



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

**PALOMA ELEUTERIO BEZERRA**

**UM NOVO MÉTODO DE MULTIPLICAÇÃO DE COLÔNIAS DE *Melipona*  
*subnitida* DUCKE (HYMENOPTERA: APIDAE) POR APROVEITAMENTO DE  
RAINHAS VIRGENS**

**FORTALEZA**

**2021**

PALOMA ELEUTERIO BEZERRA

UM NOVO MÉTODO DE MULTIPLICAÇÃO DE COLÔNIAS DE *Melipona subnitida*  
DUCKE (HYMENOPTERA: APIDAE) POR APROVEITAMENTO DE RAINHAS  
VIRGENS

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. Ph.D. Breno Magalhães Freitas.

FORTALEZA

2021

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

---

- B469n Bezerra, Paloma Eleutério.  
Um novo método de multiplicação de colônias de *Melipona subnitida* Ducke (HYMENOPTERA: APIDAE) por aproveitamento de rainhas virgens / Paloma Eleutério Bezerra. – 2021.  
55 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Fortaleza, 2021.  
Orientação: Prof. Dr. Breno Magalhães Freitas.
1. Agregação de machos. 2. Conservação de polinizadores. 3. Interações rainha virgem-operárias. 4. Meliponicultura. 5. Produção de colônias. I. Título.

CDD 636.08

---

PALOMA ELEUTERIO BEZERRA

UM NOVO MÉTODO DE MULTIPLICAÇÃO DE COLÔNIAS DE *Melipona subnitida*  
DUCKE (HYMENOPTERA: APIDAE) POR APROVEITAMENTO DE RAINHAS  
VIRGENS

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: Produção e Melhoramento Animal.

Aprovada em: 26/04/2021

BANCA EXAMINADORA

---

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

---

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

---

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

Ao meu avô, João Alves Bezerra (*In Memoriam*); À minha família.

## AGRADECIMENTOS

Infinitamente, a Deus e aos guias espirituais de esferas superiores. Serei eternamente grata.

Às mulheres que mais amo na vida: Maria de Lourdes, Tânia Maria, Valéria Maria, Lucilda Maria, pelo amor incondicional e por sempre fazerem o possível por mim (incluindo todos os puxões de orelha).

Aos demais membros da minha família por todo o apoio quando preciso. A contribuição de vocês foi essencial.

Ao meu grande companheiro e amor Ícaro Vasconcelos, por todo o suporte, amor, carinho, paciência e dedicação. Serei eternamente grata!

À minha grande amiga e parceira de trabalho Epifânia Emanuela de Macedo Rocha, pela inspiração, dedicação, apoio, amizade, paciência e contribuições tamanhas.

Ao meu orientador, Breno Magalhães Freitas, pelos ensinamentos, orientação, exemplo e inspiração como profissional.

Aos grandes parceiros Francisco Ximenes e Francisco Douglas, pelos espaços cedidos, amizade, respeito e inspiração!

Aos grandes amigos Hiara Marques e Artur Bruno, por todas as contribuições, amizade e conselhos.

À Jamille Costa Veiga, por todas as contribuições e conselhos. Sua ajuda foi fundamental à execução deste trabalho.

Aos professores Francisco Deoclécio Guerra Paulino e Luiz Wilson Lima Verde por aceitarem o convite e atuarem como membros da banca examinadora durante a finalização do trabalho, além de todo respeito, sugestões e contribuições diretas e indiretas durante o processo.

À coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Prof<sup>a</sup>. Elzânia Sales Pereira, e à secretária do Programa, Francisca Prudêncio Bezerra, por todo apoio e prontidão sempre que necessário.

À Universidade Federal do Ceará, em especial ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia, pela oportunidade de cursar o Mestrado.

À CAPES pelo apoio financeiro e manutenção da bolsa de estudo. Esse apoio foi fundamental para o êxito nesta pesquisa.

A todos os funcionários do Setor de Abelhas – UFC, por estarem sempre dispostos a ajudar quando necessário.

Aos amigos e parceiros de trabalho no Setor de Abelhas e Departamento de Zootecnia: João Paulo, Vitória, Nádia, Larysson, Janaely, Felipe Jackson, Conceição, Felipe Rosa, David Nogueira, Caio, Pedro, Patrícia, Arianne, Letícia, Nycolas, Mateus, David Rezende, Leonardo, Victor e Diego, por todas as contribuições ao longo desses dois anos. Vocês tiveram papel essencial nessa jornada!

Aos grandes amigos, que se mantiveram ao meu lado durante anos, ajudaram a moldar características fundamentais na minha personalidade, e sempre confiaram em meu potencial. Vocês são uma grande parte de mim! Amo vocês!

À minha terapeuta que se dispôs a ouvir inúmeros momentos de angústia que vivi e sempre contribuiu para meu crescimento pessoal e conseqüentemente, profissional.

E, não menos importante, às abelhas jandaíra, que cativaram o meu coração e foram fundamentais nesse processo.

Finalmente, a todos os seres que cruzaram o meu caminho e me ensinaram de alguma forma.

“Be on the watch. There are ways out. There is a light somewhere. It may not be much light, but it beats the darkness [...]”. Charles Bukowski



## RESUMO

Os meliponíneos são um grupo diverso de abelhas tropicais, altamente eussociais e importantes polinizadores de plantas silvestres e cultivos agrícolas. A meliponicultura é uma atividade tradicional no Brasil e com grande potencial de expansão, mas apresenta limitações, dentre elas aquelas relacionadas à produção de novas colônias em criatórios racionais. Nesse sentido testamos o aproveitamento do excesso de rainhas virgens produzidas em colônias de *Melipona subnitida* para multiplicá-las, usando o mínimo de recursos possível das colônias originais. As rainhas virgens foram avaliadas quanto a diferentes categorias de idade, à influência desse fator na aceitação pelas operárias e ao estabelecimento de novas colônias, além dos principais comportamentos realizados por esses indivíduos e sua possível conexão a fatores fisiológicos. Depois disso avaliamos a eficiência de fecundação das rainhas e o estabelecimento das novas colônias em meliponários de ambientes e contextos de produção de machos distintos. Os resultados demonstraram que no método de multiplicação de colônias por aproveitamento de rainhas virgens, a idade delas não é um fator limitante para sua aceitação pelas operárias nos aspectos testados e que a existência de aglomerações de machos é fundamental para a fecundação e a formação das novas colônias. Nessas condições, o método apresentou 36,7% de sucesso, produzindo uma nova colônia a cada três rainhas que seriam desperdiçadas. O método mostrou-se muito promissor, visto o aproveitamento das rainhas virgens, que normalmente são eliminadas, o menor uso de recursos e a otimização do tempo na formação de novas colônias.

**Palavras-chave:** Agregação de machos. Conservação de polinizadores. Interações rainha virgem-operárias. Meliponicultura. Produção de colônias.

## ABSTRACT

Meliponines are a diverse group of tropical bees, highly eusocial and important pollinators of wild plants and agricultural crops. Meliponiculture is a traditional activity in Brazil and has great potential for expansion, but it has limitations, among them those related to the production of new colonies in rational farms. In this sense, we tested the use of the excess of virgin queens produced in colonies of *Melipona subnitida* to multiply them, using the minimum resources possible from the original colonies. Virgin queens were evaluated for different age categories, the influence of this factor on the acceptance by workers and the establishment of new colonies, in addition to the main behaviors performed by these individuals and their possible connection to physiological factors. After that, we evaluated the fertilization efficiency of queens and the establishment of new colonies in meliponaries of different male production environments and contexts. The results showed that in the colonies multiplication method by using virgin queens, the age of the virgin queens is not a limiting factor for their acceptance by the workers in the tested context, and that the existence of clusters of males is fundamental for the fertilization and establishment of the new colonies. Under these conditions, the method had a 36.7% success rate, producing a new colony for every three queens that would be wasted. The method proved to be very promising, considering the use of virgin queens that are normally eliminated, less use of resources and optimization of time in the formation of new colonies.

**Keywords:** Colony production. Conservation of pollinators. Male aggregation. Meliponiculture. Virgin queen-workers interactions.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	–	Imagem do meliponário experimental e a localização do Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, em Fortaleza, Ceará.....	27
Figura 2	–	Imagem do Meliponário São Francisco e a sua localização no município de Aquiraz, Ceará.....	28
Figura 3	–	Placa de Petri contendo rainha virgem e grupo de operárias. Fortaleza -CE.....	29
Figura 4	–	Alimento proteico (A); alimento energético (B); e (C) colônia montada e utilizada em teste durante o experimento. Fortaleza-CE.....	30
Figura 5	–	Disco de cria de colônia de <i>Melipona subnitida</i> produzida pelo método de aproveitamento de rainhas virgens, submetido a contagem de células pelo programa Image J.....	33
Figura 6	–	Dendrograma com grupos de rainhas virgens de jandaíra ( <i>Melipona subnitida</i> ), avaliados em categorias de idade e expressão de comportamento de dominância mais frequentes.....	36
Figura 7	–	Gáfico biplot com os dois primeiros componentes principais.....	38
Figura 8	–	Ocorrência de acasalamentos em rainhas de jandaíra ( <i>Melipona subnitida</i> ) liberadas com diferentes idades em contexto de agregações de machos.....	40
Figura 9	–	Estabelecimento de multiplicações realizadas por método de introdução de rainhas virgens de jandaíra ( <i>Melipona subnitida</i> ). A reta vermelha simboliza a média dos dados.....	40
Figura 10	–	Ovoposição semanal de rainhas fisogástricas de jandaíra ( <i>Melipona subnitida</i> ) em colônias produzidas pelo método de aproveitamento de rainhas virgens.....	41

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Aceitação de rainhas virgens de jandaíra ( <i>Melipona subnitida</i> ) em contexto de pequenos grupos de operárias, quanto as categorias de idades avaliadas.....	35
Tabela 2	- Distância de Jaccard entre as categorias de idades avaliadas, quanto à expressão dos comportamentos de dominância em rainhas virgens de jandaíra ( <i>Melipona subnitida</i> ) .....	36
Tabela 3	- Matriz de escores para as categorias de idade de introdução de rainhas virgens de jandaíra ( <i>Melipona subnitida</i> ), nos dois componentes principais selecionados (PC1 e PC2) .....	37
Tabela 4	- Ocorrência de acasalamentos de rainhas virgens de jandaíra ( <i>Melipona subnitida</i> ) em áreas distintas (Aquiraz – formação de agregações de machos em parte do ano; Fortaleza – sem formação de agregações de machos em qualquer época do ano).....	39
Tabela 5	- Ocorrência de acasalamentos de jandaíra ( <i>Melipona subnitida</i> ) em meliponário situado em Aquiraz – CE, em diferentes contextos de produção de machos.....	39
Tabela 6	- Paralelo entre o início e fim dos registros de desenvolvimento das colônias obtidas.....	41

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>13</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>15</b>
<b>2.1</b>	<b>Objetivo geral</b> .....	<b>15</b>
<b>2.2</b>	<b>Objetivos específicos</b> .....	<b>15</b>
<b>3</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>16</b>
<b>3.1</b>	<b>Meliponíneos</b> .....	<b>16</b>
<b>3.1.1</b>	<i>Origem e distribuição</i> .....	<b>16</b>
<b>3.1.2</b>	<i>Características gerais</i> .....	<b>17</b>
<b>3.1.3</b>	<i>Aspectos reprodutivos</i> .....	<b>18</b>
<b>3.1.4</b>	<i>Importância e utilização</i> .....	<b>20</b>
<b>3.2</b>	<b>Limitações na Meliponicultura</b> .....	<b>22</b>
<b>3.4</b>	<b>Abelha Jandaíra (<i>Melipona subnitida</i>)</b> .....	<b>24</b>
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>27</b>
<b>4.1</b>	<b>Áreas experimentais</b> .....	<b>27</b>
<b>4.2</b>	<b>Obtenção de rainhas virgens e montagem de colônias</b> .....	<b>28</b>
<b>4.3</b>	<b>Análise comportamental e testes de aceitação de rainhas virgens</b> .....	<b>31</b>
<b>4.4</b>	<b>Liberação e desenvolvimento de colônias</b> .....	<b>32</b>
<b>4.5</b>	<b>Análises estatísticas</b> .....	<b>33</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>35</b>
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>42</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	<b>47</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>48</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Os meliponíneos são um grupo de abelhas eussociais e bastante diverso, com mais de 500 espécies descritas em todo o mundo (ASCHER & PICKERING, 2021). Eles estão presentes nas regiões tropicais e subtropicais e desempenham importante papel nos serviços ecossistêmicos, através da polinização de plantas nativas e cultivadas dessas regiões (GIANNINI *et al.*, 2020). As colônias desses insetos são compostas por três tipos de indivíduos: machos, operárias e rainhas (SCHWANDER *et al.*, 2010; GRÜTER, 2020).

