ ) após a liberação da colônia para ambiente externo, bem como o primeiro favo de cria construído tendeu a ocorrer entre quatro a sete dias após o seu início ( $5,50 \pm 1,70$ ) (Tabela 3).

Tabela 3 – Valores de média e desvio padrão para cada etapa relacionada aos ensaios de acasalamento controlado entre indivíduos reprodutivos de *Plebeia flavocincta*. Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – Ceará, 2024; 2025.

	Rainhas virgens submetidas ao acasalamento controlado					Média	Desvio Padrão
	RV 7	RV 8	RV 9	RV 10	RV 12		
Idade das rainhas (em dias)	6	5	10	8	7	7,2	1,9
Confinamento (em dias, após a data do teste)	5	5	Morreu durante o confinamento	30	30	17,5	14,4
Sinais de fisogastria (em dias, após a liberação)	2	13	Não ocorreu	3	11	7,3	5,6
Tentativas de construção de células de cria (em dias, após os primeiros sinais de fisogastria)	1	1	Não ocorreu	1	5	2	2
Primeira célula definitiva (em dias, após a primeira tentativa)	6	3	Não ocorreu	2	2	3,3	1,9
Primeiro favo de cria construído (em dias, após a construção da primeira célula)	4	4	Não ocorreu	7	7	5,5	1,7

RV – rainha virgem. Fonte: elaborada pela autora.

## 2.4. DISCUSSÃO

A produção mais expressiva de realeiras em colônias manejáveis de *Plebeia flavocincta* durante o experimento, compreendida nos meses referentes ao período seco, demonstrou ter relação intrínseca com a sazonalidade da região. Desse modo, a conjuntura ambiental característica dessa época do ano é marcada pelo florescimento massivo de uma ampla variedade de espécies botânicas presentes na referida região, como o cajueiro (*Anacardium occidentale*), coqueiro (*Cocos nucifera*), mangueira (*Mangifera indica*) dentre outras, o que corrobora com um cenário de maior disponibilidade de recursos alimentares em campo (néctar e pólen), bem como de maior produção de crias nas colônias (Barbosa et

*al.*, 2020; Parente *et al.*, 2024). Por conseguinte, entende-se que há uma tendência de as condições ambientais, a depender da época do ano, atuarem como um mecanismo regulatório favorável ao fluxo externo de operárias, como também à construção e provisionamento de células para a produção constante de novas crias e, conseqüentemente, assegurar a manutenção populacional e saúde geral dos ninhos em longo prazo (Moo-Vale *et al.*, 2001; Hofstede; Sommeijer, 2006).

Desde o primeiro momento após a emergência das rainhas virgens de *P. flavocincta*, foi possível notar que estas já emergiam pigmentadas e bastante atrativas, causando impacto significativo na resposta reativa das operárias que estavam na protocolônia. A esse respeito, sabe-se que a maior pigmentação da cutícula das fêmeas reprodutivas e seu desempenho feromonal estão relacionados ao aumento de sua atratividade perante as operárias (Engels; Imperatriz-Fonseca, 1990; Imperatriz-Fonseca; Zucchi, 1995; Nogueira-Ferreira *et al.*, 2009). Ademais, introduzir gradualmente operárias jovens nas protocolônias com as respectivas rainhas virgens neste estudo se mostrou favorável a essas fêmeas reprodutivas. Tal conjuntura teve importância não somente em prolongar o tempo de sobrevivência dessas princesas até que conseguissem dominar um grupo maior de indivíduos, como também pode ter favorecido sua posterior aceitação, conforme constataram Eleutério *et al.* (2022).

Imperatriz-Fonseca e Zucchi (1995) reportaram sobre o impacto geral no comportamento da colônia causado pela alta atratividade de princesas recém-emergidas, comportamentos estes comumente associados a alguns gêneros de indivíduos “trigoniformes” (antigamente englobados na extinta tribo Trigonini), sendo o grupo *Plebeia* um dos seus principais representantes. Em acréscimo, os referidos autores também destacaram tal característica dessas rainhas virgens como crucial desde as primeiras horas de vida, tanto ao desencadear resposta imediata no comportamento das operárias, como também a nível intranidal, podendo interferir no processo de construção de células de cria, ao ponto de terem capacidade de substituir a rainha que antes já estava dominante na colônia.

Ainda nesse sentido, é sabido que as rainhas virgens atrativas recém-emergidas, em geral, além de atuarem no processo de substituição da rainha fisogástrica, também podem ter outros fins comuns, tais como integrar o processo enxameatório junto às operárias para formarem um novo ninho, ou em sua maioria serem eliminadas dentro de poucas horas. Entretanto, somente para alguns gêneros de meliponíneos, é descrito que de fato pode ocorrer um destino alternativo, no qual essas rainhas jovens podem permanecer por certo tempo em pequenos globos feitos à base de cerume, conhecidos por câmaras de

aprisionamento ou prisões reais (Juliani, 1962; Imperatriz-Fonseca; Zucchi, 1995; Roubik, 2006).

O evento de construção de câmaras de aprisionamento foi primeiramente reportado por Moure *et al.* (1958), Nogueira-Neto (1958) e Juliani (1962), que tinham a ideia de uma reclusão imposta ou forçada de princesas, onde as operárias encurralavam a rainha virgem recém-emergida e construíam ao seu redor uma estrutura de cerume que impedia sua livre locomoção, reforçando assim o sentido literal do termo “prisão”. No entanto, estudos posteriores com outras espécies propuseram as seguintes discussões a esse respeito, descrevendo princesas que aparentavam em determinadas situações ter certa autonomia durante sua permanência na câmara, podendo sair e retornar repentinamente, assim como podiam participar da construção destas, a depender da espécie (Imperatriz-Fonseca *et al.*, 1975; Engels; Imperatriz-Fonseca, 1990; Imperatriz-Fonseca; Zucchi, 1995; Nogueira-Ferreira *et al.*, 2009).

No que se refere à *Plebeia flavocincta*, Maia *et al.* (2022) mencionaram de forma breve em um único estudo publicado recentemente que é possível encontrar câmaras de cerume em ninhos dessa espécie. No entanto, até o presente momento, ainda não haviam sido observadas e descritas anteriormente as ações que levam os indivíduos dessa espécie a manifestarem tal comportamento de construção, tampouco as possíveis conseqüências disso na escolha de uma nova rainha.

Tal qual foi observado em fêmeas reprodutivas de *Plebeia flavocincta*, a notável autonomia das rainhas virgens em algumas espécies de meliponíneos em atividades de construção de câmara é discutida como um forte indício do aumento de sua maturidade sexual e desenvolvimento glandular de feromônios e, assim, conforme há incremento em sua atratividade desde a emergência, aparentemente aumenta a probabilidade de ficarem reclusas (Imperatriz-Fonseca; Zucchi, 1995; Nogueira-Ferreira *et al.*, 2009). Nesse caso, o fato de que as princesas de *P. flavocincta* por si mesmas delimitam o local onde deverá estar localizada a câmara, realizando ativamente a manipulação do cerume, bem como a demonstração de comportamentos que expressam sua atratividade e dominância, reforça a ideia de que tal processo é coordenado pelas próprias rainhas, e de que as operárias, por sua vez, são induzidas a serem suas assistentes (Imperatriz-Fonseca; Zucchi, 1995).

Outra variação da reclusão voluntária por parte de rainhas virgens foi observada por Imperatriz-Fonseca (1977) em *Paratrigona subnuda*, na qual estas ao emergirem procuravam permanecer em potes de alimento total ou parcialmente vazios (acompanhadas ou não por operárias), aparentemente até completarem seu estágio de maturidade,

manipulando cerume para controlar seu fechamento ou abertura e estabelecendo contato antenal com os indivíduos que se aproximavam. Desse modo, considerando as variações observadas entre as espécies, a interpretação de que a construção de câmara na verdade demonstra ser o estabelecimento voluntário de um território de proteção e refúgio à rainha (e não algo forçado pelas operárias) torna incoerente o usual termo “aprisionamento” (Engels; Imperatriz-Fonseca, 1990; Imperatriz-Fonseca; Zucchi, 1995).

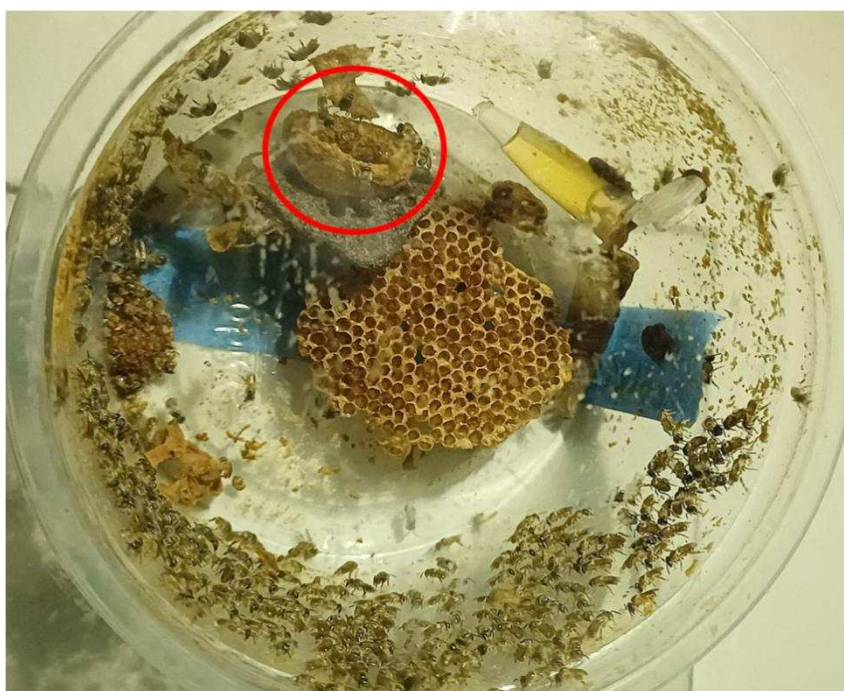
Observou-se, neste estudo, que as rainhas virgens de *P. flavocincta* possuem relação particular com o cerume, investindo, assim, boa parte do tempo na coleta e manipulação desse material disponível na protocolônia. Em relação à atividade de construção, foi notória a habilidade destas em dar forma à câmara, muitas vezes ao empurrar a própria cabeça contra as paredes de cerume, como um meio de moldar a estrutura. No entanto, durante o processo, não foi observada a produção de cera em si por parte dessas fêmeas reprodutivas, tampouco das operárias. Uma possível hipótese para tal seria que o cerume bruto disponibilizado desde a montagem das protocolônias pode ter sido suficiente para que tanto rainhas e operárias pudessem utilizá-lo na construção, evitando, desse modo, o gasto energético que seria necessário para produzi-lo. Ihering (1903), Imperatriz-Fonseca (1973) e Koedam *et al.* (2002) relataram sobre a capacidade das princesas de algumas espécies de meliponíneos em produzir cera e em construir determinadas estruturas no ninho, ressaltando não somente a funcionalidade de tais glândulas em sua anatomia, como leva a questionamentos sobre outras funções importantes que essas rainhas podem desempenhar na colônia, além da reprodução.

Enquanto a câmara tomava forma, uma parcela numerosa das demais operárias que não estavam engajadas, nesse processo, até então permanecia dispersa em outra área da protocolônia (Figura 14). Em vários momentos durante tal processo, as rainhas virgens saíam do círculo de cerume e caminhavam até as operárias dispersas, exibindo ações de dominância e estabelecendo contato com elas, como uma forma de recrutamento. É sabido que tais excursões podem estar associadas à construção de câmaras e que através disso, conforme as rainhas estabelecem contato físico com indivíduos mais distantes, elas expõem os tergitos de seu inflado abdômen e dissipam mais amplamente seus feromônios, o que como consequência infere-se que leva ao recrutamento progressivo de mais operárias (Engels; Imperatriz-Fonseca, 1990; Imperatriz-Fonseca; Zucchi, 1995).

Dessa forma, conforme as rainhas jovens de *P. flavocincta* manifestavam tais comportamentos associados ao recrutamento de indivíduos, foi perceptível que, gradativamente, cada vez mais operárias não mais agiam com agressividade e sim

demonstravam submissão a essas princesas, interagindo de modo mais intenso e recíproco através do contato entre antenas e trofalaxia, bem como passavam a participar das atividades de construção. Também foi visto na referida espécie que algumas operárias recrutadas realizavam um tipo de corte peculiar, carregando pequenos pedaços de cerume nas mandíbulas ao se aproximarem das rainhas, semelhante ao que foi observado por Imperatriz-Fonseca *et al.* (1975) em indivíduos de *Plebeia remota*.

Figura 14 – Primeiro dia de observação das rainhas virgens de *Plebeia flavocincta*. O círculo vermelho mostra a câmara sendo construída pela princesa e um pequeno grupo de operárias, enquanto ao redor da protocolônia observa-se um grande número de outras operárias não engajadas nesse processo. Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – Ceará, 2024; 2025.



Fonte: elaborada pela autora.

Em meliponíneos, o processo que leva à escolha de uma nova rainha não é definido apenas por feromônios específicos secretados por essas fêmeas e detectados pelas operárias, mas também pela capacidade de imposição da nova rainha virgem em tornar-se dominante, diferente do que ocorre em *Apis mellifera*, em que o que prevalece é a demonstração da

presença e dominância das rainhas virgens pelo viés feromonal (Free, 1987; Winston, 1987; Jarau *et al.*, 2009, 2010).

Jarau *et al.* (2009) relataram em *Melipona beecheii* a importância de as rainhas virgens se mostrarem ativas desde a emergência através de interações agonísticas como etapa inicial do estabelecimento de sua dominância, na qual a aptidão dessas rainhas jovens em uma futura substituição de rainha fisogástrica na colônia seria mensurada pela habilidade de sobreviverem às investidas agressivas das operárias. Tais informações – obtidas a partir desses estudos anteriores – corroboram com o que foi observado em rainhas virgens de *Plebeia flavocincta*, visto que elas expunham comportamentos de modo mais intenso e agressivo logo nas primeiras horas de vida (observados principalmente no dia em que emergem), o que aparentou ser um período crucial e determinante para estas consolidarem sua dominância instantaneamente sobre uma parcela das operárias.

Jarau *et al.* (2010), além de destacarem manifestações agressivas de rainhas virgens em *Melipona beecheii* como cruciais durante os três primeiros dias de vida (esbarrar nas operárias e se utilizar de movimentos abdominais para repeli-las ao longe), também observaram que, no quarto dia, estas já se mostravam mais calmas, indicando nesse momento potencial aceitação por parte das operárias. Essa última constatação corrobora com o quadro comportamental observado em rainhas jovens de *Plebeia flavocincta* no quarto e quinto dia de vida destas, as quais não mais se refugiavam nas câmaras de proteção de cerume e já não demonstravam agressividade, praticamente só interagindo através de antenas e trofalaxia e recebendo corte com maior frequência, sendo assim um indicativo de que a esse ponto a dominância geral sobre as operárias já havia se estabelecido.

Após finalizado o processo de construção do território de proteção das rainhas virgens de *P. flavocincta*, viu-se que a conformação das câmaras apresentou variações. Dessa forma, algumas foram totalmente vedadas, apenas com alguns minúsculos orifícios na superfície, e outras foram construídas mantendo uma grande abertura na lateral, como uma espécie de túnel. Tais orifícios podem ser de tamanhos variados e atuam como um canal de acesso e comunicação das princesas com o meio externo, através dos quais estas podem transitar fora da câmara em determinados momentos, ou mesmo ser alimentadas pelas operárias (Juliani, 1962; Imperatriz-Fonseca *et al.*, 1975; Imperatriz-Fonseca; Zucchi, 1995).

Para algumas princesas de *P. flavocincta* também foi observado um território diferente de proteção, no qual somente o círculo em cerume foi construído na superfície (podendo este ser somente um ou mais na mesma protocolônia), mas não a estrutura de câmara por cima (Figura 15), sendo a barreira física formada apenas pelas operárias ali

engajadas. Desse modo, observou-se que, nesse sistema de proteção “invisível”, as rainhas virgens também tinham autonomia ao entrar e sair desses círculos de cerume, sempre acompanhadas pelas operárias recrutadas para a sua construção. Terada (1974) relatou situação semelhante para *Celetrigona longicornis* e *Leurotrigona muelleri*, em que as princesas eram frequentemente circundadas por uma corte móvel de operárias, que as alimentavam e não permitiam investidas agressivas de outras operárias, ou mesmo a aproximação da rainha fisogástrica.

Figura 15 – Círculos de proteção de cerume construídos pelas rainhas e operárias de *Plebeia flavocincta* (circulados com tinta verde e enumerados ao centro). Nessa mesma protocolônia, observa-se que foram construídos ao todo cinco círculos de cerume. Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – Ceará, 2024; 2025.



Fonte: elaborada pela autora.

Os estudos anteriores que relataram comportamentos reprodutivos de rainhas virgens, especialmente no que se refere à construção de câmaras de cerume, o fizeram com base no monitoramento direto de colônias com rainha fisogástrica ativa (Juliani, 1962; Imperatriz-Fonseca *et al.*, 1975, 1977; Engels; Imperatriz-Fonseca, 1990; Drumond *et al.*, 1995; Imperatriz-Fonseca; Zucchi, 1995; Nogueira-Ferreira *et al.*, 2009). É sabido que as razões mais discutidas para explicar esse confinamento temporário de princesas, além de armazená-

las para posterior uso em uma futura substituição de rainha na colônia, seria um mecanismo de proteção dessas fêmeas recém-emergidas contra possíveis ataques de operárias, ou mesmo da rainha fisogástrica (Juliani, 1962; Imperatriz-Fonseca, 1977; Imperatriz-Fonseca; Zucchi, 1995; Drumond *et al.*, 1995; Witter *et al.*, 2007).

No entanto, o presente estudo com *P. flavocincta* se propôs a observar rainhas virgens em protocolônias confinadas em laboratório, cujo contexto é mais reduzido e isolado, com poucos elementos visuais e na ausência de outra fêmea dominante no mesmo espaço. Dessa forma, foi peculiar constatar que, mesmo sem os estímulos relacionados à presença da rainha fisogástrica que poderiam desencadear o “aprisionamento”, ainda assim as princesas junto às operárias dessa espécie manifestaram a construção de câmara como um comportamento natural. Portanto, é válido considerar nessa situação que as câmaras atuaram, de fato, como um sistema de proteção às rainhas, bem como que este demonstrou ser um potencial mecanismo destas em consolidar sua dominância sobre as operárias de forma progressiva, o que pode também ter atuado como uma estratégia, por conseguinte, de prolongar o tempo de sobrevivência dessas fêmeas reprodutivas.

No que se refere ao acasalamento dessas rainhas para fundarem suas próprias colônias, a liberação para que realizassem voos nupciais e fossem fertilizadas naturalmente a céu aberto por machos disponíveis na área não apresentou sucesso em nenhuma das tentativas, já que nenhuma das rainhas testadas obteve êxito ao retornar e permanecer em suas respectivas protocolônias de origem. De fato, o acasalamento a céu aberto tem sido reportado como um dos grandes gargalos para a multiplicação de meliponíneos em criatórios racionais, tendo em vista que o momento em que as rainhas virgens deixam o ninho em busca da cópula é considerado uma jornada arriscada e desafiadora, podendo inviabilizar seu retorno aos ninhos. Dessa forma, diversos fatores podem interferir nesse processo, tais como a incidência de predadores próximos aos meliponários e baixa disponibilidade de machos sexualmente maduros nessas áreas, bem como questões acerca da orientação das princesas durante seu percurso, onde as mesmas tanto podem se perder e não mais localizar seu ninho de origem, quanto podem tentar adentrar colônias órfãs aleatoriamente, resultando, nesse caso, em parasitismo social (Wenseleers *et al.*, 2011; Menezes *et al.*, 2013; Oystaeyen *et al.*, 2013; Eleutério *et al.*, 2022; Bueno *et al.*, 2023; Eleutério *et al.*, 2024).

Já nos ensaios de acasalamento controlado, tanto as rainhas virgens quanto os machos testados apresentaram boa aceitação e desempenho ao expressarem comportamentos de cópula em pequenos recipientes, como o núcleo de madeira que foi utilizado, e ao

contrário do que foi relatado por Camargo (1972) e Eleutério *et al.* (2024) em *Melipona quadrifasciata* e *Melipona subnitida*, respectivamente, para as quais a cópula só acontecia de fato em reservatórios mais amplos, que permitissem alçar voos. O oposto provavelmente ocorreu em *P.flavocincta* pelo fato de esta ser uma espécie que possui indivíduos de pequeno porte, podendo isso ter sido favorável para que conseguissem aproveitar o diminuto espaço disponibilizado.

A idade com a qual as rainhas de *P. flavocincta* previamente aceitas pelas operárias manifestaram estar aptas para acasalar e foram utilizadas para os testes (5° ao 10° dia pós-emergência) mostrou-se dentro do período recentemente estipulado na literatura para ensaios de acasalamento controlado em outras espécies de meliponíneos (Bueno *et al.*, 2023; Eleutério *et al.*, 2024). Tal intervalo de idade também coincidiu com período no qual as princesas geralmente podem realizar os voos de acasalamento, podendo ocorrer entre o 1° ao 14° dia de vida destas, a depender da espécie (Silva *et al.*, 1972; Vollet-Neto *et al.*, 2018). Ainda a esse respeito, Veiga *et al.* (2017), com base em suas observações, destacaram a faixa etária como uma das condições relacionadas à atratividade das rainhas virgens perante os machos, demonstrando, dessa forma, ser um importante fator que pode ser determinante para o sucesso durante a cópula desses indivíduos.

Em relação ao número de machos introduzido no ambiente experimental de cópula (10 a 15 machos), este também coincidiu com a quantidade sugerida por Veiga *et al.* (2017) e Eleutério *et al.* (2024) (em média 10 indivíduos) e, de fato, semelhante ao que foi descrito pelos referidos autores, também demonstrou ser ideal para evitar tumultuar o núcleo de acasalamento e minimizar possíveis danos às princesas durante o processo. Ainda que não tenham sido observadas agregações de machos de *P. flavocincta* ao longo do presente estudo, observou-se que os machos aparentemente mais maduros – capturados de colônias distintas e utilizados nos ensaios – não somente se mostraram ativos ao direcionarem investidas às rainhas, como foram notoriamente competitivos entre si (Figura 16), sendo estes importantes estímulos para que a cópula aconteça (Eleutério *et al.*, 2024).

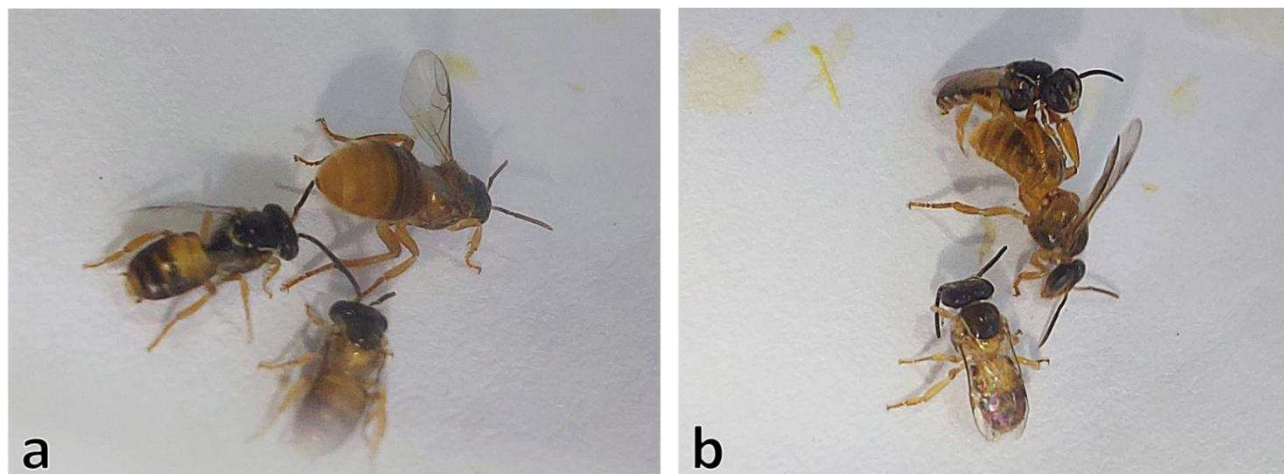
Figura 16 – Potencial competitividade entre dois machos de *Plebeia flavocincta* (um à esquerda e outro à direita) ao tentarem acasalar com a rainha virgem (ao centro). Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – Ceará, 2024; 2025.



Fonte: Epifânia Emanuela de Macêdo Rocha.

As rainhas virgens dessa espécie submetidas aos ensaios permaneceram agitadas de início e apresentaram comportamentos típicos de cópula, semelhante ao que foi descrito por Eleutério *et al.* (2024), a exemplo de movimentos abdominais (levantar e/ou girar) como forma de demonstrar sua presença (Figura 17a) e propagar feromônios, atraindo, assim, os machos dentro do núcleo. Os machos, por sua vez, também manifestaram ações características já esperadas, divididas entre interações com a rainha, principalmente as tentativas de monta (investidas) e o acasalamento propriamente dito, bem como a comunicação entre eles próprios, observado através de contato entre antenas e trofalaxia (Sommeijer *et al.*, 2003; Imperatriz-Fonseca *et al.*, 1998; Fierro *et al.*, 2011). Para que a cópula seja bem sucedida, a princesa precisa estar receptiva à tentativa de domínio dos machos quando estes buscam montar sobre ela e, dessa forma, esta levanta o abdômen e o posiciona de modo que favoreça o devido encaixe dos respectivos órgãos sexuais (Eleutério *et al.*, 2024). No entanto, muitas das investidas dos machos ao tentarem dominar as fêmeas podem não ser efetivas, sendo observado no presente estudo quando as rainhas os rejeitavam, geralmente utilizando as pernas posteriores para dificultar a monta, podendo até mesmo repeli-los para longe (Figura 17b).

Figura 17 – Demonstração de presença e consequente atratividade por parte da rainha virgem de *Plebeia flavocincta*. Movimentos de levantar e/ou girar o abdômen para atrair os machos circundantes (a); investida de um dos machos em dominar a rainha virgem através da monta, enquanto outro macho próximo se prepara para também realizar uma posterior tentativa (b). Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – Ceará, 2024; 2025.



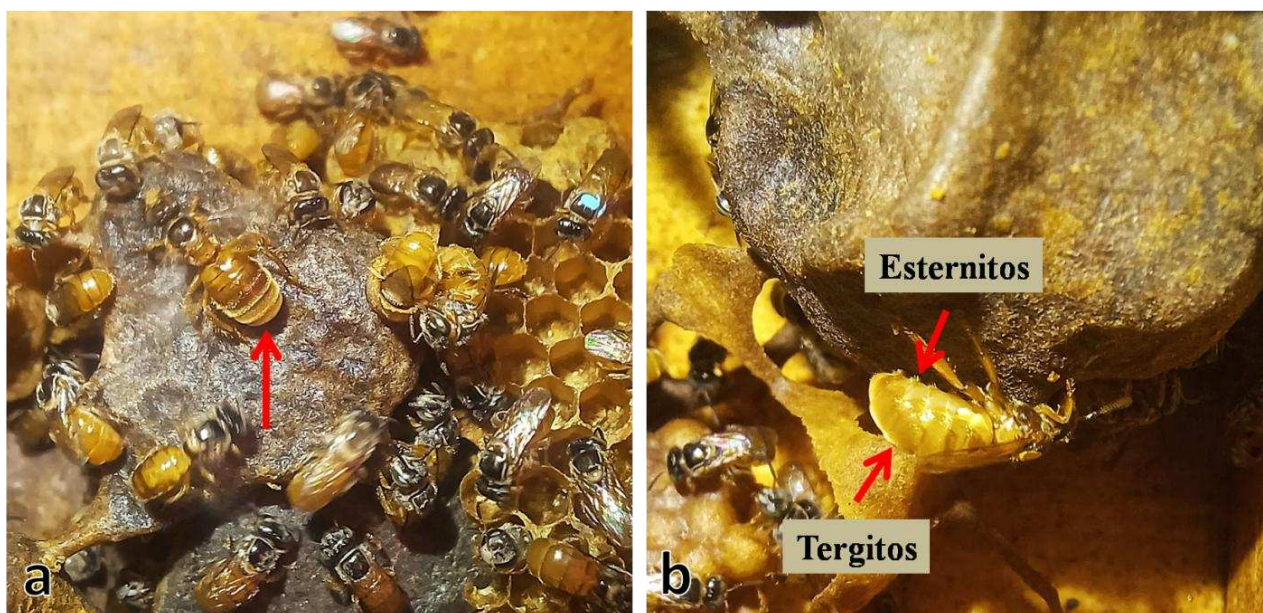
Fonte: Epifânia Emanuela de Macêdo Rocha.

Uma vez que determinado macho foi bem-sucedido no domínio da princesa, a cópula propriamente dita entre os indivíduos dessa espécie ocorreu rapidamente, em questão de poucos segundos, conforme também constataram Eleutério *et al.* (2024). Depois de concretizado o acasalamento, observou-se que as princesas não mais permitiam serem montadas pelos machos subsequentes, podendo este ter sido um indicativo que reforça o acontecimento da cópula. Embora tenham sido observados os acasalamentos no momento em que aconteceram, o pequeno tamanho dos indivíduos e falta de lupa adequada a essa característica durante o referido experimento dificultou a visualização com clareza, bem como os registros do sinal de cópula (parte da genitália deixada pelo macho após acasalar, denominada de “plugue”) na parte posterior do abdômen das rainhas recém-acasaladas.

Constatou-se uma média de 7,3 dias para as rainhas de *P. flavocincta* apresentarem os primeiros sinais de distensão abdominal (fisogastria) (Figura 18a), tempo este menor do que o observado por Bueno *et al.* (2023) em princesas de *Tetragonula carbonaria*, as quais levaram um período entre dez a 14 dias para tal. Já no que se refere ao estabelecimento das colônias geradas a partir do método de acasalamento controlado, a média de 12,3 dias para as rainhas realizarem a primeira oviposição (após a liberação do acesso da colônia ao meio externo) conforme verificado para a espécie modelo do referido estudo, coincidiu com o momento no qual elas já apresentavam fisogastria mais aparente, com as placas abdominais

(tergitos e esternitos) visivelmente segmentadas (Figura 18b). Esse tempo médio registrado em *P. flavocincta* nessa etapa foi relativamente maior do que Eleutério *et al.* (2022) observaram em fêmeas reprodutivas de *M. subnitida*, as quais tomaram um tempo médio de 11,4 dias em circunstância semelhante.

Figura 18 – Evolução inicial da fisogastría em rainhas recém-acasaladas de *Plebeia flavocincta*. O abdômen começa a tomar um formato mais arredondado e os tergitos passam a ficar mais dilatados (listras mais claras, indicadas pela seta vermelha) (a); vista lateral do abdômen quando a fisogastría apresenta estágio mais avançado, quando as placas dorsais (tergitos) e ventrais (esternitos) do abdômen começam a se separar (b). Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – Ceará, 2024; 2025.

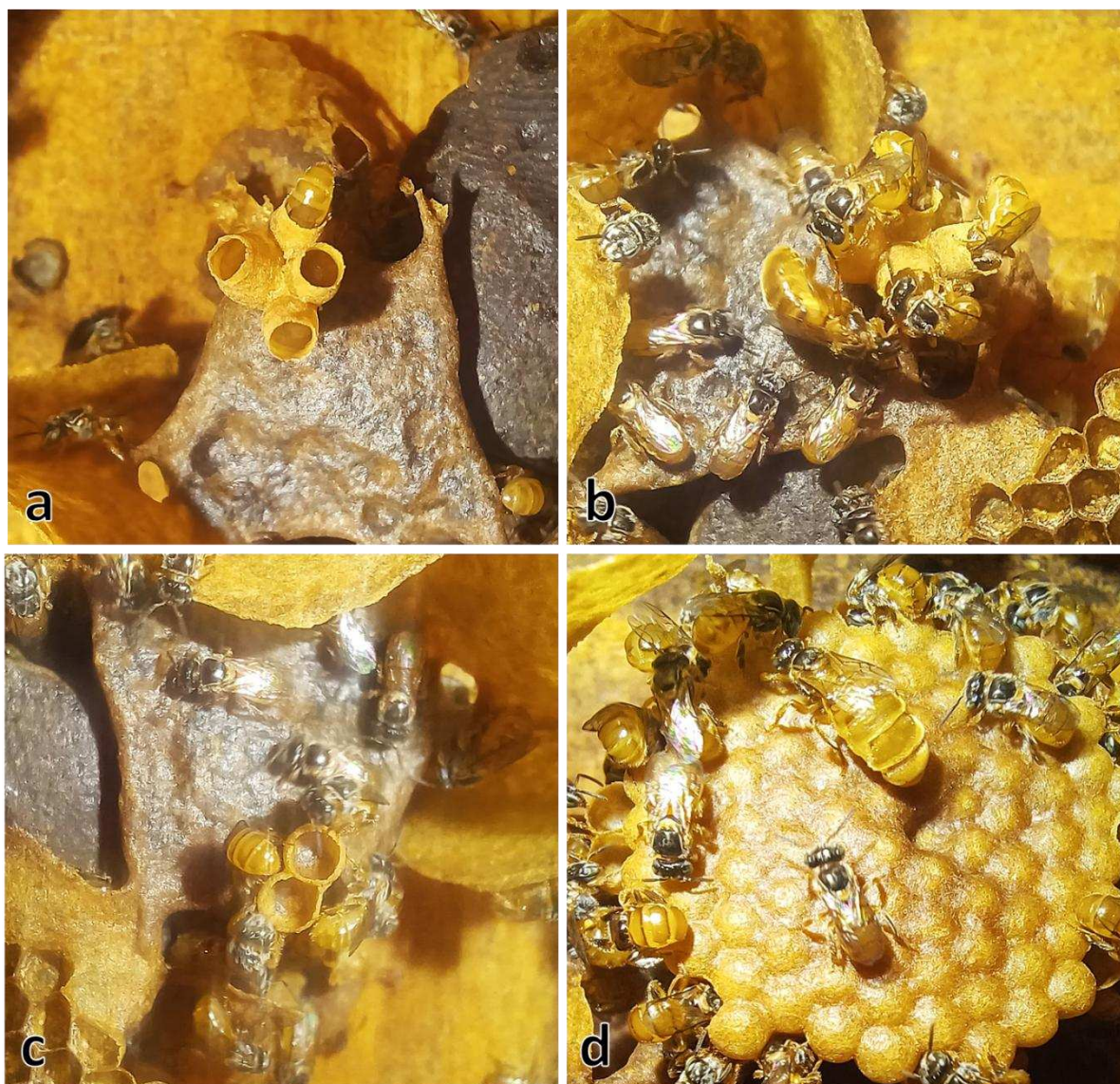


Fonte: elaborada pela autora.