Na maioria das espécies desse grupo, a diferenciação das rainhas se dá essencialmente por fatores ambientais (alimentação), com baixa interferência genética. Portanto, essas fêmeas são formadas em células maiores, denominadas realeiras (HARTFELDER *et al.*, 2006). Entretanto, no gênero *Melipona*, a diferenciação dessas fêmeas ocorre através de uma combinação de ambos os fatores, com maior interferência genética (SCHWANDER *et al.*, 2010). Portanto, todos os indivíduos são formados em células de mesmo tamanho e, além disso, ocorre um “excedente” na produção de rainhas, que pode variar de 5 a 25% em uma colônia (SCHWANDER *et al.*, 2010; VILLASBÔAS, 2018; GRÜTER, 2020).

O criatório de meliponíneos se baseia principalmente no uso de espécies de *Melipona*, e essa atividade é conhecida como meliponicultura. (NOGUEIRA-NETO, 1953). Essa prática é antiga e bastante promissora no Brasil, entretanto ainda necessita de melhorias em muitos aspectos (VENTURIERI *et al.*, 2012; FELIX, 2015). Uma das principais limitações é a obtenção de novas colônias, visto que a coleta em ambientes naturais é proibida por lei em função da imensurável importância desses indivíduos na manutenção da biodiversidade nos ecossistemas locais (VENTURIERI *et al.*, 2012; GIANNINI *et al.*, 2020). Logo, a atividade deve depender, basicamente, de métodos artificiais de multiplicação das colônias já mantidas em criatórios registrados (CONAMA, 2020).

Os métodos de multiplicação mais difundidos e utilizados pelos meliponicultores implicam em gasto excedente de recursos biológicos, e não otimizam a produção, dado o tempo relativamente longo para a obtenção de novas colônias (VILLAS-BÔAS, 2012; 2018). Então, fazem-se necessárias alternativas aos tradicionais métodos, as quais permitam o uso potencial de colônias matrizes, de forma rápida e concisa.

Dentre as abelhas do gênero *Melipona* existentes no Brasil, a abelha popularmente conhecida com jandaíra (*Melipona subnitida*) é uma das poucas espécies que habita o semiárido nordestino, apresenta grande importância social e econômica para a região, especialmente para o Ceará, o Rio Grande do Norte e a Paraíba, e se adapta bem a ambientes protegidos para a

polinização agrícola (CRUZ *et al.*, 2004; FELIX, 2015; JAFFÉ *et al.*, 2015; MAIA-SILVA *et al.*, 2015). Além disso, suas populações estão ameaçadas principalmente pela degradação de habitats e mudanças climáticas (GIANINI *et al.*, 2017; LIMA; MARCHIORO, 2021).

Com base nesses enfoques, propõe-se, neste estudo, aprimorar técnicas de multiplicação em *Melipona*, ao utilizar a produção excedente de rainhas como uma estratégia de produção de novas colônias, além de usar *M. subnitida* como modelo biológico comportamental visando inferir mais informações a respeito do melhor aproveitamento dos indivíduos dessa espécie.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Desenvolver um método de multiplicação de colônias de jandaíra (*M. subnitida*) através do aproveitamento de rainhas virgens.

### **2.2 Objetivos específicos**

- 1 – Conhecer o papel da idade e do comportamento de rainhas virgens de jandaíra (*M. subnitida*) na sua aceitação por parte de pequenos grupos de operárias;
- 2 – Testar o sucesso de acasalamento de rainhas virgens dessa espécie produzidas pelo método de aproveitamento destas em ambientes com e sem aglomerados de machos;
- 3 – Avaliar o estabelecimento e o desenvolvimento de suas colônias produzidas pelo método de aproveitamento de rainhas virgens.



### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 Meliponíneos

##### 3.1.1 Origem e distribuição

As abelhas sem ferrão, ou meliponíneos, constituem um grupo de insetos pertencentes à família Apidae, à subfamília Apinae e à tribo Meliponini, que compreendem 58 gêneros, dentre os quais se destacam *Melipona* e *Trigona*, e possuem mais de 520 espécies descritas (e possivelmente outras 100 ainda não descritas) distribuídas na região Pantropical do globo terrestre (MICHENER, 2007; MICHENER, 2013; GRÜTER, 2020; ASCHER; PICKERING, 2021).

Os meliponíneos formam o grupo mais antigo de abelhas eussociais (GRÜTER, 2020). Nativas de regiões tropicais e subtropicais do globo, fortes evidências apontam que o centro de origem e a dispersão delas tenha sido a África, no antigo continente Gondwana (RASMUSSEN; CAMERON, 2010; ENGEL; RASMUSSEN, 2020). Essa afirmação é embasada na presença de formas primitivas de meliponíneos restritas a esse continente e na descoberta da ocorrência dessas abelhas na Europa, no final do Eoceno (ENGEL; RASMUSSEN, 2020).

O registro fóssil mais antigo é o da já extinta *Cretotrigona prisca*, uma pequena abelha operária, com comprimento aproximado de 5 mm, encontrada em âmbar em Nova Jersey na América do Norte (MICHENER; GRIMALDI, 1988 a, b). Presume-se que essa abelha tenha vivido durante o final do período Cretáceo (Maastrichtiano), há 65–70 milhões de anos (ENGEL, 2000). É importante lembrar que a América do Sul era um continente isolado até os períodos Plioceno-Pleistoceno, portanto, a distribuição das espécies atuais está relacionada, provavelmente, às mudanças climáticas recorrentes nesses períodos (CAMARGO, 2013). Portanto, estima-se que os meliponíneos evoluíram no período Cretáceo superior e existam há aproximadamente 70-87 milhões de anos (RASMUSSEN; CAMERON 2010; CARDINAL; DANFORTH, 2011; MICHENER, 2013).

Atualmente essas abelhas são amplamente distribuídas no planeta, podendo ser encontradas na África, no sudeste asiático, ao norte da Austrália, em parte do México, na América do Norte, na América Central, incluindo algumas ilhas do Caribe, e nos países da América do Sul, com exceção do Chile, tendo como limites biogeográficos de ocorrência das espécies o sul do continente no Uruguai, no Paraguai e no noroeste da Argentina (MICHENER,

2013). Estão em maior abundância na região Neotropical sendo o Brasil detentor de aproximadamente metade da diversidade já descrita (CAMARGO, 2013; PEDRO, 2014).

### 3.1.2 Características gerais

Os meliponíneos apresentam alto nível de organização social (eussociais), possuem corbícula e se caracterizam pela presença de um ferrão atrofiado sendo, portanto, incapazes de ferroar, fato que justifica sua nomenclatura usual, embora o termo correto devesse ser “abelhas que não ferroam” ao invés de “abelhas sem ferrão” (RASMUSSEN; CAMERON, 2010; ENGEL; RASMUSSEN, 2020).

As colônias de abelhas sem ferrão possuem populações que podem variar de 300 a 180.000 indivíduos, sendo geralmente maior em gêneros como *Scaptotrigona* e *Trigona*, e menor em espécies de *Melipona*, como *Melipona subnitida*, que possuem apenas algumas centenas de indivíduos em seus ninhos (MICHENER, 1946; BRUENING, 2006; KÄRCHER *et al.*, 2013). As crias são produzidas em células de favos construídas com cerúmen macio e há três tipos principais de arranjos para essas construções: favos horizontais, verticais e células agrupadas, com algumas variações entre estes (VILLAS-BÔAS, 2012; 2018; GRÜTER, 2020).

A diferenciação dos indivíduos na maioria das espécies de meliponíneos ocorre por maior influência dos fatores ambientais (alimentação) e, assim, para a produção de rainhas são construídas células de maior tamanho, que recebem maior quantidade de alimento larval (ENGELS; IMPERATRIZ FONSECA, 1990; GRÜTER, 2020). Essas células são chamadas de realeiras e estão localizadas na periferia dos favos (GRÜTER, 2020). Dessa forma, maiores quantidades de alimento larval desencadeiam uma resposta do sistema endócrino das larvas, levando ao desenvolvimento de fêmeas maiores e capazes de reproduzir as rainhas (HARTFELDER *et al.*, 2006). Os machos e as operárias são produzidos em células menores do que as realeiras, mas de mesmo tamanho para ambos os sexos (GRÜTER, 2020).

No entanto, no gênero *Melipona*, a diferenciação dos indivíduos ocorre através de uma relação entre fatores genéticos e nutricionais, com menor influência do último, de forma que é principalmente a genética da larva que determina a sua casta (rainha ou operária), ao invés da nutrição recebida. Dessa forma, não há a necessidade de células maiores para conter mais alimento, o que faz com que todas as células sejam do mesmo tamanho (KERR, 1950; ENGELS; IMPERATRIZ FONSECA, 1990; SCHWANDER *et al.*, 2010).

Esse grupo de abelhas produz naturalmente um “excesso” de rainhas, e essa proporção é definida geneticamente, variando de 5 a 25% em cada disco (KERR, 1950;

SOMMEIJER *et al.*, 2003; WENSELEERS; RATNIEKS, 2004; HARTFELDER *et al.*, 2006; GRÜTER, 2020). Geralmente as rainhas possuem tamanho menor em relação às operárias e são produzidas durante todo o ano, aparentemente sem controle por parte da colônia (IMPERATRIZ-FONSECA; ZUCCI, 1995).

### 3.1.3 Aspectos reprodutivos

Após a emergência de uma rainha em uma colônia, esta precisa ser selecionada pelas operárias, realizar o voo nupcial, atrair machos e estimular a cópula e, depois disso, retornar à colônia para finalmente realizar a ovoposição, para que então obtenha sucesso reprodutivo (IMPERATRIZ-FONSECA *et al.*, 1998; VEIGA *et al.*, 2017). Entretanto, no caso das abelhas do gênero *Melipona*, na maioria das vezes esse evento não ocorre, e as rainhas que são produzidas em excesso na colônia geralmente são mortas ou expulsas do ninho pelas operárias, dada a necessidade da presença majoritária de apenas uma fêmea reprodutiva dominante nesse contexto (KÄRCHER *et al.*, 2013).