Antes de ocorrer a oviposição na primeira célula definitiva, que marca o início da formação de uma nova colônia, foi observado em *P. flavocincta* que as operárias primeiramente começam a construção e aprovisionamento de células disformes, que apresentam formato e tamanho assimétrico (Figura 19a). A fêmea recém-acasalada, por sua vez, demonstra estar mais calma e passa a apresentar comportamentos de dominância ritualizados típicos de rainha fisogástrica (Zucchi, 1993), recebendo cortes frequentes e permanecendo a maior parte do tempo na área de cria a inspecionar tal atividade de construção (Figura 19b), porém, sem iniciar a postura ainda. Nesse contexto, sob supervisão da nova fêmea dominante, as operárias reconstróem tais células por vezes, até chegar a um

ponto onde estarão no padrão ideal (Figura 19c) e, a partir de então, a rainha, já em estágio avançado de fisogastría, dá seguimento às atividades de postura (Figura 19d).

Figura 19 – Interações das rainhas fecundadas e operárias de *Plebeia flavocincta* durante o processo de construção de células de cria. Primeiras células com estruturas disformes e formato irregular (note a operária aprovisionando uma delas com alimento) (a); comportamento de inspeção constante das células pela rainha, que ainda está em processo de fisogastría (b); início da construção de células definitivas após alguns dias, onde é perceptível que estão uniformes e simétricas (c); rainha com o abdômen bem mais dilatado, indicando fisogastría bastante desenvolvida, posicionada no primeiro disco de cria já construído (d). Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – Ceará, 2024; 2025.



Fonte: elaborada pela autora.

É provável que tal ritual de interação entre a nova rainha e as operárias que antecede a construção e postura definitiva de células seja uma etapa crucial para o estabelecimento da colônia, como uma fase de adaptação mútua entre os indivíduos. Foi visto também que, tanto a continuidade do processo de desenvolvimento da fisogastria da rainha quanto o início da construção de células de cria e da oviposição, foram desencadeados conforme os indivíduos passaram a ter contato com o ambiente externo, quando a colônia então foi liberada do período em confinamento. Apesar de o confinamento ter sido um período essencial para monitorar se o estabelecimento inicial da nova colônia foi bem-sucedido, observou-se a importância do estímulo ambiental proporcionado pela liberação dos ninhos após alguns dias, pois possibilitou que as operárias passassem a ter contato com o meio externo, favorecendo a coleta de recursos em campo para suprir a demanda de novas crias que estavam sendo produzidas. Mesmo sob essas constatações, faz-se necessária uma avaliação com maior número de repetições de rainhas testadas em diferentes sistemas de confinamento, bem como maior tempo de estudo, para investigar tais aspectos de modo mais aprofundado.

## 2.5. CONCLUSÕES

Concluiu-se, por meio das observações comportamentais, que as rainhas virgens de *Plebeia flavocincta* possuem mecanismos de dominância bastante eficientes logo nas primeiras horas de vida, bem como que estas possuem relação espontânea com o processo de construção de câmaras de cerume.

Também foi possível concluir que as ações que levam à construção de câmaras de cerume de fato não demonstram ser um “aprisionamento” nessa espécie, mas, sim, um sistema de proteção às princesas coordenado por elas próprias, no qual, de acordo com as diferenças significativas observadas em seus comportamentos ao longo de seus primeiros dias de vida, constatou-se que, por meio desse processo ritualizado elas alcançam progressivamente o domínio geral sobre as operárias.

Ademais, teve-se como conclusão que tal sistema de construção de câmaras de cerume liderada pelas rainhas virgens também possibilita que essas fêmeas reprodutivas tenham um maior tempo de sobrevivência, sendo esta uma ferramenta importante como primeira etapa do processo de multiplicação assistida de colônias.

Quanto aos ensaios de acasalamento controlado, apesar da pouca disponibilidade de rainhas virgens testadas, concluiu-se que tal método demonstra ser promissor como alternativa para minimizar possíveis perdas dessas fêmeas durante o voo livre em contexto natural, mesmo em ambiente antropizado, onde não são observados com frequência agregados de machos dessa espécie.

Por fim, conclui-se que é possível formar novos ninhos de *P. flavocincta* utilizando poucos recursos de colônias matrizes, desde que ocorra um monitoramento direcionado em um contexto mais reduzido tanto das princesas em suas primeiras horas de vida, quanto na fase em que estas já estão mais maduras e aptas a realizarem a cópula.

### 3 OCORRÊNCIA DE MACHOS GIGANTES EM *Plebeia flavocincta* E IMPLICAÇÕES PARA A PRODUÇÃO DE NOVAS COLÔNIAS

#### RESUMO

Mesmo considerada uma atividade vantajosa e promissora, a meliponicultura enfrenta diversos entraves, sendo os aspectos reprodutivos frente à grande variedade de espécies um dos principais. Em espécies que constroem realeiras, a dificuldade para produção de novas colônias está associada, geralmente, à baixa disponibilidade de rainhas virgens, assim como à perda frequente destas durante esse processo. Porém, pouco é discutido acerca da produção de machos gigantes que ocorre em algumas espécies, na qual, ao invés de novas princesas em potencial serem produzidas, ocorre o desenvolvimento de machos em realeiras, cuja funcionalidade para a colônia e impactos sobre a reprodução ainda não são compreendidos. Logo, o presente estudo avaliou os parâmetros morfométricos individuais de machos gigantes e os comparou aos de machos normais em *Plebeia flavocincta*. Também foram discutidas as implicações que a produção desses indivíduos gigantes imprime sobre a reprodução natural e assistida, com enfoque no manejo reprodutivo. As mensurações demonstraram que, de fato, os espécimes gigantes e normais são morfometricamente diferentes entre si, bem como foi notada uma evidente desproporcionalidade anatômica nos machos gigantes. Através do método de observação em protocolônias, registrou-se ocorrência expressiva de 54,16% de machos gigantes em células reais de diferentes localidades, sendo, assim, considerado um evento recorrente. Concluiu-se que a maior produção de realeiras em dada época do ano não necessariamente implica em maior número de rainhas virgens disponíveis, assim como o método de doação direta de favos com realeira não se mostrou o mais eficiente para produzir novas colônias de *P. flavocincta*. Dessa maneira, o método de monitoramento isolado de realeiras em protocolônias demonstrou ser mais promissor como primeira etapa do processo de multiplicação assistida dessa espécie, visto que foi possível identificar com antecedência a emergência de machos gigantes, diminuindo de modo significativo a possibilidade de haver falsa percepção sobre prováveis perdas de rainhas virgens.

**Palavras-chave:** Machos gigantes. Manejo reprodutivo. Meliponicultura. Multiplicação assistida. Produção de colônias.

## OCCURRENCE OF GIANT MALES IN *Plebeia flavocincta* AND IMPLICATIONS TO THE PRODUCTION OF NEW COLONIES

### ABSTRACT

Even though it is considered an advantageous and promising activity, meliponiculture faces several challenges, with reproductive aspects being one of the main issues due to the great variety of species. In species that build royal cells, the difficulty in producing new colonies is generally associated with the low availability of virgin queens, as well as their recurrent loss during this process. However, little is discussed about the production of giant males that occurs in some species, in which, instead of potential new gynes being produced, males are developed in royal cells. The function of these males within the colony and their impact on reproduction are still not understood. Therefore, the present study evaluates the individual morphometric parameters of giant males and compares them with normal males in *Plebeia flavocincta*. The implications that the production of these giant individuals has on natural and assisted reproduction were also discussed, with a focus on reproductive management. The measurements showed that, in fact, the giant and normal specimens are morphometrically different from each other, and an evident anatomical disproportionality was observed in giant males. Using the method of observation in protocolonies, a significant occurrence of 54,16% of giant males in royal cells from different locations was recorded, thus being considered a recurring event. It was concluded that a larger production of royal cells at a given time of year does not necessarily imply a higher number of available virgin queens, and that the method of directly donating combs with royal cells was not the most efficient for producing new *P. flavocincta* colonies. Therefore, the method of isolated monitoring of royal cells in protocolonies proved to be more promising as the first step in the assisted multiplication process for this species, since it allowed the early identification of giant males, significantly reducing the possibility of a false perception of virgin queens loss.

**Keywords:** Giant males. Reproductive management. Meliponiculture. Assisted multiplication. Colony production.

### 3.1. INTRODUÇÃO

Os meliponíneos (Hymenoptera: Apidae: Meliponini) são insetos com eusocialidade avançada, que formam colônias perenes e apresentam divisão de tarefas internas e externas ao ninho, cujas colônias apresentam três tipos de indivíduos: machos, operárias e rainhas. A divisão entre as castas de operária e rainha, a propósito, é marcada por uma forte distinção morfológica (Michener, 2007; Boomsma; Gawne, 2018; Grüter, 2020). Enquanto na determinação de fêmeas reprodutivas no gênero *Melipona* o viés genético é determinante e não há distinção da quantidade de alimento entre as células, na maioria das espécies de abelhas sem ferrão as rainhas desenvolvem-se em células de cria anatomicamente especializadas, denominadas de realeiras. As realeiras estão localizadas, geralmente, na borda dos favos e comportam maior quantidade de alimento larval, em torno de 3 a 4 vezes mais do que uma célula regular (Engels; Imperatriz-Fonseca, 1990; Faustino *et al.*, 2002; Hartfelder *et al.*, 2006; Grüter, 2020).

Além disso, a ingestão de maior volume de alimento desencadeia mudanças fisiológicas no sistema endócrino da larva, o que induz o desenvolvimento de indivíduos maiores e reprodutivamente aptos a se tornarem rainhas (Engels; Imperatriz-Fonseca, 1990; Faustino *et al.*, 2002; Hartfelder *et al.*, 2006; Grüter, 2020). Assim, as operárias, menores e menos aptas à reprodução, desempenham principalmente atividades de construção do ninho, produção de alimento larval, guarda e defesa contra predadores e pilhadores, forrageamento por recursos alimentares e de construção, dentre outras tarefas, enquanto a rainha é o indivíduo especializado responsável principalmente pela produção dos novos indivíduos da colônia (Nogueira-Neto, 1997; Michener, 2007; Grüter, 2020).

No entanto, em meio à determinação trófica de castas em meliponíneos, há um fenômeno que foge do convencional e até os dias de hoje ainda é pouco compreendido: a produção de machos gigantes. Esses machos são assim denominados por serem bem maiores que os machos comuns, o que não constitui surpresa já que são produzidos em realeiras e com acesso a uma quantidade de alimento larval bem maior que os machos comuns, que são criados em células regulares (Engels; Imperatriz-Fonseca, 1990; Grüter, 2020). Assim, os machos gigantes emergem como indivíduos maiores, aproximadamente proporcionais ao tamanho de rainhas virgens, uma vez que ambos se desenvolvem no mesmo tipo de célula de cria maior (realeira). Tal acontecimento já foi relatado na literatura científica para uma variedade de gêneros de abelhas sem ferrão, dentre os quais o grupo *Plebeia* é, até o momento, o que apresenta o maior número de espécies nas quais esse fenômeno foi

registrado (Camillo, 1971; Bego; Camargo, 1984; Engels; Imperatriz-Fonseca, 1990; Santos-Filho *et al.*, 2006; Alves *et al.*, 2009).

Estudos anteriores indicam que os machos gigantes não somente levam mais tempo para completar seu desenvolvimento, como também produzem maior número de espermatozoides. Ademais, já foi relatado que tais indivíduos gigantes podem tender a apresentar maior ocorrência em determinadas épocas do ano, coincidindo com o período no qual há maior produção de machos comuns nas colônias. Algumas hipóteses apontam possíveis causas para a produção desses indivíduos, desde a sugestão que este poderia ser um evento acidental da colônia, até mesmo que seria um tipo de mecanismo de regulação social a fim de controlar a produção de rainhas virgens (Camillo, 1971; Imperatriz-Fonseca, 1976; Bego; Camargo, 1984; Alves *et al.*, 2009). Além dessas proposições, outras questões ainda permanecem inconclusivas, como, por exemplo, a respeito da funcionalidade desses indivíduos e se, de fato, eles são capazes de se juntar a outros machos em agregados típicos, seu desempenho ao acasalar, e se apresentam alguma vantagem reprodutiva ou não que possa justificar a sua produção pela colônia.

Portanto, no presente estudo, o primeiro a identificar e discutir a produção de machos gigantes em *Plebeia flavocincta*, teve-se por objetivo avaliar os parâmetros morfométricos individuais desses indivíduos gigantes e compará-los aos de machos comuns para, dessa forma, discorrer acerca dos aspectos que os diferenciam entre si. Além disso, também se teve como intuito discutir sobre as implicações que a produção de machos gigantes pode ter sobre a reprodução natural e assistida de *P. flavocincta*, com enfoque especialmente no que diz respeito ao impacto no manejo para a produção de novas colônias.

## **3.2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **3.2.1. Local de estudo**

O referido experimento foi realizado no meliponário do Setor de Abelhas, situado no Departamento de Zootecnia da UFC, (03° 43' 02"S e 38° 32' 35"W; Altitude: 16 m), no intervalo entre os meses de abril de 2024 a janeiro de 2025, no município de Fortaleza - CE. Segundo a classificação de Köppen, o local possui clima Tropical Quente Subúmido, sendo o período chuvoso da região compreendido nos meses de janeiro a maio (com média pluviométrica de 1378 mm) e o período seco de junho a dezembro, bem como é observada

variação de temperatura média anual entre 26°C a 28°C (Ipece, 2024). A vegetação do local em questão é reconhecida como Mata de Tabuleiro (Moro *et al.*, 2015).

### **3.2.2. Constatação da emergência de machos a partir de realeiras de *Plebeia flavocincta***

Em meio aos procedimentos de observação comportamental direcionados às rainhas virgens, constatou-se a ocorrência peculiar de machos emergindo de uma parcela das realeiras monitoradas. Sendo assim, o processo de monitoramento foi realizado semelhante ao procedimento feito em relação às fêmeas reprodutivas. Conforme os machos gigantes emergiam das células reais dos discos já acondicionados nas protocolônias em estufa, o acompanhamento diário de seus comportamentos era realizado ao longo do dia (manhã e tarde). Dessa forma, cada macho gigante emergido foi registrado, marcado individualmente e contabilizado mensalmente ao longo de todo o período vigente do experimento. Vale ressaltar que as 24 realeiras coletadas e observadas ao longo do experimento foram oriundas de meliponários em diferentes localidades do Ceará, sendo quatro alocados em Fortaleza (Laboratório de Abelhas da UFC, Meliponário Fortaleza 1, Meliponário Fortaleza 2, Meliponário Fortaleza 3) e outros três em municípios afastados (Apuiarés, Ocara e Pacatuba).

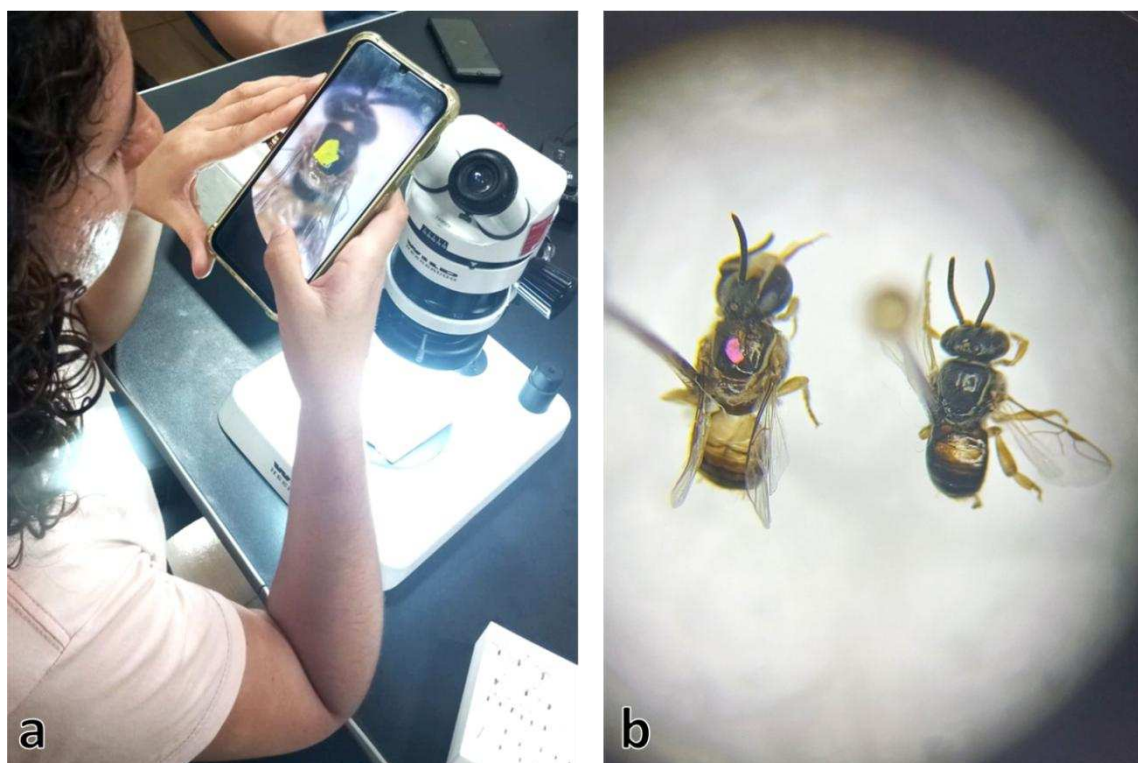
### **3.2.3. Coleta, montagem e armazenamento dos machos gigantes de *Plebeia flavocincta* pós-emergência**

Logo que era constatada a emergência dos machos gigantes durante as observações das protocolônias em estufa, estes recebiam marcação no tórax utilizando canetas à base de água do tipo Posca Uni-ball® em cores sortidas de modo a facilitar sua posterior visualização para a coleta. Alguns dias após terem emergido, caso ainda estivessem vivos, esses machos eram capturados com auxílio de sugador artesanal e posteriormente acondicionados em *freezer* para serem sacrificados. O procedimento de preparação dessas amostras foi também realizado no Laboratório de Abelhas da UFC, no qual os indivíduos foram montados com alfinete entomológico e conduzidos à estufa para a secagem à temperatura de 40°C onde permaneceram por um período de 24 horas, de forma a assegurar maior preservação dos espécimes. Passado esse intervalo de tempo, estando adequadamente secos, os indivíduos foram etiquetados com as devidas informações e acondicionados na coleção entomológica do referido laboratório para análises subsequentes.

### 3.2.4. Análise de características morfológicas dos machos gigantes coletados

De modo a facilitar a visualização dos machos gigantes coletados e possibilitar que fossem fotografados em escala adequada individualmente, estes foram conduzidos ao Laboratório de Manejo de Ácaros e Insetos, situado no Setor de Fitossanidade do Departamento de Fitotecnia da UFC. Para realizar tal procedimento, contou-se com o auxílio de um estereomicroscópio binocular (lupa) Wild Heerbrugg® (modelo WILD M5A) ajustado na escala de 1 mm, onde cada indivíduo foi analisado e, posteriormente, fotografados com câmera de celular em modo macro do modelo Samsung® Galaxy A34 (Figura 1).

Figura 20 – Procedimento de análise via estereomicroscópio e registros fotográficos dos machos de *Plebeia flavocincta* em laboratório (a); as duas categorias de machos lado a lado: macho gigante (à esquerda, com marcação rosa no tórax) e macho normal (à direita) (b).



Fonte: elaborada pela autora.

As características morfológicas levadas em consideração para as medidas foram: comprimento e largura do olho composto, comprimento corpóreo, distância intertegular, distâncias máxima e mínima interorbitais e largura máxima da cabeça. O comprimento

corpóreo foi medido com o uso de paquímetro digital Asimeto® (0.01 mm de precisão). Já para as demais características, a partir das imagens registradas dos indivíduos, cada uma destas foi analisada por meio do software ImageJ versão K 1.45, de modo que dessa forma fossem feitas as mensurações. Para fins comparativos, outros 35 machos (estes por sua vez emergidos de células regulares) foram coletados aleatoriamente de colônias no meliponário experimental, sendo, assim, submetidos aos mesmos procedimentos descritos anteriormente de montagem, registros fotográficos e mensurações.

### **3.2.5. Análises estatísticas**

Depois de registradas as imagens dos respectivos tipos de machos e realizadas as referidas mensurações via software, os dados foram tabulados para as análises posteriores. Para confirmar se as medidas morfométricas entre machos gigantes e normais diferiram estatisticamente, foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis (Kruskal; Wallis, 1952) a 5% de significância, sendo este o escolhido devido ao fato de as variáveis analisadas serem não paramétricas. Em razão da natureza dos dados, também foi utilizado o teste de correlação de Spearman, individualmente, para cada uma das duas categorias de machos a fim de testar se havia, de fato, correlação entre as mensurações anatômicas dos machos gigantes, bem como dos indivíduos normais. Ambas as análises estatísticas foram processadas por meio do Software RStudio (Posit Team, 2025).

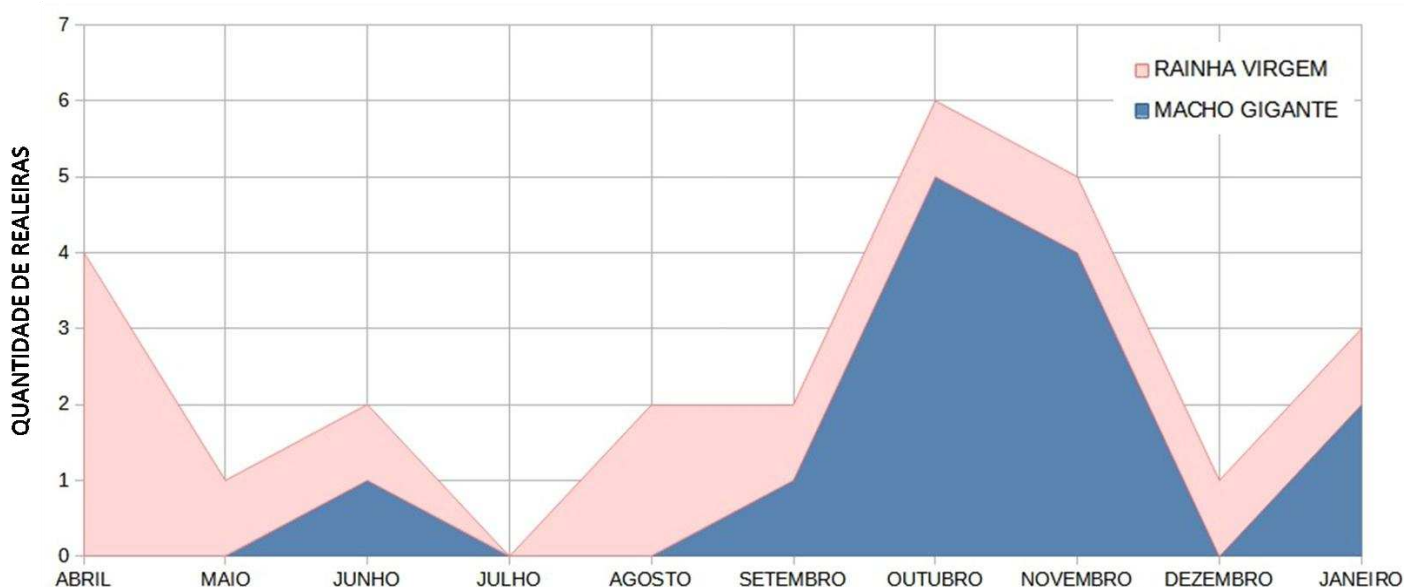
## **3.3. RESULTADOS**

Por meio do método de monitoramento em estufa, das 24 realeiras coletadas e analisadas nas respectivas protocolônias, foi documentada a emergência de 13 machos gigantes ao longo de todo o período experimental, representando, outrossim, um percentual de 54,16% desses indivíduos oriundos de células reais. A julgar pelos dados de observação mensal de realeiras, constatou-se a ocorrência consideravelmente expressiva de machos gigantes em comparação a de rainhas virgens entre os meses de setembro, outubro e novembro, coincidindo, dessa forma, com o período seco do ano característico da região (Figura 2).

Em relação à origem dos machos gigantes contabilizados, houve indivíduos emergidos de realeiras provenientes de diferentes sítios de coleta, sendo estas oriundas tanto de meliponários urbanos distintos entre si em Fortaleza (Setor de Abelhas da UFC,

Meliponário Fortaleza 2 e Meliponário Fortaleza 3), quanto de meliponários em município mais afastado, localizados em Pacatuba (região metropolitana, situada a aproximadamente 25 km da capital). Desse modo, foi descartada a probabilidade de haver maior propensão genética à ocorrência desses indivíduos associada a um só meliponário em determinado local específico.

Figura 21 – Gráfico demonstrativo da ocorrência de rainhas virgens e machos gigantes em *Plebeia flavocincta* ao longo do período experimental. Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – Ceará, 2024; 2025.



Fonte: elaborada pela autora.

Alguns parâmetros característicos na aparência física dos machos gigantes de *P. flavocincta* foram percebidos após emergirem das realeiras. Além de o comprimento corpóreo destes ser, de fato, aproximadamente proporcional ao de uma rainha virgem recém-emergida (o que já era o esperado), também foi visto desde o primeiro momento que esses indivíduos gigantes já apresentam certa pigmentação cuticular mais escura (Figura 3), ao contrário dos machos normais, os quais possuem coloração esbranquiçada ao emergirem. É importante ressaltar a esse respeito a constatação de que as princesas dessa espécie também emergem pigmentadas. Além do comprimento corpóreo, as diferenças dos machos gigantes em relação aos normais também foram significativas para as medidas de cabeça (comprimento e largura do olho composto, distâncias máxima e mínima interorbitais e largura máxima da cabeça) e para a distância intertegular, reforçando que ambos os tipos de indivíduos são, realmente, anatomicamente distintos.

Figura 22 – Macho gigante de *Plebeia flavocincta* detectado no interior de uma das realeiras observadas no experimento, através do qual é nítida a pigmentação mais escura da cutícula. Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – Ceará, 2024; 2025.



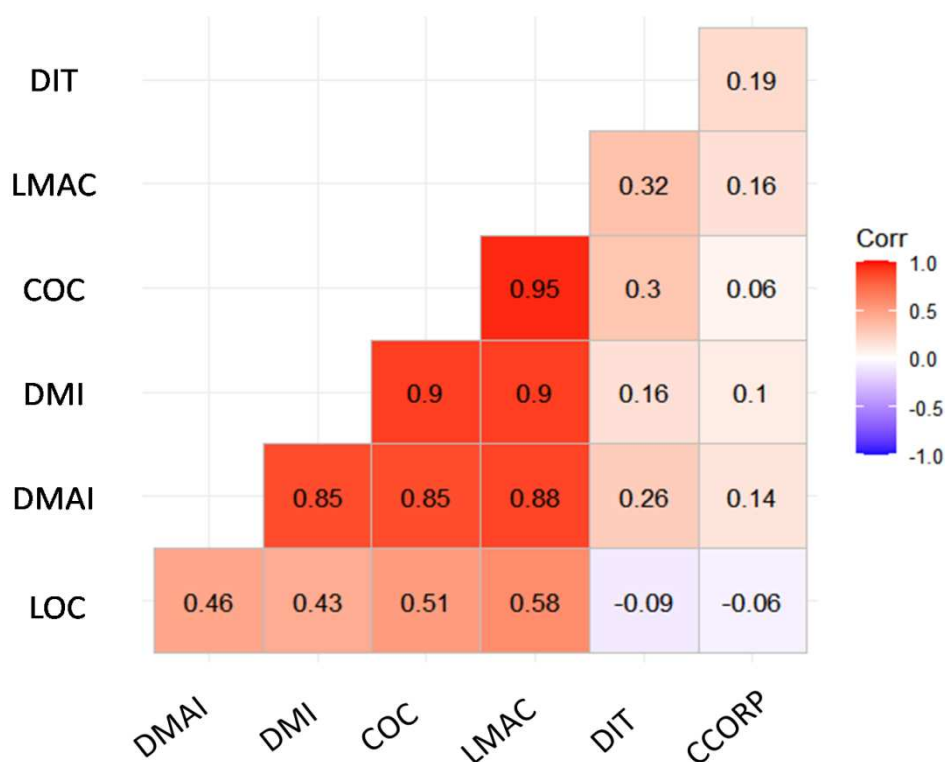
Fonte: elaborada pela autora.

Quanto às características morfométricas dos machos normais coletados (emergidos de células regulares) utilizados como parâmetros de comparação, foi constatado que as medidas oculares em questão, comprimento e largura de olho composto (COC e LOC), apresentaram correlações positivas mais altas em relação à variável largura de cabeça (0.95 e 0.58, respectivamente). Entretanto, padrões similares não foram observados quanto às medidas do corpo desses indivíduos, distância intertegular e comprimento corpóreo (DIT e CCORP), uma vez que ambas apresentaram correlações negativas (-0.09 e -0.06, respectivamente) no que se referem à largura de olho composto (LOC) (Figura 4).

Ainda sobre os parâmetros individuais para ambos os tipos de indivíduos, no que se refere dessa vez aos machos gigantes, as características morfométricas destes também apresentaram valores de correlação positiva mais alta entre as variáveis oculares e de largura

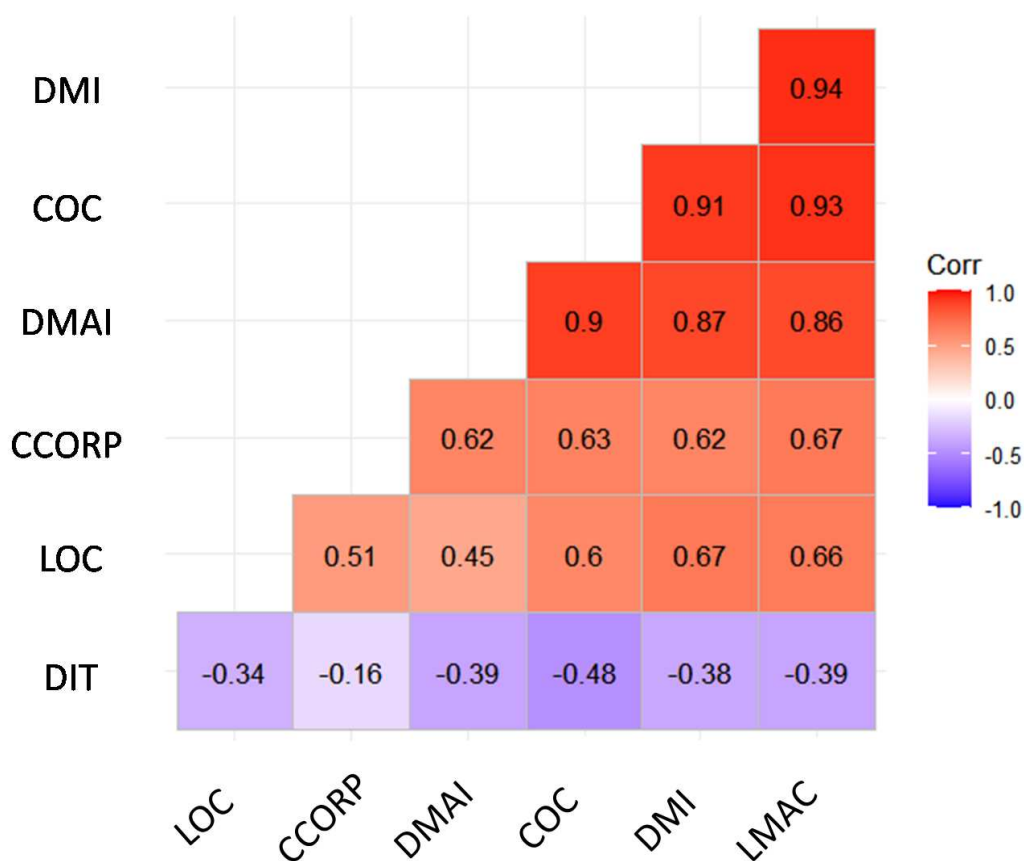
da cabeça, destacando-se dentre estas DMI (distância mínima interorbital) x LMAC (largura máxima da cabeça) (0.94) e COC (comprimento de olho composto) x LMAC (0.93). Entretanto, diferente do que foi observado para os espécimes de tamanho normal e descritos anteriormente, constatou-se que para os machos gigantes as medidas de distância intertegular (DIT) demonstraram correlação negativa quando comparadas a todas as demais características anatômicas analisadas, sendo ressaltadas para DIT x CCORP (comprimento corpóreo) (-0.16), DIT x LOC (largura do olho composto) (-0.34), DIT x DMI (distância mínima interorbital) (-0.38), DIT x DMAI (distância máxima interorbital) (-0.39), DIT x LMAC (largura máxima da cabeça) (-0.39) e DIT x COC (comprimento de olho composto) (-0.48). Desse modo, tais correlações negativas salientam nesses indivíduos gigantes em particular uma potencial desproporcionalidade entre os parâmetros corpóreos analisados (Figura 5).

Figura 23 – Valores de correlação entre as variáveis morfométricas para os machos normais de *Plebeia flavocincta*, coletados aleatoriamente de colônias manejadas no Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – Ceará, 2024; 2025.



COC – Comprimento de olho composto; CCORP – comprimento corpóreo; DMAI – distância máxima interorbital; DMI – distância mínima interorbital; DIT – distância intertegular; LMAC – largura máxima da cabeça; LOC – largura do olho composto. Fonte: elaborada pela autora.

Figura 24 – Valores de correlação entre as variáveis morfométricas para os machos gigantes de *Plebeia flavocincta*, emergidos de realeiras de diferentes localidades e coletados a partir das protocolônias de observação.



COC – Comprimento de olho composto; CCORP – comprimento corpóreo; DMAI – distância máxima interorbital; DMI – distância mínima interorbital; DIT – distância intertegular; LMAC – largura máxima da cabeça; LOC – largura do olho composto. Fonte: elaborada pela autora.

Quanto às análises das medidas morfométricas particularmente para cada tipo de indivíduo, foi notado em relação aos machos normais que elas demonstraram ser relativamente equilibradas entre si. No entanto, o mesmo não foi constatado para o corpo dos machos gigantes, já que a distância intertegular apresentou correlação negativa relacionada a todos os demais parâmetros morfométricos analisados, sugerindo, dessa forma, que as características anatômicas desses indivíduos evidenciaram uma tendência a serem desproporcionais, o que pode levar a possíveis implicações peculiares no ciclo de vida deles. Vale ressaltar que, nesse estudo, não foi possível mensurar e avaliar outras estruturas importantes desses machos (tais como antenas, abdômen e genitália), porém, é possível que nesse caso estas também apresentem um padrão desproporcional semelhante.