Dessa forma, essas rainhas virgens quando emergem, podem ter os seguintes destinos: serem mortas, substituírem rainhas que lideravam as colônias onde nasceram, ou enxamearem e começarem novas colônias (IMPERATRIZ-FONSECA & ZUCCI, 1995; RATNIEKS, 2001). Recentemente, Wenseleers *et al.* (2010) relataram um possível quarto destino que seria o parasitismo social, ocorrendo quando essas rainhas invadem colônias órfãs da mesma espécie e são aceitas como as novas rainhas, mudando daí em diante a constituição genética da colônia. Em raros eventos, quando emergem em uma colônia que não possui mais rainha dominante, e que naturalmente precisa ser substituída, as chances de aceitação dessas rainhas e posterior seleção pelas operárias aumentam, principalmente quando exercem comportamentos específicos que corroboram a efetividade na sua comunicação (KÄRCHER *et al.*, 2013; SANTOS *et al.*, 2016; ARAÚJO *et al.*, 2017; VEIGA *et al.*, 2017). A seleção da nova rainha entre as várias candidatas também pode envolver parentesco genético e liberação de feromônios (IMPERATRIZ-FONSECA; ZUCCI, 1995; MEUNIER *et al.*, 2011; SKALDINA; SORVARI, 2017).

Então, essas rainhas exibem uma variedade de comportamentos, buscando serem aceitas, e isso inclui performances similares em seu repertório comportamental, como: correr pela colônia, bater suas asas ritmicamente e dilatar o abdômen (IMPERATRIZ-FONSECA; ZUCCI, 1995; VEIGA *et al.*, 2017; OTESBELGUE, *et al.* 2018). Tais comportamentos estão intimamente relacionados à atratividade dessas abelhas e a alguns autores já demonstraram que

isso pode variar em função da sua idade, o que implicaria em maior ou menor aceitação na colônia diante de contextos específicos (ENGELS; ENGELS, 1988; IMPERATRIZ-FONSECA; ZUCCHI, 1995; MENESES, 2016; VEIGA *et al.*, 2017).

Geralmente, as rainhas emergem sem exercer tais comportamentos e, dessa forma, não geram respostas comportamentais específicas em operárias (IMPERATRIZ-FONSECA; ZUCCI, 1995; VEIGA *et al.*, 2017). Assim, a primeira semana após sua emergência é decisiva, visto que é normalmente nesse período que adquirem o desenvolvimento glandular necessário para a produção de feromônios sexuais para o acasalamento (ENGELS; ENGELS, 1988; CRUZ-LANDIM *et al.*, 2000).

É nesse período, após sua seleção pelas operárias, que as rainhas já estão aptas e atrativas para a realização do voo nupcial. Provavelmente são capazes de identificar sinais químicos, que as levam às agregações masculinas, e produzir seus próprios feromônios gerando atratividade nos machos (ENGELS; ENGELS, 1988; FIERRO *et al.* 2011; VERDUGO-DARDON *et al.* 2011). Essa comunicação pode ser corroborada pelas operárias, quando essas saem da colônia para forragear (VON ZUBEN, 2017). Alguns dias antes do voo nupcial ocorrer, a rainha pode se manter próxima à entrada do ninho e realizar curtos voos de orientação e reconhecimento do local (IMPERATRIZ-FONSECA, 1977; VAN VEEN; SOMMEIJER, 2000; SOMMEIJER *et al.*, 2003; VOLLET-NETO *et al.*, 2018).

Na maioria das espécies de abelhas sem ferrão, os machos podem formar agregações fora do ninho, em geral na rota por onde uma rainha já aceita passará para o voo nupcial, permanecendo em frente e próximo à entrada ou em área mais dispersa do local de nidificação, geralmente em repouso ou voando, mas sem entrar nas colmeias (ROUBIK 1990; VAN VEEN *et al.*, 1997; VON ZUBEN, 2017; VEIGA *et al.*, 2018). Em algumas espécies de *Melipona*, os machos podem se agregar em locais sem associação ao ninho, assim como ocorre em abelhas do gênero *Apis* (SOMMEIJER; DE BRUIJIN, 1995; VAN VEEN; SOMMEIJER, 2000; SOMMEIJER *et al.*, 2004; SANTOS *et al.*, 2014).

Geralmente esses indivíduos chegam pela manhã, apresentam pico de atividade no início da tarde e desaparecem no início da noite (KERR *et al.*, 1962; VAN VEEN *et al.*, 1997; SANTOS *et al.*, 2014). Essas agregações podem conter de dezenas a milhares de indivíduos e aumentar de tamanho ao longo dos dias e um mesmo macho pode visitar o local de agregações por alguns dias seguidos (FIERRO *et al.*, 2011; BÄNZIGER; KHAMYOTCHAI, 2014; KOFFLER *et al.*, 2016; VEIGA *et al.*, 2018).

É importante ressaltar que, em abelhas sem ferrão, o potencial reprodutivo dos indivíduos provavelmente contribui na escolha de parceiros durante o acasalamento. Nesse

sentido, uma rainha pode selecionar machos mais aptos durante a cópula, e vice-versa (SMITH, 2020; VON ZUBEN, 2020). Isso ocorre, pois majoritariamente a fêmea acasala apenas uma vez, e o esperma do macho se mantém armazenado para a produção de ovos durante toda a vida dela. Já para os machos ocorre a perda do aparelho genital e posterior morte, que pode acontecer até alguns dias depois (VEIGA *et al.*, 2014).

### 3.1.4 Importância e utilização

Os meliponíneos possuem grande importância ecológica, visto que de 40 a 90% das espécies de plantas nativas de áreas tropicais são polinizadas por esse grupo (KERR *et al.*, 1996; TEIXEIRA, 2007; REYES-GONZÁLEZ *et al.*, 2014). Essas abelhas, inclusive, podem contribuir na dispersão de sementes de plantas nativas, ao coletá-las para uso em atividades de construção no ninho e incorporá-las ao geoprópolis (BACELAR-LIMA *et al.*, 2006). Esse comportamento conhecido como melitocoria, sugere a importância dessas abelhas para a manutenção dos biomas locais (WALLACE; TRUEMAN, 1995; BACELAR-LIMA *et al.*, 2006).

Além disso, esses indivíduos têm alto potencial polinizador em culturas de importância agrícola e podem explorar uma ampla gama de vegetações em decorrência de suas diversas formas e tamanhos, além de algumas espécies serem capazes de realizar polinização por vibração com eficiência (SLAA *et al.*, 2006; NUNES-SILVA *et al.*, 2010). Dessa forma podem ser mais eficientes que outras abelhas usadas comercialmente (GARIBALDI *et al.* 2013).

Também é importante ressaltar o potencial dessas abelhas na polinização de cultivos protegidos, onde beneficiam culturas como a do morango (*Fragaria × ananassa*), do pimentão (*Capsicum annuum*), do tomate (*Solanum lycopersicum*), da berinjela (*Solanum melongena*), do melão (*Cucumis melo*) e da melancia (*Citrullus lanatus*) (MALAGODIBRAGA; KLEINERT, 2004; CRUZ *et al.*, 2004; HIKAWA; MIYANAGA, 2009; VENTURIERI *et al.*, 2009; BOMFIM, *et al.*, 2013; BEZERRA, 2014).

Essas abelhas são manejadas por povos indígenas há muitos anos, e isso inclui civilizações, como os maias na América Central, os povos indígenas no Brasil, os pigmeus em Uganda e as tribos aborígenes na Austrália (POSEY, 1985; VIT *et al.*, 2013). Esses povos praticavam a meliponicultura, utilizando espécies de *Melipona*, visando à obtenção de alimentos e produtos medicinais (SCHUHLI; MACHADO, 2014; PARIS *et al.*, 2020). Entretanto, seu uso foi diminuindo em detrimento da introdução da abelha *Apis* e, dessa forma,

a apicultura foi ganhando maior destaque devido ao peso do valor comercial de seus produtos (MEIXNER *et al.*, 2010).

No Brasil, a meliponicultura tem sido realizada há séculos no meio rural, geralmente nas regiões Norte e Nordeste (POSEY, 1985). Destaca-se a importância para os povos Kayapó, na região Amazônica, que conheciam muito a respeito do comportamento e da distribuição das espécies nativas (POSEY, 1985; SOUZA *et al.*, 2012; DE CARVALHO *et al.*, 2014). Autores como Nogueira-Neto e Kerr, contribuíram no estudo e na divulgação da atividade no país, por meio de literatura única, com informações sobre manejos e guias específicos (CORTOPASSI-LAURINO *et al.*, 2006).

Até bem pouco tempo, o uso de meliponíneos não tinha destaque merecido, porém, os produtos dessas abelhas, principalmente o mel, têm ganhado visibilidade, e a atividade está em processo de transformação, em vias para sua consolidação, pois é ecologicamente adequada e com baixo investimento inicial (MAGALHÃES; VENTURIERI, 2010). Essas abelhas produzem méis que podem ser utilizados para fins medicinais e, por essas propriedades únicas, possuem bastante valorização no mercado (VENTURIERI *et al.*, 2012; SILVA *et al.*, 2014; JAFFÉ *et al.*, 2015).

Além do mel, é importante lembrar que o pólen coletado por essas abelhas tem recebido maior demanda no mercado de produtos naturais, devido a sua composição rica em proteínas. Isso ocorre, pois, ao ser processado pelas abelhas, sofre a ação de enzimas salivares depositadas para sua conservação e, nessas condições, passa a ser chamado de saborá ou samburá, dependendo da região (VILLAS-BÔAS, 2018).

O cerume, a própolis e a formação de novas colônias também são outros produtos aproveitados com a criação dos meliponíneos (VILLAS-BÔAS, 2018). Demandas recentes aumentaram a procura por colônias levando alguns meliponicultores a se dedicarem também à multiplicação e venda dessas espécies (VIT *et al.*, 2004; CORTOPASSI-LAURINO *et al.*, 2006; MENEZES, 2010; VENTURIERI *et al.*, 2012; VILLAS-BÔAS, 2018).

As grandes vantagens da exploração racional dos meliponíneos são: maior facilidade de manejo das colônias, desnecessidade do uso de roupas especiais de proteção, tanto em ambientes protegidos quanto em áreas agrícolas povoadas ou locais cujos criatórios acham-se próximos a residências; forrageamento durante todo o ano, em condições climáticas adequadas; alta diversidade de espécies, refletindo em diferentes tamanhos e hábitos ecológicos, possibilitando polinização de uma gama de espécies vegetais tropicais e subtropicais, além da possível exploração do mel e outros produtos de interesse econômico (HEARD, 1999; SLAA *et al.*, 2006; VENTURIERI *et al.*, 2012; GIANNINI *et al.*, 2020).

### 3.2 Limitações na Meliponicultura

Apesar do recente crescimento da meliponicultura, essa atividade ainda tem um futuro incerto ameaçado pela falta de informações repassadas e pela perda de interesse, principalmente pelos jovens filhos de produtores que moram no campo (BARBIERI, 2018; REYES-GONZÁLEZ *et al.*, 2020). Isso indica a perda do legado cultural associado a essa atividade, além do uso indevido desses animais, que pode ser bastante prejudicial à manutenção de ninhos selvagens, além de afetar a produção de culturas com importância agrícola, principalmente em países como o Brasil (IMPERATRIZ-FONSECA *et al.*, 2012; REYES-GONZÁLEZ *et al.*, 2020).

Associado a isso estão, principalmente, as mudanças climáticas e a perda de *habitat* naturais, causada pelo desmatamento ou outras formas de degradação, que geram impactos na distribuição e diversidade de plantas e abelhas, além de afetar a biologia desses animais (IMPERATRIZ-FONSECA *et al.*, 2012; LIMA; MARCHIORO, 2021). Em consequência dessas problemáticas, as populações desses insetos têm se tornado cada vez menores, fragmentadas e separadas por grandes distâncias (HRNCIR *et al.*, 2019).

Visando amenizar esse problema e limitar a coleta desses animais silvestres na natureza, voga, desde agosto de 2004, a Resolução do Conama nº 346, no Brasil. Recentemente, houve adaptações na Resolução nº 426 em 19 de agosto de 2020. Este documento orienta o uso dessas abelhas e as enquadra como animais silvestres, restringindo, dessa forma, a obtenção de novos enxames. Assim, a comercialização de colônias só deve ser realizada se estas forem provenientes de multiplicações de colônias matrizes já criadas de forma racional (CONAMA, 2012; CONAMA 2020). No entanto, a maioria dos meliponicultores brasileiros segue na clandestinidade (FELIX, 2015; VILLAS-BÔAS, 2018).

Essas restrições podem implicar em diminuição de ninhos de uma área e, portanto, na redução da diversidade genética daquelas populações, gerando outro fator de preocupação: a provável chance da ocorrência de endogamia nas populações. (GOULSON *et al.*, 2008; ZAYED, 2009).

Como já citado, a meliponicultura no Brasil, ainda é uma atividade muito incipiente, sendo necessária sua evolução em diversos sentidos, pois geralmente tem pouca ênfase no orçamento dos agricultores (VENTURIERI *et al.*, 2012; FELIX, 2015; JAFÉ *et al.*, 2015). Além disso está baseada principalmente na utilização de abelhas do gênero *Melipona*, maiores em tamanho e conseqüentemente mais produtoras de mel (KLEINERT *et al.*, 2009). Embora esse produto seja comercializado por um preço superior ao de *Apis mellifera*, ainda não é

regulamentado para a venda pelo Ministério da Agricultura e, ademais, o mercado também é formado por consumidores habituados a comprar apenas o mel de abelhas melíferas do gênero *Apis* (CORTOPASSI-LAURINO *et al.*, 2006; VENTURIERI *et al.*, 2012; JAFFÉ *et al.* 2015).

Apesar do grande potencial, o manejo de abelhas sem ferrão ainda não é utilizado em escala necessária para a polinização das culturas agrícolas no país (CORTOPASSI-LAURINO *et al.*, 2006). Isso ocorre, em grande parte, devido ao conhecimento inadequado da biologia dessas abelhas, o que dificulta o êxito do empreendimento a longo prazo (VENTURIERI *et al.*, 2012; VOLLET-NETO *et al.*, 2018). Nesse contexto, para atender às atuais e futuras demandas dos novos consumidores, torna-se necessário conhecer mais profundamente a respeito da biologia desses animais promovendo tecnologias de manejo adequados, além de aprimorar as técnicas de multiplicação de colônias visando à obtenção ecologicamente adequada e facilitada de enxames (VOLLETNETO *et al.*, 2018).

### **3.3 Multiplicação de colônias em abelhas sem ferrão**

A multiplicação de colônias em abelhas sem ferrão representa uma forma de conservar esse grupo de abelhas, visto que utiliza apenas colônias já adquiridas anteriormente por iscagem, compra ou resgate de enxames, não implicando na retirada de ninhos selvagens (VILLAS-BÔAS, 2018; CONAMA, 2020). Além disso, corrobora o repovoamento de populações em ambientes degradados, evitando a aquisição predatória e clandestina de ninhos naturais.

Entretanto, os principais métodos de divisão de colônias utilizados e recomendados para o manejo dessas espécies usam bastante material biológico da colônia matriz, causando impacto na obtenção de novas colônias (MENEZES, 2010; VILLAS-BÔAS, 2018). Dessa forma, esses métodos são relativamente demorados, visto os processos naturais de seleção que envolvem os indivíduos reprodutivos. Logo, a compreensão das etapas necessárias para a multiplicação é um passo decisivo para a otimização do sistema de obtenção de novas colônias (MENESES, 2016).

Também é sabido que a maioria das espécies de abelhas sem ferrão produzem um baixo número de rainhas por precisarem construir realeiras e abastecerem com grande quantidade de alimento larval (VAN VEEN; SOMMEIJER, 2000; SANTOS-FILHO *et al.*, 2006; GRÜTER, 2020) Para contornar essa limitação, alguns estudos têm desenvolvido métodos para a produção desses indivíduos, através de técnicas *in vitro*, e estes mostraram-se muito promissores para algumas espécies, além de permitirem redução do tempo para o



estabelecimento da colônia quando comparado a métodos tradicionais (PRATO, 2010; MENEZES *et al.*, 2013; BAPTISTELLA *et al.*, 2014).

No entanto, ainda há a necessidade do uso de técnicas muito específicas e que precisam ser testadas e adaptadas a cada espécie, o que pode ser um grande gargalo dada a incipiência da meliponicultura e as dificuldades de acesso aos produtores rurais. Outro fator limitante e que gera a perda de um número expressivo de rainhas, é a problemática envolvendo o estabelecimento de ninhos perenes formados a partir desses métodos (MENEZES, 2010; PRATO, 2010). Isso pode envolver desde o processo de aceitação das rainhas pela colônia (devido à agressividade das operárias), até fatores que podem interferir durante o voo nupcial, associados à fisiologia dos indivíduos sexuais ou a possíveis ataques de predadores (MENEZES, 2010; PRATO, 2011; MENESES, 2016; VEIGA *et al.*, 2017). Assim, estudos que visem minimizar esses gargalos fazem-se necessários, além da soma de informações a respeito da biologia desses animais (VOLLETTNETO *et al.*, 2018).

Em *Melipona* sabe-se que ocorre um excedente natural na produção de rainhas, como já descrito anteriormente. Esses indivíduos produzidos possuem potencial reprodutivo e geralmente não são na colônia. Portanto, o aproveitamento dessas rainhas virgens excedentes e normalmente eliminadas pela própria colônia pode ser uma alternativa viável às multiplicações utilizadas convencionalmente, dado o melhor uso das abelhas produzidas em uma colônia, sem causar danos excessivos no plantel disponível.

### **3.4 Abelha Jandaíra (*Melipona subnitida*)**

A jandaíra é uma abelha endêmica do Nordeste do Brasil, sendo uma das espécies mais indicadas para a criação racional com fins lucrativos, principalmente nas áreas semiáridas, a qual tradicionalmente proporciona uma renda extra aos meliponicultores locais (JAFFÉ *et al.* 2015; CAMARGO; PEDRO, 2013). A criação dessa abelha é destaque principalmente nos estados do Ceará, do Rio Grande do Norte e da Paraíba, e tem ocorrência confirmada em mais de 206 localidades no Nordeste (CRUZ *et al.*, 2004; CAMARGO; PEDRO, 2013; FELIX, 2015; JAFFÉ *et al.* 2015; IMPERATRIZFONSECA *et al.*, 2017).

O mel produzido por essa espécie possui maior umidade que o de *Apis mellifera*, além de possuir caráter medicinal, com propriedades antioxidantes, cicatrizantes, antimicrobianas e anti-infecciosas (ALVES *et al.*, 2008; SILVA *et al.*, 2014). Já o pólen apresenta alto valor nutricional de aminoácidos e proteínas, bem como o açúcar manitol, de

baixo valor calórico, utilizado em produtos alimentícios para pessoas com diabetes (SILVA *et al.*, 2014).

Além disso, estudo recente concluiu que o extrato hidroetanólico da geoprópolis produzida por esta espécie, possui potencial antioxidante, hepatoprotetor contra lesões hepáticas agudas e pode ser um produto natural promissor na quimioterapia (SOUZA *et al.*, 2013; PAIVA, 2020).

*M. subnitida* auxilia na polinização e conseqüentemente na produção de diversas espécies vegetais da região Nordeste, além de beneficiar culturas comerciais, como a do pimentão (*Capsicum annuum*) e da goiaba (*Psidium guajava*) (BRUENING, 2006; CRUZ *et al.*, 2004; ALVES; FREITAS, 2007). Freitas *et al.* (2000) e Oliveira Cruz *et al.* (2004) confirmaram sua boa adaptação a ambientes protegidos, corroborada por seu fácil manejo e comportamento pouco defensivo.

Essa observação pode criar um mercado de aluguel e venda de colônias dessa espécie, não explorando somente o mel produzido, mas, utilizando seus serviços de polinização para beneficiar culturas comerciais, assim como algumas espécies de *Bombus* já são utilizadas (DELAPLANE *et al.*, 2000; VELTHUIS; VAN DOORN, 2006; CRUZ; CAMPOS, 2009; DAFNI *et al.*, 2010; NUNES-SILVA *et al.*, 2010; NUNES-SILVA, 2011).

Apesar da espécie ser nativa de um ambiente com rica diversidade vegetal, possui um comportamento alimentar específico e, por esse motivo, é capaz de voar a longas distâncias em busca de alimento e água (BRUENING, 2006; SILVA *et al.*, 2006; MAIA-SILVA *et al.*, 2014; MAIA-SILVA *et al.*, 2015; IMPERATRIZ-FONSECA *et al.*, 2017).

São adaptadas evolutivamente para suportar longos períodos de seca, além de conseguirem manter sua colônia apesar da imprevisibilidade de recursos, respondendo rapidamente ao aumento da disponibilidade em campo (MAIA-SILVA *et al.*, 2015). Dessa forma, em períodos de escassez, reduzem as atividades e a produção de cria a praticamente zero, economizando reservas de alimentos e, assim, são capazes de restabelecer colônias contendo apenas algumas dezenas de operárias (HRNCIR *et al.*, 2019).

É fato que essa espécie está ameaçada de extinção, e isso está intimamente ligado às mudanças climáticas, ao uso inadequado de pesticidas e à exploração indevida de seus recursos, ocasionando a destruição de seus *habitat* e ninhos naturais (POTTS *et al.* 2016; GIANNINI *et al.* 2017; PINHEIRO *et al.*, 2020; SILVA *et al.*, 2020; LIMA; MARCHIORO, 2021). Essas circunstâncias são preocupantes devido à baixa dispersão de seus enxames (OLIVEIRA *et al.*, 2013).

Portanto, independentemente do objetivo de explorar economicamente ou simplesmente conservar a espécie, faz-se necessário o desenvolvimento de técnicas que promovam a multiplicação dessas abelhas de forma eficiente (VOLLET-NETO *et al.*, 2018).