A desproporcionalidade constatada na anatomia dos machos gigantes pode estar associada aos comportamentos específicos observados durante e após a sua emergência. Foi visto desde o início que esses indivíduos possuíam dificuldade de locomoção evidente e passavam a maior parte do tempo escondidos nas protocolônias, mesmo quando estas eram retiradas da estufa e recebiam algum feixe de luz do ambiente. Nesse sentido, foi possível notar com o passar dos dias que esses machos não eram reativos à presença de luminosidade, permanecendo frequentemente parados, estivesse a protocolônia dentro ou fora da estufa. Em certos momentos, estes foram vistos solicitando trofalaxia às operárias para que estas os alimentassem. Também foi perceptível que tais machos eram muito sensíveis ao toque, a maioria perdendo sua cápsula genital com relativa facilidade e, como consequência, eram encontrados mortos nas protocolônias após alguns dias. Outrossim, todos esses comportamentos aqui salientados não foram observados em relação aos machos normais, nem mesmo nos mais jovens, que haviam emergido há pouco tempo (Tabela 1).

Tabela 4 – Comportamentos observados após a emergência entre machos gigantes e machos normais de *Plebeia flavocincta*, coletados a partir das protocolônias de observação e de colônias manejáveis em Fortaleza, Ceará, Brasil, respectivamente.

Características	Indivíduos	
	Machos gigantes	Machos normais
<b>Locomoção</b>	Dificuldade de locomoção e/ou imobilidade	Ativos desde a emergência, caminham e voam normalmente
<b>Resposta à luminosidade</b>	Nenhuma	Reativos
<b>Alimentação</b>	Solicitam com frequência trofalaxia às operárias	Autônomos, realizam trofalaxia entre si
<b>Sensibilidade ao toque</b>	Perdem a cápsula genital com facilidade	Estrutura genital resistente
<b>Sobrevivência</b>	Morrem em algumas horas ou dias	Vivem por semanas (até acasalar)

Fonte: elaborada pela autora.

Sobre o que diz respeito à comparação entre as medidas morfométricas dos indivíduos de ambos os tipos, foi possível constatar que de fato houve diferenças estatísticas, segundo o teste de Kruskal-Wallis ( $p < 0.05$ ) aplicado às variáveis, com relação a todos os

parâmetros anatômicos analisados, tanto para machos gigantes quanto para os de tamanho normal (Tabela 2).

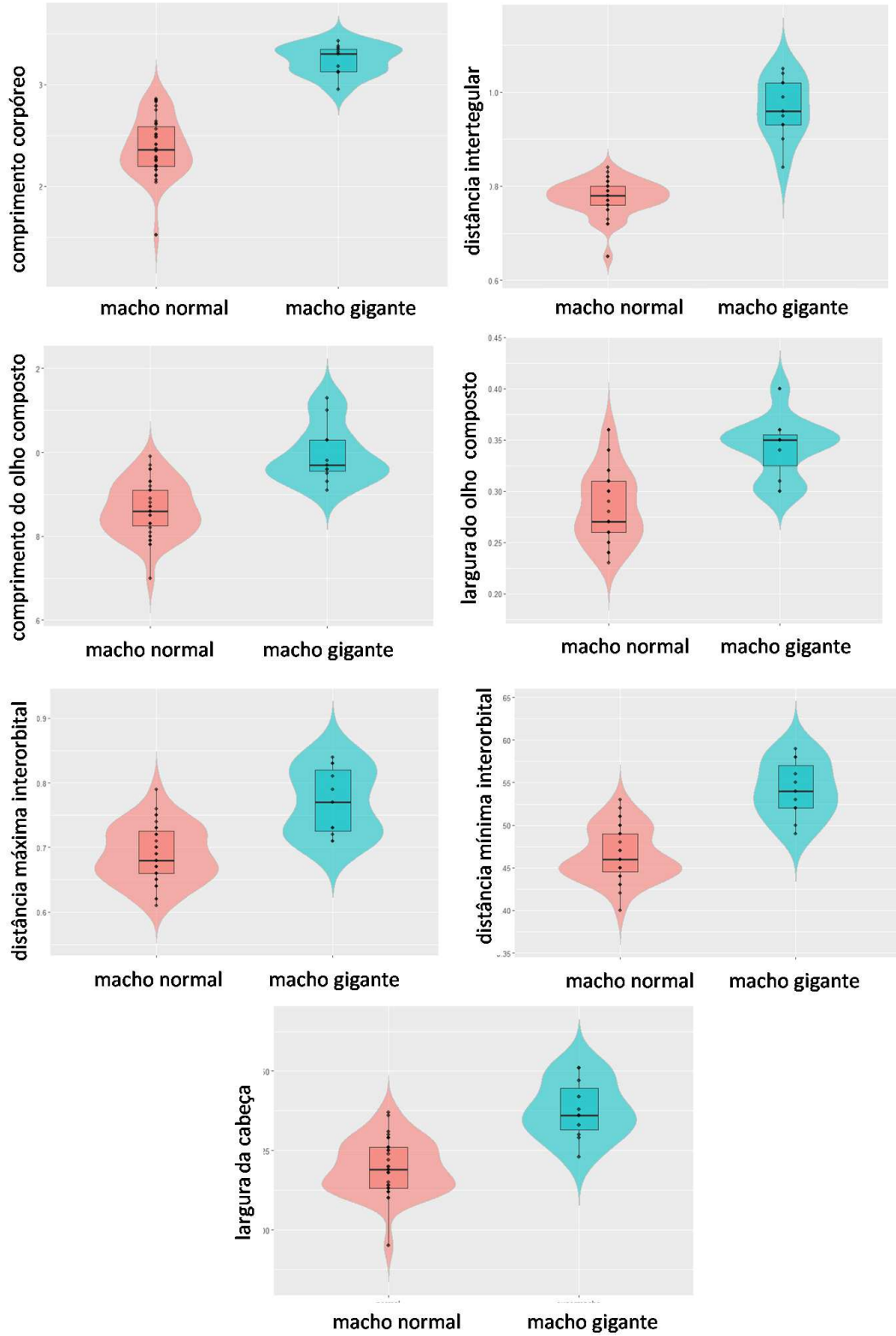
Tabela 5 – Valores de média e desvio padrão para as variáveis morfométricas entre machos gigantes e machos normais de *Plebeia flavocincta*, coletados a partir das protocônias de observação e de colônias manejáveis em Fortaleza, Ceará, Brasil, respectivamente.

Variáveis morfométricas	Média ± desvio padrão		X <sup>2</sup>	p-valor
	Machos gigantes	Machos normais		
COC	1.00 ± 0.07	0.86 ± 0.06	18.024	0.00002181
LOC	0.34 ± 0.03	0.29 ± 0.03	14.093	0.000174
DMAI	0.77 ± 0.05	0.69 ± 0.04	13.342	0.0002595
<b>Variáveis morfométricas</b> DMI	0.54 ± 0.03	0.47 ± 0.03	20.153	0.000007149
LMAC	1.38 ± 0.09	1.20 ± 0.09	18.224	0.00001964
DIT	0.97 ± 0.06	0.78 ± 0.04	24.564	0.000000719
CCORP	3.24 ± 0.15	2.39 ± 0.29	24.585	0.000000711

COC – Comprimento de olho composto; CCORP – comprimento corpóreo; DMAI – distância máxima interorbital; DMI – distância mínima interorbital; DIT – distância intertegular; LMAC – largura máxima da cabeça; LOC – largura do olho composto. Teste de Kruskal-Wallis a 5% de significância. Fonte: elaborada pela autora.

Dessa forma, os resultados mostraram que as médias mais distantes entre si nesse sentido se deram principalmente entre as medidas de distância intertegular (DIT) e comprimento corpóreo (CCORP). Em relação aos machos gigantes, tais valores variaram entre 0,8 a 1,1 para distância intertegular (0,97±0,06) e entre 2,95 a 3,43 para comprimento corpóreo (3,24±0,15). Já para os machos normais, essa variação foi demonstrada entre 0,7 a 0,8 (0,78±0,04) e entre 1,52 a 2,86 (2,39±0,29) para as mesmas medidas respectivamente (Figura 6).

Figura 25 – Gráficos em Boxplot referentes aos valores médios das respectivas variáveis morfométricas em relação aos machos normais e machos gigantes de *Plebeia flavocincta*.



Fonte: elaborada pela autora.

### 3.4. DISCUSSÃO

Embora esses indivíduos já tenham sido reportados anteriormente para outras espécies de meliponíneos, tais como *Friesella schrottkyi*, *Geotrigona mombuca*, *Nannotrigona testaceicornis*, *Paratrigona subnuda* e para certa gama do gênero *Plebeia* (*P. emerina*, *P. droryana*, *P. julianii* e *P. remota*) (Juliani, 1967; Camillo, 1971; Engels; Imperatriz-Fonseca, 1990; Alves *et al.*, 2009), e o presente estudo é o primeiro a detectar e relatar a ocorrência de machos gigantes para *Plebeia flavocincta*. No entanto, a produção de machos gigantes tem sido proposta como um evento raro ou mesmo acidental no contexto colonial (Imperatriz-Fonseca *et al.*, 1975; Nogueira-Neto, 1997), sendo corroborado por estudos que observaram circunstâncias ocasionais semelhantes para *Scaptotrigona postica* e *Schwarziana quadripunctata* (Bego; Camargo, 1984; Santos-Filho *et al.*, 2006). Porém, no presente trabalho, com o acompanhamento diário de realeiras coletadas de diversas colônias de diferentes meliponários e mantidas em protocolônias em estufa, constatou-se que a emergência peculiar de machos gigantes em *Plebeia flavocincta* se deu de forma expressiva (54,16% das realeiras observadas), de maneira que este foi considerado um evento recorrente ao longo do experimento para essa espécie, e não um fenômeno raro como relatado para outros meliponíneos.

É importante salientar ainda que os machos gigantes de *P. flavocincta* analisados no presente experimento emergiram somente de realeiras, oriundas de colônias com rainha fisogástrica em plena atividade, similar ao que já foi relatado para algumas outras espécies de meliponíneos (Juliani, 1967; Camillo, 1971; Engels; Imperatriz-Fonseca, 1990; Alves *et al.*, 2009). Sob outra perspectiva, Imperatriz (1970) observou em uma colônia órfã de *Friesella schrottkyi* a emergência desses indivíduos gigantes em células de cria de formato atípico, com paredes de cerume mais escuras e grossas, e não eram células especializadas (tais quais são as realeiras), sugerindo, dessa forma, que tais indivíduos pudessem ser oriundos de postura de operárias. No presente estudo, poucas colônias dos meliponários passaram por períodos em orfandade até que fosse selecionada uma nova rainha e, em nenhum desses ninhos, foi observada na postura de operárias a produção de células de cria mais avantajadas em relação às demais, tampouco de machos gigantes. Entretanto, embora não tenha sido observado nessa ocasião, não se pode descartar a possibilidade de ocorrer postura de operária em realeiras, nem o evento de fechamento da célula real antes mesmo que a rainha possa ingerir o ovo posto pela respectiva operária e substituí-lo por um ovo seu.

Estudos anteriores sugerem que machos gigantes possuem maior tempo de desenvolvimento devido ao fato de serem produzidos em realeiras (Juliani, 1967; Camillo, 1971; Grüter, 2020), no entanto, no presente estudo, não foi possível quantificar a média de dias que tais indivíduos em *P. flavocincta* levam para emergir. Em termos comparativos, a exemplo do desenvolvimento de machos normais, no que se refere ao gênero *Plebeia*, já foi relatado em observações para *P. remota* que estes podem levar em torno de 40-45 dias para serem produzidos, enquanto as rainhas por volta de 48-54 dias (Van Benthem *et al.* 1995). Nesse sentido, apesar da comparação feita aos machos gigantes de que estes teriam tempo de desenvolvimento semelhante às princesas, também oriundas de realeiras, ainda não se tem conhecimento exato sobre a média de dias necessária à produção destes, o que requer mais estudos a respeito do processo de provisionamento e oviposição em células reais para melhor entendimento desse processo.

No que se refere ao aspecto mais pigmentado da cutícula observado em rainhas virgens e machos gigantes de *P. flavocincta* ao emergirem, é válido inferir que o maior intervalo de tempo que indivíduos reprodutivos oriundos de realeiras levam para serem produzidos, além de estar relacionado aos seus parâmetros anatômicos em maiores proporções de tamanho, também é possível que esteja associado à pigmentação mais pronunciada da cutícula ao emergirem, já que são comumente produzidos em células especializadas e maiores, o que possibilita o consumo por parte dessas crias de um maior volume de alimento larval armazenado (Hartfelder *et al.*, 2006; Morales *et al.*, 2021). Entretanto, tais hipóteses associadas às possíveis mudanças fisiológicas particulares aos machos gigantes que ocorrem durante o seu desenvolvimento e seus respectivos efeitos necessitam ser testadas para melhor compreensão de tais processos.

As peculiaridades no comportamento dos machos gigantes dessa espécie, correlacionadas a uma anatomia desproporcional, dão margem a muitas questões sobre sua real funcionalidade. É sabido que determinadas estruturas no corpo dos machos de meliponíneos (bem como de outros grupos de abelhas), a exemplo das estruturas da cabeça (especialmente antenas e olhos), são órgãos sensoriais fundamentais ligados à reprodução. Desse modo, pode-se destacar a visão como uma ferramenta crucial de localização espacial, visto que os machos precisam detectar e alcançar com rapidez cada rainha virgem durante o voo nupcial (que ocorre à luz do dia), pois terão de competir entre si e apenas um será bem sucedido na cópula. Ademais, as antenas constituem um importante mecanismo sensorial olfativo desses indivíduos, particularmente relacionadas à percepção dos feromônios das

rainhas (Ribi *et al.*, 1989; Roselino *et al.*, 2015; Veiga *et al.*, 2018; Grüter, 2020; Smith, 2020; Aguiar *et al.*, 2023).

Portanto, as características dos machos gigantes de *P. flavocincta* – observados no presente estudo quanto à dificuldade de locomoção e a não reatividade à luz, bem como a perda da genitália com facilidade, sugerem um potencial comprometimento na cognição e capacidade reprodutiva desses indivíduos, provavelmente desencadeado desde o seu desenvolvimento, o que permite inferir dessa forma que há a possibilidade de estes não serem ágeis o suficiente para obter bom desempenho no acasalamento, seja para detectar agregações e se juntar a outros machos, ou para realizar a cópula propriamente dita. Entretanto, tais hipóteses são inconclusivas e testes precisam ser realizados em estudos futuros para sanar esses questionamentos.

Quanto à época do ano experimental na qual se deu a maior ocorrência de machos gigantes para a espécie estudada, os meses de setembro, outubro e novembro se mostraram como os mais representativos nesse quesito, coincidindo com a estação seca que, nesse caso, é caracterizada por apresentar um cenário ambiental onde há maior disponibilidade de recursos tróficos em campo (néctar e pólen), devido ao florescimento de uma variada gama de espécies botânicas importantes na região (Barbosa *et al.*, 2020). Além disso, sabe-se que os fatores ambientais, evidenciados pela diferenciação entre períodos (seco e chuvoso), tendem a exercer influência não somente sobre as atividades externas ao ninho, como também nas demais funções ligadas ao seu interior, tais como o provisionamento de células com alimento larval, postura de ovos para a produção de novas crias e, conseqüentemente, a manutenção do desenvolvimento populacional das colônias ao longo do ano (Moo-Vale *et al.*, 2001; Hofstede; Sommeijer, 2006; Barbosa *et al.*, 2020).

Diante disso, variações sazonais podem estar relacionadas à produção de machos comuns nas colônias, na qual a disponibilidade de recursos, junto a outras variáveis externas como temperatura e pluviosidade, e também questões intrínsecas ao ninho, tais quais a quantidade de alimento armazenado e o tamanho populacional (em momentos distintos, quando a colônia está forte ou fraca), devem ser considerados fatores importantes a esse respeito (Chinh; Sommeijer, 2005; Velthuis *et al.*, 2005; Prato; Soares, 2013; Becker *et al.*, 2018). Sobre os machos gigantes, alguns autores salientaram que a frequência mais expressiva desses indivíduos se dá conforme ocorre maior densidade populacional de machos comuns produzidos em dado período, apontando uma situação hipotética a qual as operárias também teriam realizado postura e, nesse caso, as mesmas não seriam capazes de

distinguir se estariam ovipositando em realeiras ou em células de tamanho regular (Camillo, 1971; Bego; Camargo, 1984).

Ademais, foram propostas hipóteses de que o desenvolvimento de machos gigantes seria uma espécie de mecanismo da colônia para regular a produção de rainhas virgens ao longo do ano, ou mesmo um indício de que a rainha fisogástrica regula a fertilização ou não dos ovos postos em realeiras (caso esses indivíduos gigantes sejam crias da mesma). Há, ainda, a suposição de que essa última seria uma estratégia da própria rainha dominante de evitar uma possível competição com as princesas produzidas na colônia em uma futura substituição (Imperatriz-Fonseca *et al.*, 1975; Alves *et al.*, 2009). Contudo, tais hipóteses até hoje permanecem sem respostas e há necessidade de que sejam testadas. No referido experimento com a espécie *Plebeia flavocincta*, aqui então discutido, não foi possível identificar a origem parental dos machos gigantes emergidos.