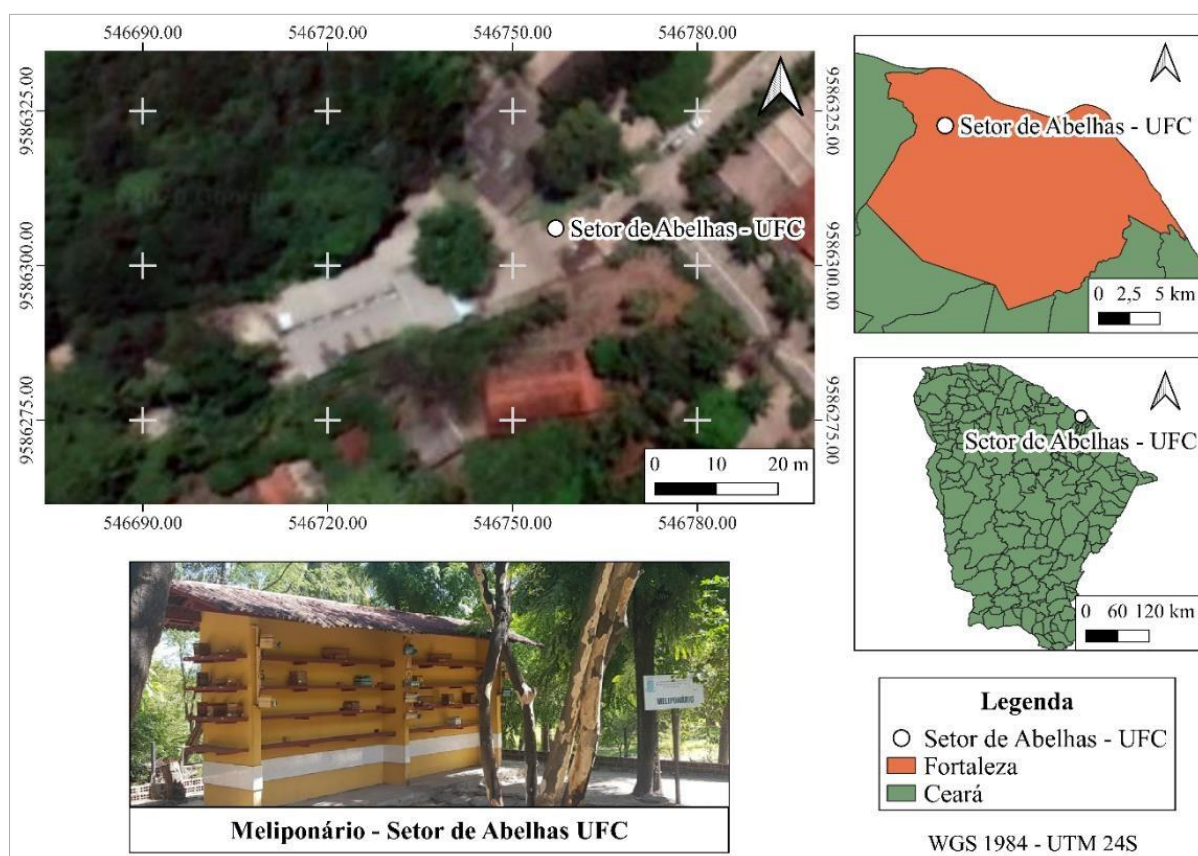
## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Áreas experimentais

O estudo foi conduzido entre agosto de 2019 e fevereiro de 2021, no Setor de Abelhas, Departamento de Zootecnia, Campus do Pici, Universidade Federal do Ceará, situado em Fortaleza – CE ( $03^{\circ} 43' 02''\text{S}$  e  $38^{\circ} 32' 35''\text{W}$ ; Altitude: 16 m) (Figura 1), e, concomitantemente, de setembro a dezembro de 2020, em área experimental no Meliponário São Francisco, em Aquiraz – CE ( $3^{\circ} 54' 03''\text{S}$   $38^{\circ} 23' 27''\text{O}$ ; Altitude: 14,6 m) (Figura 2).

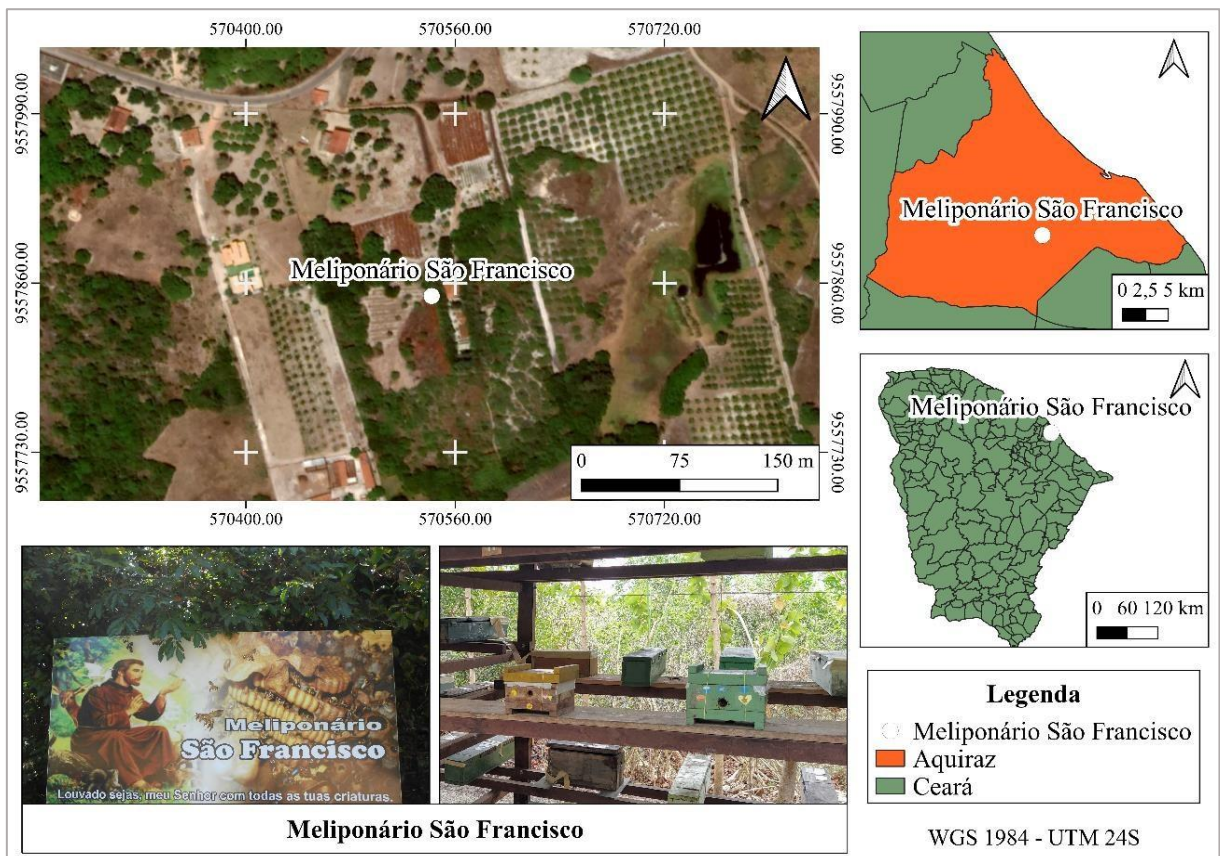
Ambos os municípios têm clima Tropical Quente Subúmido, pela classificação de Köppen, com períodos chuvosos entre os meses de janeiro e maio, e temperaturas médias entre  $26^{\circ}\text{C}$  e  $28^{\circ}\text{C}$  (IPECE, 2017). A vegetação predominante no Setor de Abelhas, em Fortaleza, enquadra-se como Mata de Tabuleiro, já no Meliponário São Francisco, em Aquiraz, predomina o tipo vegetacional de Cerrado Costeiro (MORO *et al.* 2015).

Figura 1 - Imagem do meliponário experimental e a localização do Setor de Abelhas da Universidade Federal do Ceará, em Fortaleza, Ceará.



Fonte: elaborado pela autora.

Figura 2 - Imagem do Meliponário São Francisco e a sua localização no município de Aquiraz, Ceará.



Fonte: elaborado pela autora.

#### 4.2 Obtenção de rainhas virgens e montagem de colônias

Quinze colônias matrizes saudáveis de abelhas da espécie *M. subnitida* (jandaíra) foram selecionadas no meliponário no Setor de Abelhas da UFC, das quais se obtiveram discos de cria em estado maduro (crias emergentes) e os demais recursos utilizados ao longo dos testes experimentais que incluíram operárias jovens e cerúmen. Essa coleta foi realizada semanalmente, em colônias diferentes e com intervalo de pelo menos três semanas entre as coletas de cada colônia. Esse manejo fez-se necessário para evitar danos excessivos no plantel.

Para a obtenção das rainhas virgens (princesas), os discos foram acondicionados em caixa plástica, sobre tela de metal, forrada com papel toalha seco, e um pequeno espaço umedecido com água limpa e filtrada, destinado ao acúmulo de lixo pelas abelhas. Os alimentos: energético (mel de *Apis mellifera*) e proteico (pólen desidratado de *Apis mellifera*), foram ofertados à vontade. Algumas operárias jovens foram introduzidas, com o intuito de garantir a realização de tarefas básicas e facilitar a emergência e alimentação das princesas. A

caixa foi armazenada em estufa artesanal, com lâmpada vermelha de 15W para o aquecimento das crias. Para o controle de temperatura e umidade, foi utilizado um termo-higrômetro modelo MT-241, Minipa<sup>®</sup>, acoplado à estufa.

À medida que as princesas emergiam, foram marcadas no tórax (com tinta atóxica, Acrilex<sup>®</sup>), a fim de facilitar a identificação visual. Logo após a marcação foram introduzidas, com ajuda de um aspirador-sugador caseiro para captura de abelhas, em placas de Petri (90x15mm) contendo pequenos grupos de operárias jovens e/ou recém-emergidas (dez a 30 operárias), alimento energético e proteico, armazenados em micro tubos do tipo eppendorf (1,5 mL), e um pequeno pedaço de papel toalha umedecido para a indução de acúmulo de lixo (Figura 3). As placas foram identificadas com etiquetas contendo a data de nascimento da princesa e a cor da tinta utilizada para a marcação.

Figura 3 – Placa de Petri contendo rainha virgem e grupo de operárias. Fortaleza -CE.



Fonte: elaborado pela autora.

Para a montagem de colônias, foram utilizados ninhos modelos INPA, (15x15cm), e em seguida, ofertados alimentos proteico – pólen desidratado de *Apis mellifera* (Figura 4A), e energético – mel de *Apis mellifera* (Figura 4B), em tampas de garrafa pet, potes artificiais produzidos com cera mista, um espaço dedicado à lixeira, cera pura de *M. subnitida* moldada em formato de disco e alocada no centro da colmeia. Essa última providência foi uma alternativa ao uso de favos de cria visando à prevenção de danos ao plantel manejado.

As colônias (Figura 4C) foram montadas imediatamente antes da realização de cada teste descrito nos próximos tópicos. Em caso de necessidade em refazê-los, foi dada preferência por montar novas caixas, para impedir que o odor característico das rainhas utilizadas anteriormente causasse interferência na resposta das operárias. A visualização dos indivíduos foi facilitada através de uma placa de vidro ou acetato transparente colocada sobre o ninho.

Figura 4 – Alimento proteico (A), alimento energético (B), e (C) colônia montada e utilizada em teste durante o experimento. Fortaleza-CE.



Fonte: elaborado pela autora.

### 4.3 Análise comportamental e testes de aceitação de rainhas virgens

Inicialmente foram realizadas observações prévias com o intuito de definir os principais comportamentos a serem registrados em rainhas virgens ao longo dos testes. Nessa etapa foram montadas cinco colônias e, em seguida, introduzidas entre 30 e 50 operárias jovens (ainda incapazes de voar), além de uma rainha virgem com 1 dia de vida, por colônia.

As observações foram realizadas ao longo de cinco dias, por 30 minutos diários, sendo: 15 min entre 9-10h e 15 min entre 14-15h. Esse período foi estabelecido, visto que é possível ter uma perspectiva das principais atividades realizadas pela rainha e suas interações com a colônia durante o dia e, em menos de uma semana, é possível acompanhar os comportamentos fundamentais durante o processo de aceitação de uma rainha virgem em uma colônia (SILVA *et al.*, 1972; IMPERATRIZ-FONSECA; ZUCCHI, 1995; SOMMEIJER *et al.*, 2003; SANTOS *et al.*, 2015; OTEBELGUE *et al.*, 2018). Durante os dias de observação, foram introduzidas algumas operárias, simulando o contexto natural de nascimento de novas operárias.

Dessa forma foram selecionados os seguintes comportamentos exercidos por rainha virgem de *M. subnitida*: dilatar (inflar) o abdômen, correr e bater as asas pela colônia e girar em torno do próprio eixo, além dos comportamentos que envolvem os indivíduos da colônia, como trofaláxis, receber cortejo e andar sobre operárias.

Então, para a realização dos testes de aceitação das rainhas virgens pelas operárias, foram estabelecidas as seguintes categorias de idade de introdução de rainhas avaliadas em contexto de colônia: um, três, cinco, sete, dez e 14 dias após a emergência. Ao total foram avaliadas 70 colônias e cada rainha observada quanto aos comportamentos exercidos, seguindo o padrão mencionado.

A montagem das colônias seguiu os protocolos já descritos, no entanto a rainha foi introduzida juntamente ao grupo de operárias em que estava confinada na placa de Petri, durante o armazenamento em estufa. Assim foram registrados: a data da introdução das rainhas na colônia, os comportamentos exercidos ao longo dos dias e a aceitação (ou não) pelas operárias.



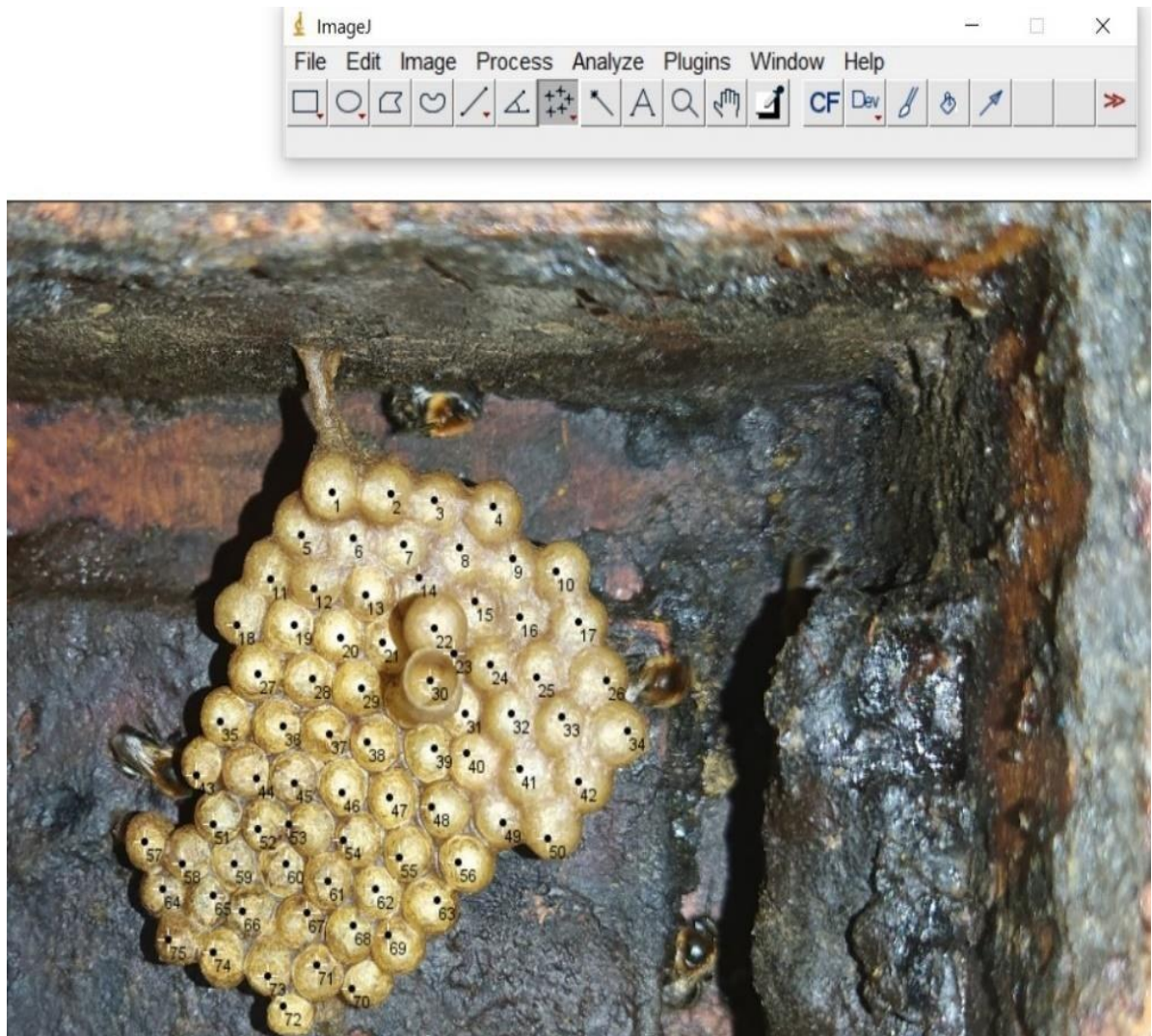
#### 4.4 Liberação e desenvolvimento de colônias

Parte das colônias obtidas após o teste de aceitação foi liberada no meliponário do Setor de Abelhas – UFC. Essa etapa se estendeu entre os meses de setembro de 2019 e março de 2020. Outras colônias, seguindo o mesmo protocolo de montagem e introdução de rainhas virgens, foram liberadas no meliponário localizado em área experimental em Aquiraz – CE, entre os períodos de setembro e dezembro de 2020. As idades das rainhas liberadas variaram entre um e 21 dias.

Em ambas as áreas, foi observada a produção de machos através da realização de manejos semanais para a coleta de discos nas colônias disponíveis. Além disso, com maior frequência (bissemanal), foram realizados manejos alimentares (mel e pólen desidratado de *Apis mellifera*) visando induzir o aumento na produção desses indivíduos, visto que o nível de reservas alimentares influencia diretamente nesse aumento (SOMMEIJER *et al.*, 2003; CHINH; SOMMEIJER, 2005; MORAIS *et al.*, 2006). A liberação das colônias formadas pelo método ocorreu da seguinte maneira: geralmente ao fim da tarde, com aproximadamente 50-60 operárias por caixa e alimento *ad libitum*.

Após a liberação, as colônias foram monitoradas quanto à permanência das princesas até a realização do voo nupcial e, em casos de retorno à colônia, observadas diariamente até a ocorrência da primeira ovoposição. Depois disso, realizaram-se registros fotográficos semanais visando mensurar a quantidade de células ovopositadas pela rainha fisogástrica. Essa etapa de acompanhamento ocorreu no meliponário da Universidade Federal do Ceará e totalizou oito semanas. O intuito foi acompanhar a velocidade de desenvolvimento das colônias formadas pelo método proposto. As contagens de células foram feitas com o auxílio do programa Image J (Figura 5).

Figura 5 - Disco de cria de colônia de *Melipona subnitida* produzida pelo método de aproveitamento de rainhas virgens, submetido à contagem de células pelo programa Image J.



Fonte: elaborado pela autora.

#### 4.5 Análises estatísticas

Após a coleta de dados, foi computada a frequência geral dos comportamentos avaliados sendo estes analisados quanto às categorias de idade de introdução da rainha, com as seguintes estatísticas multivariadas: distância de Jaccard, para avaliar a similaridade entre os dados; análise de agrupamentos, para formar grupos com maior similaridade entre as idades de introdução avaliadas, e análise de componentes principais, para caracterizar os grupos formados quanto aos comportamentos exercidos com maior frequência.

Para avaliar se a aceitação das rainhas virgens diferiu significativamente entre as categorias de idade estabelecidas, foi realizado o teste exato de Fisher a 5% de significância. A

justificativa para o uso deste teste foi a não normalidade dos dados e por se tratar de dados de presença ou ausência (aceita ou não aceita).

Na avaliação da ocorrência de cópula entre as áreas testadas (Fortaleza e Aquiraz), foi utilizado o teste de Mann-Whitney ao nível de significância de 5%. A primeira ovoposição das rainhas fisogástricas (estabelecimento das colônias) e o desenvolvimento das colônias foram analisados utilizando-se estatística descritiva. Todos os testes foram realizados pelo programa SAS versão universitária.

## 5 RESULTADOS

O método de introdução de rainha virgens proposto resultou em 57 fêmeas reprodutivas aceitas dentre as 70 testadas, totalizando em 81,4% de aceitação efetiva no contexto de pequenos grupos de operárias. Não houve diferença estatística entre as categorias de idade avaliadas, sendo possível inferir que a aceitação de rainhas virgens, para a espécie estudada, independe da idade de introdução na colônia, dentro do intervalo proposto (Tabela 1). Em casos de não aceitação, as rainhas foram agredidas e mortas em menos de 48h após a introdução.

Tabela 1. Aceitação de rainhas virgens de jandaíra (*Melipona subnitida*) no contexto de pequenos grupos de operárias, quanto às categorias de idades avaliadas.

Idade (dias)	Número de rainhas virgens introduzidas	Aceitação*	Porcentagem de aceitação (%)
1	14	10	71,4
3	10	9	90,0
5	13	10	76,9
7	17	14	82,4
10	8	7	87,5
14	8	7	87,5
<b>Total/média</b>	70	57	81,4

\* Teste exato de Fisher ( $p = 0,05$ ). Fonte: elaborada pela autora.

Dentre os comportamentos exercidos pelas rainhas virgens nesse estudo, o mais frequentemente observado foi a trofalaxia com operárias (28%), seguido de inflar o abdômen (25,5%) e girar em torno do próprio eixo (22,7%). Andar e bater as asas ritmicamente (13%), receber corte de operárias (7,7%) e andar sobre operárias (3,1%) apresentaram menor expressão ao longo dos dias de observação. Além dos comportamentos exercidos com frequência, foi possível observar outros tipos, em casos pontuais como inspecionar células construídas por operárias, alimentar-se sozinha e evadir a potenciais ataques.

Ao longo dos dias de observação, houve expressão de todos os comportamentos descritos, entretanto em frequências diferentes para cada grupo e, ao se utilizar o método da distância de Jaccard foi possível observar que existe dissimilaridade entre as categorias de idade de introdução testadas (Tabela 2). A maior distância foi obtida entre as rainhas virgens introduzidas com um e 14 dias de idade, seguido pela distância entre as rainhas introduzidas com um e três dias de idade.