Barbosa *et al.* (2020) avaliaram a dinâmica da atividade de voo em operárias de *P. flavocincta* como parâmetro relacionado à saúde geral das colônias. Foi constatado que as campeiras apresentaram maior fluxo de atividades externas entre os meses de setembro e abril, englobando o período seco (setembro a novembro) e a quadra chuvosa já em curso (janeiro a maio), ao passo que tal cenário demonstrava declínio conforme adentrava o período de transição da estação chuvosa para a seca (maio a agosto). Assim, concluiu-se que a regulação das atividades das operárias fora do ninho teve relação mais intensa com a disponibilidade de recursos alimentares em campo, em comparação às variáveis ambientais, já que elas tiveram êxito no forrageamento ao aproveitarem de modo efetivo as florações que aconteciam em momentos distintos, sejam na estação seca ou chuvosa. Portanto, tal estudo destacou que os períodos do ano em que o fluxo externo de operárias é mais intenso, bem como o acesso aos recursos tróficos em campo é mais favorável, atuam como indicadores positivos à saúde das colônias e que este seria um momento mais propício para a multiplicação de enxames.

De fato, durante os manejos semanais das colônias para o experimento aqui apresentado, foi observado que o estado populacional mais alto dos ninhos de *P. flavocincta* (tanto de indivíduos emergidos quanto de crias em desenvolvimento), bem como a produção massiva de realeiras, deu-se no decorrer da estação seca, corroborando, assim, com o cenário mais favorável de disponibilidade de alimento em campo e de coleta e armazenamento de recursos pelas operárias em tal período, conforme foi sugerido por Barbosa *et al.* (2020). Apesar de tal conjuntura sazonal se apresentar mais promissora à reprodução, no presente estudo foi visto que há certas limitações para essa espécie nesse sentido, dentre as quais a

produção expressiva de machos gigantes se mostrou como um fator determinante. Nessa perspectiva, a maior produção de realeiras observada no período seco não necessariamente implica em uma maior disponibilidade de rainhas virgens. Pode-se inferir, portanto, nesse contexto, que tanto o processo de substituição de rainha na colônia quanto a multiplicação natural por enxameação tendem a ser afetados diretamente, pois o desenvolvimento de machos gigantes em realeiras diminui o número de rainhas virgens disponíveis em potencial que seriam produzidas para tais finalidades.

De modo semelhante, a emergência considerável de machos gigantes ao longo deste estudo também apresentou implicações negativas sobre a produção de novas colônias de *P. flavocincta* a partir da multiplicação assistida, devido à baixa disponibilidade de princesas em razão disso. Dessa maneira, foi observado ao longo do curso do presente experimento que, para cada indivíduo gigante emergido das realeiras observadas, uma rainha virgem em potencial deixava de ser submetida aos testes comportamentais e de acasalamento controlado e, como consequência, o processo de formação de novas colônias filhas era inviabilizado. Tais constatações contrapõem-se com o que foi discutido por Parente *et al.* (2024) sobre o manejo para multiplicação de ninhos dessa espécie, os quais destacaram que o método mais utilizado entre os meliponicultores é o da doação de favos com pelo menos uma realeira, em que, basicamente, uma matriz forte doa crias emergentes para que, a partir de então, seja dado início à formação de colônias filhas.

No entanto, apesar de a doação de favos de cria com realeira ser um procedimento bastante difundido, através do presente experimento foi possível constatar que tal método não se mostrou como o manejo mais eficiente para a produção de novos ninhos de *P. flavocincta*, visto que há uma forte probabilidade de machos gigantes emergirem das células reais sem serem percebidos na caixa racional pelo meliponicultor (devido a pouca experiência visual em reconhecer esses indivíduos), podendo essa situação ser facilmente confundida com a perda de rainhas virgens (por morte após emergir ou por não retornarem do voo nupcial, por exemplo), quando, na verdade, essas princesas nem sequer chegaram a ser produzidas. Tal constatação pode estar relacionada à queixa recorrente entre os meliponicultores da região ao relatarem dificuldades em aumentar o plantel desta espécie em seus meliponários por meio do método tradicional de multiplicação. Dessa forma, o método de observação isolada de realeiras em protocolônias, como primeira etapa da multiplicação, mostrou-se mais promissor, pois possibilitou detectar de modo mais ágil a emergência de machos gigantes, diminuindo assim a falsa interpretação sobre uma possível perda de rainhas.

### 3.5. CONCLUSÕES

A partir do presente estudo, é possível concluir que a espécie de abelha sem ferrão *Plebeia flavocincta* é um meliponíneo que produz machos gigantes a partir de realeiras e, diferente das demais espécies nas quais esse fenômeno já havia sido observado, essa produção é comum, não se tratando de episódios isolados.

As significativas diferenças observadas tanto no comportamento quanto nas análises morfométricas comparativas entre machos gigantes e machos normais permitem concluir que tais indivíduos gigantes, de fato, possuem características que seriam desfavoráveis ao desempenharem a busca por rainhas e cópula bem-sucedidos, o que reforça a ideia de um possível comprometimento cognitivo destes, sendo dessa forma provavelmente inaptos à reprodução.

Também é possível concluir que o desenvolvimento de uma alta proporção de machos gigantes em realeiras (54,16%) diminui o número de rainhas virgens disponíveis, podendo, assim, afetar tanto o processo de substituição de rainha nas colônias quanto à multiplicação natural por enxameação, bem como o manejo de divisão de colônias feita por meliponicultores.

Diante do exposto, ressalta-se a necessidade de estudos a respeito das mudanças a nível fisiológico e genético que ocorrem durante o desenvolvimento dos machos gigantes e, do mesmo modo, até que ponto a produção de tais indivíduos pode ser resultado de uma conjuntura ambiental específica e de que forma tais fatores impactam na reprodução de meliponíneos como um todo.

## REFERÊNCIAS

- AGUIAR, J., M., R., B., V.; SILVA, R., C. da; HRNCIR, M. Ecological drivers of bee cognition: insights from stingless bees. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, [s.l.], v. 77, n. 128, p. 1-21, 2023.
- AIZEN, M. A.; HARDER, L. D. The global stock of domesticated honeybees is growing slower than agricultural demand for pollination. **Current Biology**, [s.l.], v. 19, n. 11, p. 915–918, 2009.
- ALVAREZ, L. J., RASMUSSEN, C., ABRAHAMOVICH, A. H. Nueva especie de *Plebeia* Schwarz, clave para las especies argentinas de *Plebeia* y comentarios sobre *Plectoplebeia* em la Argentina (Hymenoptera: Meliponini). **Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales**, [s.l.], v. 18, n. 1, p. 65-74, 2016.
- ALVES, D., A.; IMPERATRIZ-FONSECA, V., L.; SANTOS-FILHO, P. Production of workers, queens and males in *Plebeia remota* colonies (Hymenoptera, Apidae, Meliponini), a stingless bee with reproductive diapause. **Genetics and Molecular Research**, [s.l.], v. 8, n. 2, p. 672-683, 2009.
- BAPTISTELLA, A., R.; SOUZA, C., C., M.; SANTANA, W., C.; SOARES, A., E., E. Techniques for the *in vitro* production of queens in stingless bees (Apidae, Meliponini). **Sociobiology**, [s.l.], v. 59, n. 1, p. 297-310, 2014.
- BARBIERI, C., J. **Caracterização da meliponicultura e do perfil do meliponicultor no estado de São Paulo: ameaças e estratégias de conservação de abelhas sem ferrão**. 2018. Dissertação (Mestrado em Sustentabilidade) – Escola de Artes, Ciências e Humanidades, Universidade de São Paulo. São Paulo, 2018.
- BARBOSA, A., B., da S.; MENESES, H., M.; ROSA, F., L.; FREITAS, B. M. Flight activity of the stingless bee *Plebeia* aff. *flavocincta* in tropical conditions as indicator of the general health of the colony. **Sociobiology**, [s.l.], v. 67, n. 4, p. 545–553, 2020.
- BAUDIER, K., M.; OSTWALD, M., M.; GRÜTER, C.; SEGERS, F., H., I., D.; ROUBIK, D., W.; PAVLIC, T., P.; PRATT, S., C.; FEWELL, J., H. Changing of the guard: mixed specialization and flexibility in nest defense (*Tetragonisca angustula*). **Behavioral Ecology**, [s.l.], v. 30, n. 4, p. 1041–1049, 2019.
- BÄNZIGER, H., KHAMYOTCHAI, K. An unusually large and persistent male swarm of the stingless bee *Tetragonula laeviceps* in Thailand (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). **Journal of Melittology**, [s.l.], v. 32, p. 1–5, 2014.
- BECKER, T.; PEQUENO, P., A., C., L.; CARVALHO-ZILSE, G., A. Impact of environmental temperatures on mortality, sex and caste ratios in *Melipona interrupta* Latreille (Hymenoptera, Apidae). **The Science of Nature**, [s.l.], v. 105, n. 55, p. 1-9, 2018.
- BEGO, L., R.; CAMARGO, C., A. de. On the occurrence of giant males in *Nannotrigona* (*Scaptotrigona*) *postica* Latreille (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). **Boletim de Zoologia**, [s.l.], v. 8, n. 8, p. 11-16, 1984.
- BOOMSMA, J., J.; GAWNE, R. Super organismality and caste differentiation as points of no return: how the major evolutionary transitions were lost in translation. **Biological**

**Reviews**, [s.l.], v. 93, n. 1, p. 28-54, 2018.

BOURKE, A., F. G.; RATNIEKS, F., L., W. Kin conflict over caste determination in social Hymenoptera. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, [s.l.], v. 46, p. 287-297, 1999.

BROWN, M., J., F.; PAXTON, R., J. The conservation of bees: a global perspective. **Apidologie**, [s.l.], v. 40, n. 3, p. 410–416, 2009.

BENTHEM, F., D., J. van; IMPERATRIZ-FONSECA, V., L.; VELTHUIS, H., H., W. Biology of the stingless bee *Plebeia remota* (Holmberg): observations and evolutionary implications. **Insect Sociaux**, [s.l.], v. 42, p. 71–87, 1995.

BUENO, F., G., B.; HAJJAR, R.; COLIN, T.; BUCHMANN, G.; LATTY, T.; GLOAG, R. Virgin queen behaviour and controlled mating in the stingless bee *Tetragonula carbonaria* (Meliponini). **Insectes Sociaux**, [s.l.], v. 70, n. 1, p. 17-27, 2023.

CAMARGO, C. A. Mating of the social bee *Melipona quadrifasciata* under controlled conditions (Hymenoptera, Apidae). **Journal of the Kansas Entomological Society**, [s.l.], v. 45, p. 520-523, 1972.

CAMARGO, J., M., F.; WITTMANN, D. Nest architecture and distribution of the primitive stingless bee *Mourella caerulea* (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae): evidence for the origin of *Plebeia* s. latonthe Gondwana Continent. **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, Lisse, [s.l.], v. 24, n. 4, p. 213-229, 1989.

CAMARGO, J., M., F.; POSSEY, D., A. O conhecimento dos Kayapó sobre as abelhas sociais sem ferrão (Meliponinae, Apidae, Hymenoptera): Notas adicionais. **Boletim de Museu Paraense Emílio Goeldi, Série Zoologia**, [s.l.], v. 6, n. 1, p. 17-42, 1990.

CAMARGO, J., M., F.; PEDRO, S., R. M. Meliponini Lepeletier, 1836. In: MOURE, J., S.; URBAN, D.; MELO, G., A., R. (ed.). **Catalogue of bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical region**. Paraná: Universidade Federal do Paraná, 2022. Disponível em: <http://www.moure.cria.org.br/catalogue>. Acesso em: 15 dez. 2023.

CAMILLO, C. Estudos adicionais sobre zangões de *Trigona (Friesella) schrottkyi* Friese (Hymenoptera, Apidae). **Ciência e Cultura**, [s.l.], v. 23, p. 273, 1971.

CARDINAL, S.; DANFORTH, B., N. The antiquity and evolutionary history of social behavior in bees. **PLOS one**, [s.l.], v. 6, n. 6, p. e21086, 2011.

CARVALHO, R., M., A.; MARTINS, C., F.; NÓBREGA ALVES, R., R.; ALVES, Â., G., C. Do emotions influence the motivations and preferences of keepers of stinglessbees? **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, [s.l.], v. 14, p. 1-11, 2018.

CHINH, T., X.; SOMMEIJER, M., J. Production of sexuals in the stingless bee *Trigona (Lepidotrigona) ventralis flavibasis* Cockerell (Apidae, Meliponini) in northern Vietnam. **Apidologie**, [s.l.], v. 36, n. 4, p. 493-503, 2005.

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resoluções do Conama: **Resoluções vigentes publicadas entre setembro de 1984 e agosto de 2020**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2020.

CORTOPASSI-LAURINO, M. Drone congregation in Meliponini: what do they tell us?. **Bioscience Journal (Online)**, [s.l.], v. 23, n. 1, p. 153-160, 2007.

CORTOPASSI-LAURINO, M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V., L.; ROUBIK, D., W.; DOLLIN, A.; HEARD, T.; AGUILAR, I.; VENTURIERI, G., C.; EARDLEY, C.; NOGUEIRA-NETO, P. Global meliponiculture: challenges and opportunities. **Apidologie**, [s.l.], v. 37, n. 2, p. 275-292, 2006.

CRANE, E. The past and present status of beekeeping with stingless bees. **Bee World**, [s.l.], v. 73, n. 1, p. 29-42, 1992.

CRONIN, A., L.; MOLET, M.; DOUMS, C.; MONNIN, T.; PEETERS, C. Recurrent evolution of dependent colony foundation across eusocial insects. **Annual Review of Entomology**, [s.l.], v. 58, n. 1, p. 37-55, 2013.

CRUZ-LANDIM, C. Ovarian development in Meliponine bees (Hymenoptera: Apidae): the effect of queen presence and food on worker ovary development and egg production. **Genetics and Molecular Biology**, [s.l.], v. 23, p. 83-88, 2000.

DRUMOND, P.; BEGO, L.; MELO, G. Nest architecture of the stingless bee *Plebeia poecilochroa* Moure and Camargo, 1993 and related considerations (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). **Iheringia, Série Zoologia**, [s.l.], v. 79, p. 39–49, 1995.

ELEUTÉRIO, P.; ROCHA, E., E.; FREITAS, B., M. Production of new colonies of *Melipona subnitida* Ducke (Hymenoptera: Apidae) by reclamation of excess virgin queens. **Journal of Apicultural Research**, [s.l.], v. 61, n. 5, p. 695–705, 2022.

ELEUTÉRIO, P.; ROCHA, E., E., M.; TEÓFILO, D.; PEREIRA, J., S.; CAVALCANTE, A., M.; FREITAS, B., M. Criação e multiplicação de colônias da abelha jandaíra (*Melipona subnitida*) para uso na polinização agrícola e outros fins. In: FREITAS B., M.; BEZERRA, A., D., M. (org.). **Criação, multiplicação e manejo de abelhas nativas para a polinização agrícola no Brasil**. Fortaleza: Laboratório de Abelhas, Universidade Federal do Ceará, 2024. p. 205 - 233.

ENGEL, M. S., RASMUSSEN, C., AYALA, R., DE OLIVEIRA, F. F. Stingless bee classification and biology (Hymenoptera, Apidae): a review, with na updated key to genera and subgenera. **ZooKeys**, [s.l.], v. 1172, p. 239–312, 2023.

ENGEL, M. S. A new interpretation of the oldest fossil bee (Hymenoptera: Apidae). **American Museum Novitates**, [s.l.], v. 2000, n. 3296, p. 1-11, 2000.

ENGELS, W.; ROSENKRANZ, P.; ENGELS, E. Thermoregulation in the nest of the Neotropical stingless bee *Scaptotrigona postica* and a hypothesis on the evolution of temperature homeostasis in highly eusocial bees. **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, [s.l.], v. 30, n. 4, p. 193-205, 1995.

ENGELS, W.; IMPERATRIZ-FONSECA, V., L. Caste development, reproductive strategies and control of fertility in honey bees and stingless bees. In: ENGELS, W. (ed.). **Social insects: na evolutionary approach to castes and reproduction**. Berlin: Springer Berlin Heidelberg, 1990. p. 167-230.

ENGELS, E.; ENGELS, W. Age-dependent queen attractiveness for drones and mating in

the stingless bee, *Scaptotrigona postica*. **Journal of Apicultural Research**, [s.l.], v. 27, n. 1, p. 3-8, 1988.

ENGELS, W. Pheromones and reproduction in Brazilian stingless bees. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, [s.l.], v. 82, n. 3, p. 35-4, 1987.

FAUSTINO, C.; SILVA-MATOS, E.; MATEUS, S.; ZUCCHI, R. First Record of emergency queen rearing in stingless bees (Hymenoptera, Apinae, Meliponini). **Insectes Sociaux**, [s.l.], v. 49, p. 111-113, 2002.

FÉLIX, J., A.; FREITAS, B., M. Richness and distribution of the meliponine fauna (Hymenoptera: Apidae: Meliponini) in the State of Ceara, Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, [s.l.], v. 93, n. 3, p. 1–17, 2021.

FIERRO, M., M.; CRUZ-LÓPEZ, L., D., S.; VILLANUEVA-GUTIÉRREZ, R.; VANDAME, R. Queen volatiles as a modulator of *Tetragonisca angustula* drone behavior. **Journal of Chemical Ecology**, [s.l.], v. 37, p. 1255-1262, 2011.