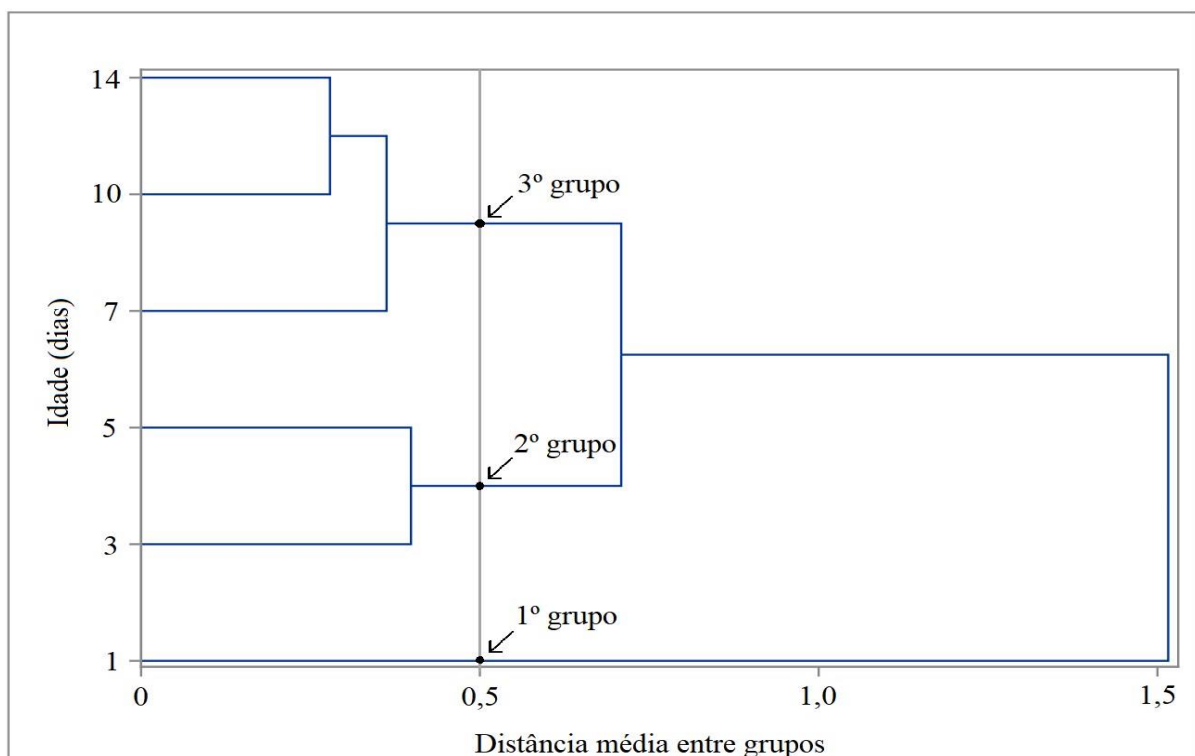
Tabela 2. Distância de Jaccard entre as categorias de idades avaliadas, quanto à expressão dos comportamentos de dominância em rainhas virgens de jandaíra (*Melipona subnitida*).

Idades (Dias)	Idades (Dias)					
	1	3	5	7	10	14
1	0					
3	0,0721	0				
5	0,0536	0,0173	0			
7	0,0563	0,0282	0,0217	0		
10	0,0688	0,0263	0,0264	0,0124	0	
14	0,0747	0,0496	0,0231	0,0184	0,0121	0

Fonte: elaborada pela autora.

Com os dados de distância multivariada, obteve-se grupos de rainhas virgens com padrões de comportamento similares: fêmeas reprodutivas introduzidas com um dia de idade apresentaram padrões que diferem dos demais e, portanto, formaram o primeiro grupo; fêmeas introduzidas com idade de três a cinco dias mostraram padrões similares formando o segundo grupo; e abelhas de sete, dez e 14 dias de idade formaram o terceiro e último grupo (Figura 6).

Figura 6. Dendrograma com grupos de rainhas virgens de jandaíra (*Melipona subnitida*) avaliados em categorias de idade e expressão de comportamento de dominância mais frequentes.



Fonte: elaborada pela autora.

Para caracterizar os grupos formados anteriormente, realizou-se análise de componentes principais. Nessa análise foram selecionados os dois primeiros componentes principais (PC1 e PC2) pelo critério de Kaiser, em que se utilizam aqueles que tenham autovalores maiores do que 1. PC1 e PC2 explicam, juntos, 77,2% da variância dos dados de comportamento em função da idade (Tabela 3).

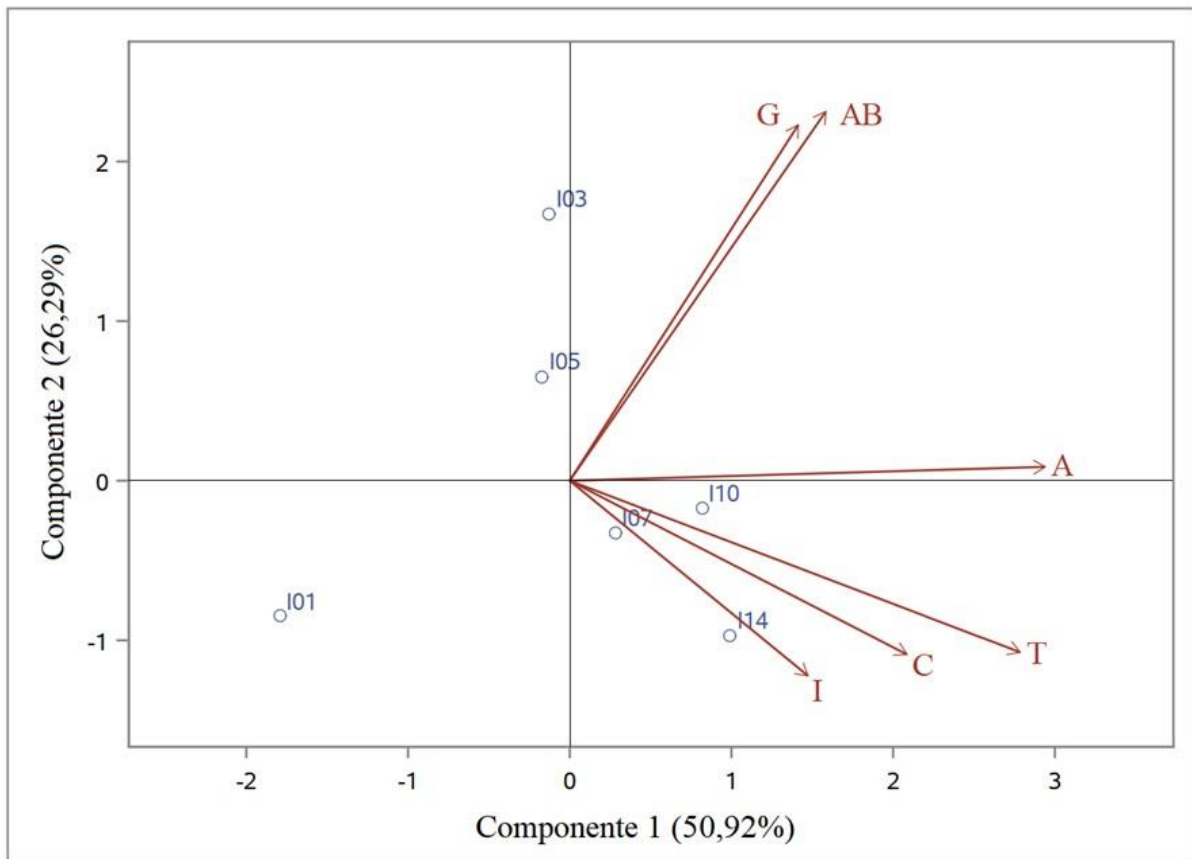
Tabela 3. Matriz de escores para as categorias de idade de introdução de rainhas virgens de jandaíra (*Melipona subnitida*), nos dois componentes principais selecionados (PC1 e PC2).

<b>Variáveis</b>	<b>PC1</b>	<b>PC2</b>
I	0.28	-0.32
G	0.27	0.59
AB	0.30	0.61
A	0.56	0.02
C	0.40	-0.29
T	0.53	-0.29
<b>Autovalores</b>	3.06	1.58
<b>Variância (%)</b>	50.9	26.29
<b>Variância acumulada (%)</b>	50.9	77.2

I- Inflar abdômen.; G- Girar em torno do próprio eixo; AB- Andar e bater as asas ritmicamente; A- Andar sobre operárias; C- Receber corte; T- Realizar trofaláxis com operárias. Fonte: elaborada pela autora.

Dessa maneira, PC1 e PC2 foram plotados em gráfico biplot (Figura 7). Assim constatou-se que a primeira categoria de idade de rainhas virgens (I01) apresentou menor frequência de execução dos seguintes comportamentos: girar em torno do próprio eixo (G), andar e bater as asas ritmicamente (AB) e andar sobre operárias (A). Em contrapartida, o grupo 2 (I03 e I05) executou os comportamentos mencionados anteriormente de forma mais frequente. O terceiro grupo de fêmeas (I07, I10 e I14), apresentou maior frequência dos comportamentos: trofaláxis com operárias (T), receber corte de operárias (C) e inflar o abdômen (I) (Figura 7).

Figura 7. Gáfcico biplot com os dois primeiros componentes principais.



G- Girar em torno do próprio eixo; AB- Andar e bater as asas ritmicamente; A- Andar sobre operárias; T- Realizar trofaláxis com operárias; C- Receber corte; I- Inflar abdômen. Fonte: elaborada pela autora.

Apesar da produção de machos ter sido constatada em ambos os locais, apenas em Aquiraz foi observada a formação de agregações desses indivíduos em dois pontos. Ambos, próximos à área geral de nidificação, especificamente nas colunas do meliponário, aproximadamente a 2,5 m acima do solo. Os indivíduos estavam em poucas dezenas e apresentaram pico de atividade entre 11 e 13h. Foi possível observar também a presença de operárias nessas agregações. Essas formações estenderam-se por vários dias e até mesmo semanas, entre os meses de setembro e outubro, no entanto houve diminuição gradual na presença de indivíduos ao final do mês de outubro.

Dessa forma, o sucesso do método diferiu estatisticamente, ocorrendo produção de machos em ambas as áreas, mas com formação de agregações em parte do ano, em Aquiraz-CE, e sem formação de aglomerações desses indivíduos em qualquer época do ano, em Fortaleza-CE (Tabela 4). Dentre as 30 colônias liberadas no meliponário do Setor de Abelhas na Universidade Federal do Ceará, três obtiveram sucesso (10%). Suas rainhas tinham 18, 15

e sete dias após emergência e copularam nos meses de setembro, novembro e março, respectivamente.

Tabela 4. Ocorrência de acasalamentos de rainhas virgens de jandaíra (*Melipona subnitida*) em áreas distintas (Aquiraz – formação de agregações de machos em parte do ano; Fortaleza – sem formação de agregações de machos em qualquer época do ano).

Área	Número de colônias testadas	Ocorrência de cópula*	Porcentagem de sucesso (%)
Com agregações de machos em parte do ano	45	12 a	26,7
Sem agregações de machos em qualquer época do ano	30	3 b	10,0
Total	75	15	

\*Amostras seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Mann-Whitney ( $p = 0,05$ ). Fonte: elaborada pela autora.

Já, em Aquiraz, 12 das 45 rainhas liberadas no meliponário copularam (Tabela 4; Tabela 5). Entretanto, a maioria desses casos ocorreu na presença de agregações de machos totalizando em 11 cópulas nesse período (Tabela 5; Figura 8). As rainhas que apresentaram fisogastria durante o período de agregações foram liberadas em diferentes idades e tinham entre três e 21 dias (Figura 8). A única rainha que copulou fora desse período (em dezembro) foi liberada aos sete dias após a emergência. Portanto, o método de multiplicação proposto obteve 36,7% de sucesso em período de agregações de machos (Tabela 5).