FRANCISCO, F., O.; SANTIAGO, L., R.; ARIAS, M., C. Molecular genetic diversity in populations of the stingless bee *Plebeia remota*: A case study. **Genetic and Molecular Biology**, [s.l.], v. 36, n. 1, p. 118-123, 2013.

FREE, J., B. **Pheromones of social bees**. New York: Comstock Publishing Associates of Cornell University Press, 1987.

GARIBALDI, L., A.; STEFFAN-DEWENTER, I.; WINFREE, R.; AIZEN, M., A.; BOMMARCO, R.; CUNNINGHAM, S., A.; KREMEN, C.; CARVALHEIRO, L., G.; HARDER, L., D.; AFIK, O.; BARTOMEUS, I.; BENJAMIN, F.; BOREUX, V.; CARIVEAU, D.; CHACOFF, N., P.; DUDENHÖFFER, J., H.; FREITAS, B., M.; GHAZOUL, J.; GREENLEAF, S.; HIPÓLITO, J.; HOLZSCHUH, A.; HOWLETT, B.; ISAACS, R.; JAVOREK, S., K.; KENNEDY, C., M.; KREWENKA, K., M.; KRISHNAN, S.; MANDELIK, Y.; MAYFIELD, M., M.; MOTZKE, I.; MUNYULI, T.; NAULT, B., A.; OTIENO, M.; PETERSEN, J.; PISANTY, G.; POTTS, S., G.; RADER, R.; RICKETTS, T., H.; RUNDLÖF, M.; SEYMOR, C., L.; SHÜEPP, C.; SZENTGYÖRGYI, H.; TAKI, H.; TSCHARNTKE, T.; VERGARA, C., H.; VIANA, B., F.; WANGER, T., C.; WESTPHAL, C.; WILLIAMS, N.; KLEIN, A., M. Wild pollinators enhance fruit set of crops regardless of honey bee abundance. **Science**, [s.l.], v. 339, n. 6127, p. 1608-1611, 2013.

GRÜTER, C.; SEGERS, F., H., I., D.; MENEZES, C.; VOLLET-NETO, A.; FALCON, T.; ZUBEN L. von, BITONDI, M., M., G.; NASCIMENTO, F., S.; ALMEIDA, E., A., B. Repeated evolution of soldier sub-castes suggests parasitism drives social complexity in stinglessbees. **Nature Communications**, [s.l.], v. 8, n. 1, p. 4, 2017.

GRÜTER, C. Evolution and diversity in stingless bees. *In*: GRÜTER, C. (ed.). **Stingless Bees: Their Behaviour, Ecology and Evolution**. Switzerland: Springer, 2020, p. 43-86.

HARTFELDER, K.; MAKERT, G., R.; JUDICE, C., C.; PEREIRA, G., A.; SANTANA W., C.; DALLACQUA, R.; BITONDI, M., M. Physiological and genetic mechanisms underlying caste development, reproduction and division of labor in stingless bees. **Apidologie**, [s.l.], v. 37, n. 2, p. 144-163, 2006.

HOFSTEDDE, F., E.; SOMMEIJER, M., J. Effect of food availability on individual foraging

specialisation in the stingless bee *Plebeia tobagoensis* (Hymenoptera, Meliponini). **Apidologie**, [s.l.], v. 37, n. 3, p. 387-397, 2006.

HRNCIR, M.; JARAU, S.; BARTH, F., G. Stingless bees (Meliponini): senses and behavior. **Journal of Comparative Physiology A**, [s.l.], v. 202, p. 597-601, 2016.

IHERING, H. von. Biologie der stachellosen Honigbienen Brasiliens. **Zoologische Jahrbücher. Abteilung für Systematik, Geographie und Biologie der Tiere**, v. 19, p. 179-287, 1903.

IMPERATRIZ, V., L., M. Aparecimento de super machos em *Friesella schrottkyi* (Apoidea, Apidae, Meliponinae). **Ciência e Cultura**, [s.l.], v. 22, p. 291, 1970.

IMPERATRIZ-FONSECA V. L. Studies on *Paratrigona subnuda* (Moure) Hymenoptera, Apidae, Meliponinae - II. Behaviour of the virgin queen. **Boletim de Zoologia**, [s.l.], v. 2, n. 2, p. 169-182, 1977.

IMPERATRIZ-FONSECA, V., L.; CRUZ-LANDIM, C.; MORAES R., S. de. Dwarf gynes in *Nannotrigona testaceicornis* (Apidae, Meliponinae, Trigonini). Behaviour, exocrine gland morphology and reproductive status. **Apidologie**, [s.l.], v. 28, n. 3-4, p. 113-122, 1997.

IMPERATRIZ-FONSECA, V., L. Miscellaneous observations on the behaviour of *Schwarziana quadripunctata* (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). **Boletim de Zoologia e Biologia Marinha**, São Paulo, v. 30, p. 633-640, 1973.

IMPERATRIZ-FONSECA, V., L.; OLIVEIRA, M., A., C de; IWAMA, S. Notas sobre o comportamento de rainhas virgens de *Plebeia (Plebeia) remota* Holmberg (Apidae, Meliponinae). **Ciência e Cultura**, [s.l.], v. 27, n. 6, p. 665-669, 1975.

IMPERATRIZ-FONSECA, V., L. Studies on *Paratrigona subnuda* (Moure) I: Members of the colony. **Revista Brasileira de Entomologia**, [s.l.], v. 20, n. 2, p. 101-112, 1976.

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.

IMPERATRIZ-FONSECA, V., L.; MATOS, E., T.; FERREIRA, F.; VELTHUIS, H., H., W. (1998) A case of multiple mating in stingless bees (Meliponinae). **Insectes Sociaux**, [s.l.], v. 45, p. 231-233, 1998.

IMPERATRIZ-FONSECA, V., L.; KOEDAM, D; HRNCIR, M. **A abelha Jandaíra: no passado, no presente e no futuro**. Mossoró: EduFERSA, 2017.

INSTITUTO DE PESQUISA E ESTRATÉGIA ECONÔMICA DO CEARÁ (IPECE). Perfil Básico Municipal. Fortaleza-CE, 2024. Disponível em: <http://ipecedata.ipece.ce.gov.br/ipece-data-web/module/perfil-municipal.xhtml>. Acesso em 8 agosto. 2025.

JAFFÉ, R.; POPE, N.; CARVALHO, A., T.; MAIA, U., M.; BLOCHTEIN, B.; CARVALHO, C., A., L. de; CARVALHO-ZILSE, G., A.; FREITAS, B., M.; MENEZES, C.; RIBEIRO, M., de F.; VENTURIERI, G., C.; IMPERATRIZ-FONSECA, V., L. Bees for development: Brazilian survey reveals how to optimize stingless beekeeping. **PloS one**, [s.l.], v. 10, n. 3, p. e0121157, 2015.

JARAU, S.; VEEN, J., W. van; AGUILAR, I.; AYASSE, M. A scientific note on virgin queen acceptance in stingless bees: evidence for the importance of queen aggression. **Apidologie**, [s.l.], v. 41, p. 38–39, 2010.

JARAU, S.; VEEN, J., W., van; AGUILAR, I.; AYASSE, M. 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.

JARAU, S.; HRNCIR, M.; SCHIMIDT, V., M.; ZUCCHI, R.; BARTH, F., G. Effectiveness of recruitment behavior in stingless bees (Apidae, Meliponini). **Insectes Sociaux**, [s.l.], v. 50, p. 365-374, 2003.

JULIANI, L. O aprisionamento de rainhas virgens em colônias de Trigonini (Hymenoptera Apoidea). **Boletim Universitário do Paraná, Zoologia**, [s.l.], v. 20, p. 1-11, 1962.

JULIANI, L. A descrição do ninho e alguns dados biológicos sobre a abelha *Plebeia juliani* Moure. **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v. 12, p. 31-58, 1967.

KÄRCHER, M., H.; MENEZES, C.; ALVES, D., A.; BEVERIDGE, O., S.; IMPERATRIZ-FONSECA, V., L.; RATNIEKS, F., L. 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.

KARSAI, I.; WENZEL, J., W. Productivity, individual-level and colony-level flexibility, and organization of work as consequences of colony size. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [s.l.], v. 95, n. 15, p. 8665-8669, 1998.

KAISER, H., F. A second generation little jiffy. **Psychometrika**, [s.l.], v. 35, n. 4, p. 401-415, 1970.

KASSAMBARA, A.. `_ggpubr: 'ggplot2' Based Publication Ready Plots_`. R package version 0.6.0. 2023. Disponível em: <https://CRAN.R-project.org/package=ggpubr>. Acesso: 02 jul. 2025.

KEARNS, C., A.; INOUE, D., W.; WASER, N., M. Endangered mutualisms: The conservation of plant-pollinator interactions. **Annual Review of Ecology and Systematics**, [s.l.], v. 29, n. 1, p. 83–112, 1998.

KERR W., E. Evolution of the mechanism of caste determination in the genus *Melipona*. **Evolution**, [s.l.], v. 4, n. 1, p. 7–13, 1950a.

KERR W., E. Genetic determination of castes in the genus *Melipona*. **Genetics**, [s.l.], v. 35, n. 2, p. 143–152, 1950b.

KERR, W., E.; LELLO, E. de. Sting glands in stingless bees: a vestigial character (Hymenoptera: Apidae). **Journal of the New York Entomological Society**, [s.l.], v. 70, n. 4, p. 190-214, 1962.

KERR, W., E.; ZUCCHI, R.; NAKADAIRA, J., T.; BUTOLO, J., E. Reproduction in the social bees (Hymenoptera: Apidae). **Journal of The New York Entomological Society**, [s.l.], v. 70, n. 4, p. 265-276, 1962.

KOEDAM, D.; JUNGnickel, H.; Tentschert, J.; Jones, G., R.; Morgan, E., D. 2002. Production of wax by virgin queens of the stingless bee *Melipona bicolor* (Apidae, Meliponine). **Insectes Sociaux**, [s.l.], v. 49, p. 229-233, 2002.

KOFFLER, S.; MENESES, H., M.; Kleinert, A., M., P.; JAFFÉ, R. Competitive males have higher quality sperm in a monogamous social bee. **BMC evolutionary biology**, [s.l.], v. 16, p. 1-12, 2016.

KRUSKAL, W. H; WALLIS, A. Use of ranks in one-criterion variance analysis. **Journal of The American Statistical Association**, [s.l.], v. 47, p. 583–621, 1952.

LICHTENBERG, E., M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V., L.; NIEH, J., C. Behavioral suites mediate group-level foraging dynamics in communities of tropical stingless bees. **Insectes sociaux**, [s.l.], v. 57, p. 105-113, 2010.

GALINDO LÓPEZ, J., C.; KRAUS, F., B. Cherchez la femme? Site choice of drone congregations in the stingless bee *Scaptotrigona mexicana*. **Animal Behaviour**, [s.l.], v. 77, n. 5, p. 1247-1252, 2009.

MAIA-SILVA, C.; HRNCIR, M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V., L.; SCHORKOPF, D., L., P. Stingless bees (*Melipona subnitida*) adjust brood production rather than foraging activity in response to changes in pollen stores. **Journal of Comparative Physiology A**, [s.l.], v. 202, p. 723-732, 2016.

MAIA, U., M.; JAFFÉ, R.; CARVALHO, A., T.; FONSECA, V., L., I. Meliponicultura no Rio Grande do Norte. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, [s.l.], v. 37, n. 4, p. 327-333, 2015.

MAIA, U., M.; MIRANDA, L., D., S.; CARVALHO, A., T.; IMPERATRIZ-FONSECA, V., L.; OLIVEIRA, G., C. de; GIANNINI, T., C. Climate-induced distribution dynamics of *Plebeia flavocincta*, a stingless bee from Brazilian tropical dry forests. **Ecology and Evolution**, [s.l.], v. 10, n. 18, p. 10130-10138, 2020.

MAIA, U. M.; BORGES, R. C.; DOS SANTOS-JÚNIOR, J. E.; DIAS, V. H. P.; CARVALHO, A. T.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; OLIVEIRA, G. C.; GIANNINI, T. C. Species redescription and nest architecture of *Plebeia flavocincta* (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). **Apidologie**, [s.l.], v. 53, p. 1-15, 2022.

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

MENEZES, C. **A produção de rainhas e a multiplicação de colônias em *Scaptotrigona aff. depilis* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)**. 2010. Tese (Doutorado em Entomologia) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2010.

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

MEUNIER, J.; REBER, A.; CHAPUISAT, M. Queen acceptance in a socially polymorphic ant. **Animal Behaviour**, [s.l.], v. 81, n. 1, p. 163-168, 2011.

MICHENER, C., D.; GRIMALDI, D., A. The oldest fossil bee: Apoid history, evolutionary stasis, and antiquity of social behavior. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [s.l.], v. 85, n. 17, p. 6424-6426, 1988a.

MICHENER, C., D.; GRIMALDI, D., A. A *Trigona* from late Cretaceous amber of New Jersey (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). **American Museum Novitates**, [s.l.], n. 2917, p. 1-10, 1988b.

MICHENER, C., D. **The bees of the world**. 2nd ed. Baltimore: John Hopkins University Press, 2007.

MOO-VALLE H.; QUEZADA-EUÁN J., J., G.; CANTO-MARTÍN, J.; GONZALEZ-ACERETO, J., A. Caste ontogeny and the distribution of reproductive cells on the combs of *Melipona beecheii* (Apidae: Meliponini). **Apidologie**, [s.l.], v. 35, n. 6, p. 587–594, 2004.

MOO-VALLE, H.; QUEZADA-EUÁN J., J., G.; WENSELEERS, T. The effect of food reserves on the production of sexual offspring in the stingless bee *Melipona beecheii* (Apidae, Meliponini). **Insectes Sociaux**, [s.l.], v. 48, n. 4, p. 398–403, 2001.

MORALES, A.; HARTFELDER, K.; MEDINA-PERALTA, S.; QUEZADA-EUÁN, J., J., G. Larval food provisions affect developmental time, body size and vitellogenin titers of *Scaptotrigona pectoralis* gynes (Hymenoptera: Meliponini). **Insectes Sociaux**, [s.l.], v. 68, p. 93-100, 2021.

MORO, M. F.; MACEDO, M. B.; MOURA-FÉ, M. M.; CASTRO, A. S. F.; COSTA, R.C. Vegetação, unidades fitoecológicas e diversidade paisagística do estado do Ceará. **Rodriguésia**, [s.l.], v. 66, n. 3, p. 717-743, 2015.

MOURE, J. S.; NOGUEIRA-NETO, P.; KERR, W. E. Evolutionary problems among Meliponinae. **Proceedings of International Congress of Entomology**, São Paulo, v. 2, p. 481-494, (1958).

NJOYA, M., T., M.; WITTMANN, D.; AMBEBE, T., F. Nest architecture of *Dactylurina staudingeri* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) in Cameroon. **International Journal of Research in Agricultural Sciences**, [s.l.], v. 3, n. 6, p. 335-338, 2016.

NOGUEIRA, D., S.; ROCHA, E., E. de M.; FÉLIX, J., A.; ANDRADE, M., A., P. de; CORTOPASSI-LAURINO, M.; ALVES, R. M., de O.; OLIVEIRA, M., L. Notes on the biology of *Scaura* (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). **Journal of Apicultural Research**, [s.l.], v. 62, n. 1, p. 47–63, 2021.

NOGUEIRA, D., S. Overview of stingless bees in Brazil (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). **EntomoBrasilis**, [s.l.], v. 16, p. e1041, 2023.

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. A criação de abelhas indígenas sem ferrão (Meliponinae). **Chácaras e Quintais**, p. 280, 1953.

NOGUEIRA-NETO, P. Rainhas prisioneiras. **Chácaras e Quintais**, v. 97, p. 477, 1958.

NOGUEIRA-NETO, P. **Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão**. São Paulo: Nogueirapis, 1997.

OLIVEIRA, R., C.; PIETRO, V. di; QUEZADA-EUÁN, J., J., G.; PECH, J., R.; MOO-VALLE, H.; WENSELEERS, T. Tragedy of the commons in *Melipona* bees revisited. **Biology Letters**, [s.l.], v. 18, n. 1, p. 20210498, 2022.

OSBORNE, J. Notes on the use of data transformations. **Practical Assessment, Research, and Evaluation**, [s.l.], v. 8, n. 1, 2002.

OSTER, G., F.; WILSON, E., O. **Caste and ecology in the social insects**. New Jersey: Princeton University Press, 1978.

OTESBELGUE, A.; SANTOS, C. F. dos; BLOCHTEIN, B. Queen bee acceptance under threat: Neurotoxic insecticides provoke deep damage in queen-worker relationships. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [s.l.], v. 166, p. 42-47, 2018.

OYSTAEYEN, A. V.; ALVES, D. A.; OLIVEIRA, R. C.; DO NASCIMENTO, D. L.; DO NASCIMENTO, F. S.; BILLEN, J.; WENSELEERS, T. Sneaky queens in *Melipona* bees selectively detect and infiltrate queenless colonies. **Animal Behaviour**, [s.l.], v. 86(3), p. 603–609, 2013.

PARENTE, M., C.; FARIAS-SILVA, F., J. de; FARIAS, F., F., M.; RIBEIRO FILHO, R., E.; ABREU, A., M., S.; LIMA, A., V., P.; FREITAS, B., M. Criação racional e manejo de colônias da abelha jati (*Plebeia flavocincta*) e seu uso potencial para polinização de cultivos agrícolas. In: FREITAS B., M.; BEZERRA, A., D., M. (org.). **Criação, multiplicação e manejo de abelhas nativas para a polinização agrícola no Brasil**. Fortaleza: Laboratório de Abelhas, Universidade Federal do Ceará, 2024. p. 257 - 278.

PAXTON, R., J. Genetic structure of colonies and a male aggregation in the stingless bee *Scaptotrigona postica*, as revealed by microsatellite analysis. **Insectes Sociaux**, [s.l.], v. 47, n. 1, p. 63–69, 2000.

PEDRO, S., R., M. The stingless bee fauna in Brazil (Hymenoptera: Apidae). **Sociobiology**, [s.l.], v. 61, n. 4, p. 348-354, 2014.

PICK, R., A.; BLOCHTEIN, B. Atividades de coleta e origem floral do pólen armazenado em colônias de *Plebeia saiqui* (Holmberg) (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae) no sul do Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, [s.l.], v. 19, p. 289-300, 2002.

POINAR JR, G. Bees in fossilized resin. **Bee World**, [s.l.], v. 75, n. 2, p. 71-77, 1994.

POSEY, P.; CAMARGO, J. M. F. Additional notes on the classification and knowledge of stingless bees (Meliponinae, Apidae, Hymenoptera) by the Kayapó indians of Gorotire (Para, Brazil). **Annals Carnegie Museum**, [s.l.], v.54, n. 8, p. 54-58, 1985.

POSIT TEAM. RStudio: Integrated Development Environment for R. **Posit Software**, PBC, Boston, MA, 2025.

POTTS, S., G.; IMPERATRIZ-FONSECA, V., L.; NGO, H., T.; AIZEN, M., A.; BIESMEIJER, J., C.; BREEZE, T., D.; DICKS, L., V.; GARIBALDI, L., A.; HILL, R.; SETTELE, J.; VANBERGEN, A., J. Safeguarding pollinators and their values to human

well-being. **Nature**, [s.l.], v. 540, n. 7632, p. 220-229, 2016.

PRATO, M. **Ocorrência natural de sexuais, produção in vitro de rainhas e multiplicação de colônias em *Tetragonisca angustula* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)**. 2010. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 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, p. 474-482, 2013.

QUEZADA-EUÁN, J., J., G. **Stingless Bees of Mexico: The Biology, Management and Conservation of an Ancient Heritage**. Germany: Springer, 2018.

QUEZADA-EUÁN, J., J., G.; NATES-PARRA, G.; MAUÉS, M., M.; ROUBIK, D., W.; IMPERATRIZ-FONSECA, V., L. The economic and cultural values of stingless bees (Hymenoptera: Meliponini) among ethnic groups of tropical America. **Sociobiology**, [s.l.], v. 65, n. 4, p. 534-557, 2018.

R CORE TEAM. **\_R: A Language and Environment for Statistical Computing\_**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2025. Disponível em: <https://www.R-project.org/>. Acesso em: 02 jul. 2025.

RASMUSSEN, C.; CAMERON, S., A. Global stingless bee phylogeny supports ancient divergence, vicariance, and long distance dispersal. **Biological Journal of the Linnean Society**, [s.l.], v. 99, n. 1, p. 206-232, 2010.

RATNIEKS, F., L., W.; FOSTER, K., R.; WENSELEERS, T. Conflict resolution in insect societies. **Annual Review of Entomology**, [s.l.], v. 51, n. 1, p. 581-608, 2006.

REVELLE, W. **\_psych: Procedures for Psychological, Psychometric, and Personality Research\_**. Northwestern University, Evanston, Illinois. R package version 2.5.3. 2025. Disponível em: <https://CRAN.R-project.org/package=psych>. Acesso em: 02 jul. 2025.

REYES-GONZÁLEZ, A.; CAMOU-GUERRERO, A.; DEL-VAL, E.; RAMÍREZ, M., I.; PORTER-BOLLAND, L. Biocultural diversity loss: The decline of native stingless bees (Apidae: Meliponini) and local ecological knowledge in Michoacán, Western México. **Human Ecology**, [s.l.], v. 48, n. 4, p. 411-422, 2020.

RIBEIRO, M., F.; ALVES, D., A. Size variation in *Schwarziana quadripunctata* queens (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). **Revista de Etologia**, [s.l.], v. 3, n. 1, p. 59–65, 2001.

RIBEIRO, M., de F.; IMPERATRIZ-FONSECA, V., L.; SANTOS FILHO, P., de S. A interrupção da construção de células de cria e postura em *Plebeia remota* (Holmberg) (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). In: MELO, G., A., R.; ALVES-DOS-SANTOS, I. (org.). **Apoidea Neotropica: homenagem aos 90 anos de Jesus Santiago Moure**. Criciúma: Editora UNESC, 2003, p. 177-188.

RIBEIRO, M., F.; WENSELEERS, T.; SANTOS FILHO, P., S.; ALVES, D., A. Miniature queens in stingless bees: basic facts and evolutionary hypotheses. **Apidologie**, [s.l.], v. 37, n. 2, p. 191–206, 2006.

RIBEIRO, M. de F.; TAURA, T., A. Presence of *Plebeia* aff. *flavocincta* nests in urban areas. **Sociobiology**, [s.l.], v. 66, n. 1, p. 66-74, 2019.

RIBI, W., A.; ENGELS, E.; ENGELS, W. Sex and caste specific eye structures in stingless bees and honey bees (Hymenoptera: Trigonidae, Apidae). **Entomologia Generalis**, [s.l.], v. 14, n. 3-4, p. 233-242, 1989.

ROCHA, E., E., M.; OLIVEIRA, A., P. de.; SOUSA, F., B. de.; FARIAS, F., F., M.; CAVALCANTE, A., M.; TEÓFILO, D.; ELEUTÉRIO, P.; FREITAS, B., M. Criação e multiplicação da abelha canudo (*Scaptotrigona* aff. *depilis*) para a polinização agrícola assistida. In: FREITAS B., M.; BEZERRA, A., D., M. (org.). **Criação, multiplicação e manejo de abelhas nativas para a polinização agrícola no Brasil**. Fortaleza: Laboratório de Abelhas, Universidade Federal do Ceará, 2024. p. 229 - 251.

ROSELINO, A., C.; HRNCIR, M.; CRUZ-LANDIM, C.; GIURFA, M.; SANDOZ, J., C. Sexual dimorphism and phenotypic plasticity in the antennal lobe of a stingless bee, *Melipona scutellaris*. **Journal of Comparative Neurology**, [s.l.], v. 523, n. 10, p. 1461-1473, 2015.

ROUBIK, D., W. Mate location and mate competition in males of stingless bees (Hymenoptera: Apidae: Meliponinae). **Entomologia Generalis**, [s.l.], v. 15, n. 2, p. 115–120, 1990.

ROUBIK, D., W. **Ecology and natural history of tropical bees**. Cambridge: Cambridge University Press, 1992.

ROUBIK, D., W. Nest and colony characteristics of stingless bees from Panama (Hymenoptera: Apidae). **Journal of the Kansas Entomological Society**, [s.l.], v. 56, n. 3, p. 327–355, 1983

ROUBIK, D., W. Stingless bee nesting biology. **Apidologie**, [s.l.], v. 37, p. 124–143, 2006.

SANTOS C., F. dos; NUNES-SILVA, P.; HALINSKI, R.; BLOCHTEIN, B. Diapause in stingless bees (Hymenoptera: Apidae). **Sociobiology**, [s.l.], v. 61, n. 4, p. 369–377, 2014a.

SANTOS, C., F. dos; MENEZES, C.; VOLLET-NETO, A.; IMPERATRIZ-FONSECA, V., L. Congregation sites and sleeping roost of male stingless bees (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). **Sociobiology**, [s.l.], v. 61, n. 1, p. 115-118, 2014b.

SANTOS-FILHO, P., S.; ALVES, D., A.; ETEROVIC, A.; IMPERATRIZ-FONSECA, V., L.; KLEINERT, A., M., P. Numerical investment in sex and caste by stingless bees (Apidae: Meliponini): a comparative analysis. **Apidologie**, [s.l.], v. 37, n. 2, p. 207–221, 2006.

SCHWANDER, T.; LO, N.; BEEKMAN, M.; OLDROYD, B., P.; KELLER, L. Nature versus nurture in social insect caste differentiation. **Trends in Ecology & Evolution**, [s.l.], v. 25, n. 5, p. 275-282, 2010.

SHACKLETON, K.; TOUFAILIA, H. al; BALFOUR, N., J.; NASCIMENTO, F., S.; ALVES, D., A.; RATNIEKS, F., L., W. Appetite for self-destruction: suicidal biting as a nest defense strategy in *Trigona* stingless bees. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, [s.l.], v. 69, p. 273-281, 2015.

SHANAHAN, M.; SPIVAK, M. Resin use by stingless bees: A review. **Insects**, [s.l.], v. 12, n. 8, p. 719, 2021.

SHRESTHA, N. Factor analysis as a tool for survey analysis. **American Journal of Applied Mathematics and Statistics**, [s.l.], v. 9, n. 1, p. 4-11, 2021.

SILVA, D., L., N. da; ZUCCHI, R.; KERR, W., E. Biological and behavioural aspects of the reproduction in some species of *Melipona* (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). **Animal Behaviour**, [s.l.], v. 20, n. 1, p. 123-132, 1972.

SILVA, A., P., V.; ALENCAR, M., C., B.; MARACAJÁ, P., B.; CABRAL, S., A., A., O.; SILVEIRA, D., C.; CARMO, E., S. Atividade antifúngica do mel de abelha *Plebeia* cf. *flavocincta* contra *Aspergillus niger*. **Acta Apicola Brasilica**, [s.l.], v. 3, n. 1, p. 1-9, 2015.

SLAA, E., J.; SÁNCHEZ-CHAVES, L., A.; MALAGODI-BRAGA, K., S.; HOFSTEDÉ, F., E. Stingless bees in applied pollination: practice and perspectives. **Apidologie**, [s.l.], v. 37, n. 2, p. 293-315, 2006.

SMITH, T., J. Evidence for male genitalia detachment and female mate choice in the Australian stingless bee *Tetragonula carbonaria*. **Insectes Sociaux**, [s.l.], v. 67, n. 1, p. 189-193, 2020.

SOMMEIJER, M., J. BRUJIN, L., L., M.; MEEUWSEN, F., J., A., J.; SLAA, E., J. Reproductive behaviour of stingless bees: nest departures of non-accepted gynes and nuptial flights in *Melipona favosa* (Hymenoptera: Apidae, Meliponini). **Entomologische Berichten**, [s.l.], v. 63, n. 1, p. 7-13, 2003.

SOUZA, B. de A.; ALVES, R., M., de O.; CARVALHO, C., A., L. de. Diagnóstico da arquitetura de ninho de *Oxytrigona tataira* (Smith, 1863) (Hymenoptera: Meliponinae). **Biota Neotropica**, [s.l.], v. 7, n. 2, p. 83-86, 2007.

SOUZA, E., A. de; TRIGO, J., R.; SANTOS, D., E.; VIEIRA, C., U.; SERRÃO, J., E. The relationship between queen execution and cuticular hydrocarbons in stinglessbee *Melipona scutellaris* (Hymenoptera: Meliponini). **Chemoecology**, [s.l.], v. 27, p. 25-32, 2017.

TERADA, Y. **Contribuição ao estudo da regulação social em *Leurotrigona muelleri* e *Frieseomelitta varia* (Hymenoptera, Apidae)**. 1974. Dissertação (Mestrado em Genética Animal) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1974.

VAN VEEN, J. W.; ARCE, H.; SOMMEIJER, M., J. Production of queens and drones in *Melipona beecheii* (Meliponini) in relation to colony development and resource availability. **Proceedings of the Section Experimental and Applied Entomology of the Netherlands Entomological Society**, Netherlands, v. 15, p. 35-39, 2004.

VAN VEEN, J., W.; SOMMEIJER, M., J. Observations on gynes and drones around nuptial flights in the stingless bees *Tetragonisca angustula* and *Melipona beecheii* (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). **Apidologie**, [s.l.], v. 31, n. 1, p. 47-54, 2000.

VAN VEEN, J., W.; SOMMEIJER, M., J. Colony reproduction in *Tetragonisca angustula* (Apidae, Meliponini). **Insectes Sociaux**, [s.l.], v. 47, n. 1, p. 70-75, 2000.

VAN VEEN, J., W.; SOMMEIJER M., J.; AGUILAR MONGE, I. Behavioural development and abdomen inflation of gynes and newly mated queens of *Melipona beecheii* (Apidae, Meliponinae). **Insectes Sociaux**, [s.l.], v. 46, n. 4, p. 361–365, 1999.

VEIGA, J., C.; LEÃO, K., L.; COELHO, B., W.; QUEIROZ, A., C., M. de; MENEZES, C.; CONTRERA, F., A., L. The life histories of the “Uruçu Amarela” males (*Melipona flavolineata*, Apidae, Meliponini). **Sociobiology**, [s.l.], v. 65, n. 4, p. 780–783, 2018.

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 a eusocial bee, *Melipona flavolineata* (Apidae, Meliponini). **The Science of Nature**, [s.l.], v. 104, n. 31, p. 1-8, 2017.

VELTHUIS, H. H. W.; KOEDAM, D.; IMPERATRIZ-FONSECA, V., L. The males of *Melipona* and other stingless bees, and their mothers. **Apidologie**, [s.l.], v. 36, n. 2, p. 169-185, 2005.

VILLAS-BÔAS, J. K. **Manual Tecnológico de Aproveitamento Integral dos Produtos das Abelhas Nativas Sem Ferrão**. 2. ed. Brasília: Instituto Sociedade, População e Natureza (ISPN), 2018.

VOLLET-NETO, A.; KOFFLER, S.; SANTOS, C., F. dos; MENEZES, C.; NUNES, F., M., F.; HARTFELDER, K.; IMPERATRIZ-FONSECA V., L.; ALVES, D., A. Recent advances in reproductive biology of stingless bees. **Insectes Sociaux**, [s.l.], v. 65, n. 2, p.201-212, 2018.

VON ZUBEN, L., G. **The mating communication of stingless bees (Hymenoptera: Apidae, Meliponini)**. 2017. Tese (Doutorado em Entomologia) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2017.

WENSELEERS, T.; RATNIEKS, F., L., W.; RIBEIRO, M., F.; ALVES, D., A.; IMPERATRIZ-FONSECA, V., L. Working-class royalty: bees beat the caste system. **Biology Letters**, [s.l.], v. 1, n. 2, p. 125–128, 2005.

WENSELEERS, T.; ALVES D., A.; FRANCOY, T., M.; BILLEN, J.; IMPERATRIZ-FONSECA, V., L. Intraspecific queen parasitism in a highly eusocial bee. **Biology Letters**, [s.l.], v. 7, n. 2, p. 173-176, 2011.

WENSELEERS, T.; RATNIEKS, F., L., W. Tragedy of the commons in *Melipona* bees. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences**, [s.l.], v. 271, n. 5, p. S310-S312, 2004.

WERNECK, H., A. **Sistemática molecular e evolução do clado *Plebeia***: análises baseadas em filogenia e datação molecular da tribo Meliponini. 2016. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Estrutural – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2016.

WICKHAM, H. **ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis**. Springer-Verlag New York, 2016. Disponível em: <https://ggplot2.tidyverse.org>. Acesso em: 02 jul. 2025.

WILCOX, R., R.; TIAN, T., S. Measuring effect size: a robust heteroscedastic approach for two or more groups. **Journal of Applied Statistics**, [s.l.], v. 38, n. 7, p. 1359-1368, 2011.

WILLE, A. Biology of the stingless bees. **Annual Review of Entomology**, [s.l.], v. 28, p.

41–64, 1983.

WILLE, A.; MICHENER, C., D. The nest architecture of stingless bees with special reference to those of Costa Rica (Hymenoptera, Apidae). **Revista de Biología Tropical**, [s.l.], v. 21, n. 1, 1973.

WINSTON, M., L. **The biology of the honeybee**. Cambridge: Harvard University Press, 1987.

WITTER, S.; BLOCHTEIN, B.; ANDRADE, F.; WOLFF, L., F.; IMPERATRIZ-FONSECA, V., L. Meliponicultura no Rio Grande do Sul: contribuição sobre a biologia e conservação de *Plebeia nigriceps* (Friese 1901) (Apidae, Meliponini). **Bioscience Journal (Online)**, [s.l.], v. 23, n. 1, p. 134-140, 2007.

ŻRAŁKA, J.; HELMKE, C.; SOTELO, L.; KOSZKUL, W. The discovery of a bee hive and the identification of apiaries among the ancient Maya. **Latin American Antiquity**, [s.l.], v. 29, n. 3, p. 514-531, 2018.

ŻRAŁKA, J.; KOSZKUL, W.; RADNICKA, K.; SANTOS, L., E., S.; HERMES, B. Excavations in Nakum structure 99: new data on protoclassic rituals and precolumbian Maya beekeeping. **Estudios de cultura Maya**, [s.l.], v. 44, n. 44, p. 85-117, 2014.

ZUCCHI, R. Ritualized dominance, evolution of queen-worker interactions and related aspects in stingless bees (Hymenoptera: Apidae), *In*: INOUE, T., YAMANE, S. (org.). **Evolution of Insect Societies**, Hakuhinsha, Tokyo, 1993.