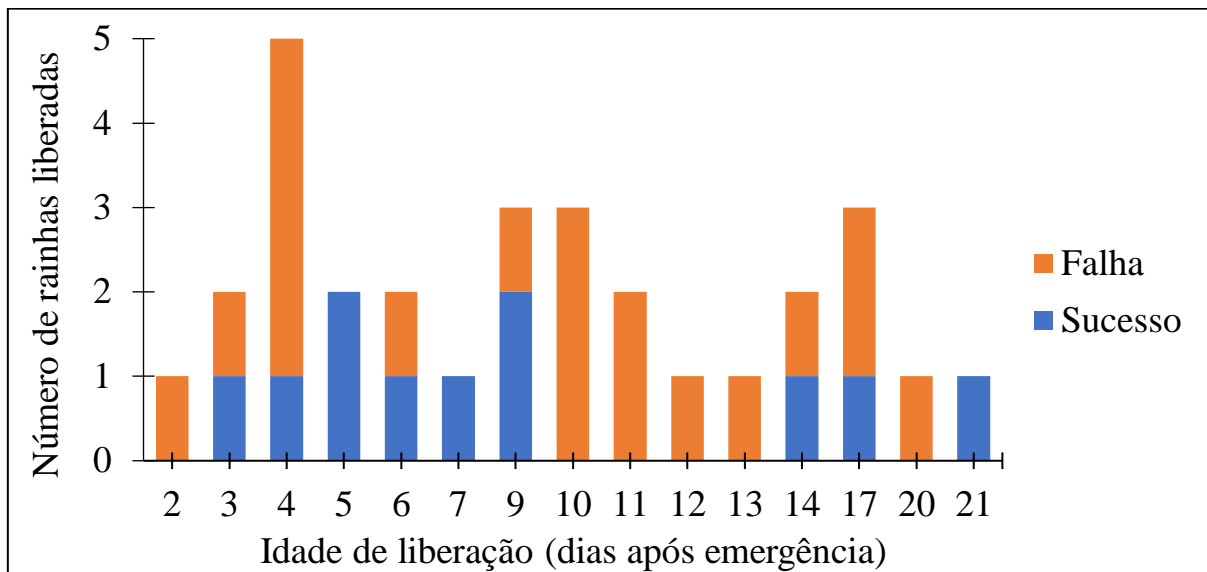
Tabela 5. Ocorrência de acasalamentos de jandaíra (*Melipona subnitida*) em meliponário situado em Aquiraz – CE, em diferentes contextos de produção de machos.

Contexto	Número de colônias testadas	Ocorrência de cópula*	Porcentagem de sucesso (%)
Presença de agregações (Set/Out)	30	11 a	36,7
Sem presença de agregações (Nov/Dez)	15	1b	6,7
Total	45	12	

\*Amostras seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de MannWhitney ( $p = 0,05$ ). Fonte: elaborada pela autora.



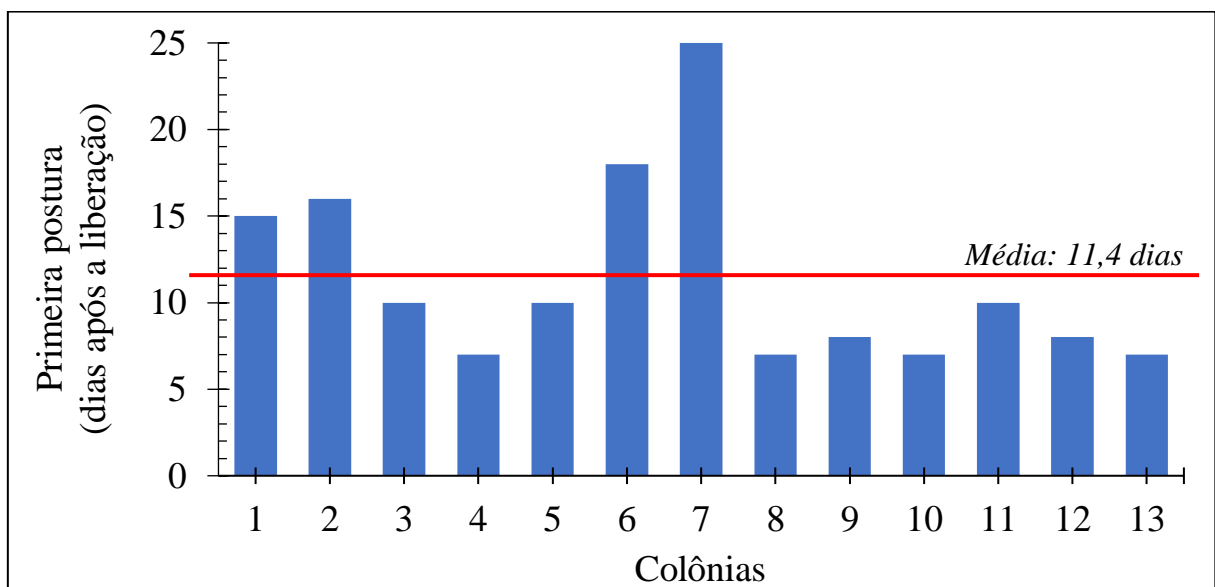
Figura 8. Ocorrência de acasalamentos em rainhas de jandaíra (*Melipona subnitida*) liberadas com diferentes idades em contexto de agregações de machos.



Fonte: elaborada pela autora.

Das 15 rainhas que copularam (Tabela 3 ou 4) e retornaram as suas respectivas colônias, ao considerar ambas as áreas (Aquiraz e Fortaleza), 13 sobreviveram e levaram entre sete e 25 dias para a realização da primeira ovoposição, confirmando o sucesso das cópulas e seus estabelecimentos (Figura 9). A média de dias para o estabelecimento das colônias multiplicadas pelo método foi de 11,4 dias.

Figura 9. Estabelecimento de multiplicações realizadas por método de introdução de rainhas virgens de jandaíra (*Melipona subnitida*). A reta vermelha simboliza a média dos dados.



Fonte: elaborado pela autora.

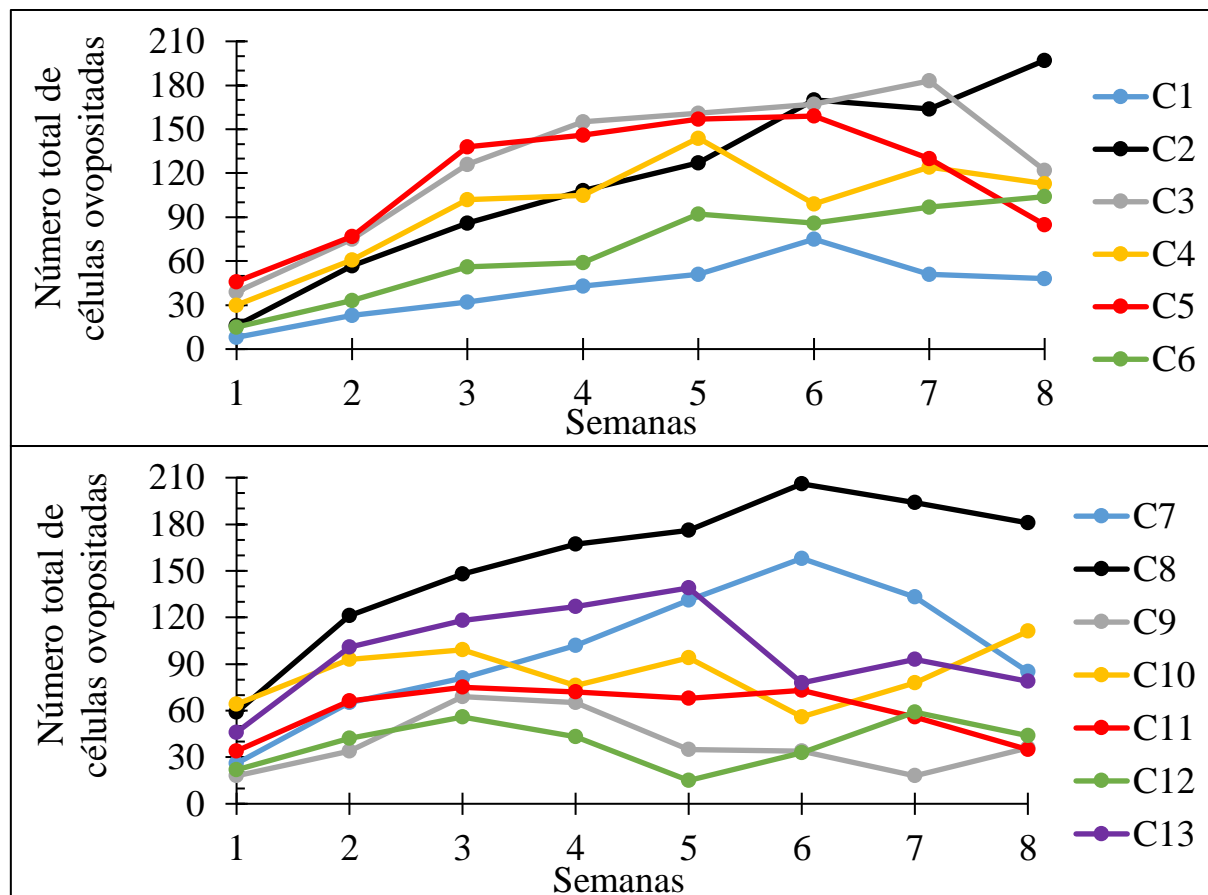
A produção de células ovopositadas por rainha, para as 13 colônias avaliadas semanalmente, variou entre oito e 64 células totais, com média aritmética de 32,5 células, ao fim da primeira semana. Ao final dos registros (oitava semana), o número de células ovopositadas variou entre 35 e 197, com média de 95,38 células totais (Tabela 6; Figura 10).

Tabela 6. Paralelo entre o início e fim dos registros de desenvolvimento das colônias obtidas.

Estatísticas descritivas	Número total de células ovopositadas	
	1ª semana	8ª semana
Média	32,54 ± 17,44	95,38 ± 51,26
Mediana	30,00	85,00
Moda	46,00	85,00
Mínimo	8,00	35,00
Máximo	64,00	197,00
W <sup>(1)</sup>	0,63*	0,19*

W – Valor calculado no teste Shapiro-Wilk ( $\alpha=0,05$ ); \* – Distribuição normal pelo teste de Shapiro-Wilk ( $\alpha=0,05$ ). Fonte: elaborada pela autora.

Figura 10. Ovoposição semanal de rainhas fisogástricas de jandaíra (*Melipona subnitida*) em colônias produzidas pelo método de aproveitamento de rainhas virgens.



Fonte: elaborada pela autora.

## 6 DISCUSSÃO

Neste estudo, a idade de introdução de rainhas virgens em pequenos grupos de operárias não foi um fator limitante. Isso se deve, provavelmente, à montagem de um contexto artificial, em que as potenciais possibilidades de morte de rainhas são descartadas. Isso se deve, não somente à eliminação da competição natural entre rainhas virgens que emergem naturalmente em excesso em *Melipona* (KÄRCHER *et al.*, 2013), mas também, pela utilização somente de operárias jovens.

A secreção das glândulas mandibulares, em abelhas sem ferrão, parece estar relacionada à produção de feromônios. Entretanto, apesar do maior desenvolvimento dessas glândulas em operárias jovens, os materiais secretados permanecem armazenados e seu uso está relacionado apenas ao momento do forrageamento, que coincide com a maior produção dos feromônios de alarme (CRUZ-LANDIM *et al.*, 2011). Dessa forma, operárias mais jovens estão menos propensas à agressividade (PEARCE *et al.*, 2001); e geralmente estão associadas a atividades internas da colônia, como fornecimento do alimento larval e cuidados básicos com as crias e as rainhas (atividades envolvendo o POP), além da construção e operculação de células, bem como do processamento do material residual (lixo) (ROBINSON, 1992; MORITZ; SOUTHWICK, 1992; ROBINSON; VARGO, 1997; WINSTON, 2003; PANDEY; BLOCH, 2015; MATEUS *et al.*, 2019). Portanto é menos provável que sejam agressivas com as rainhas virgens.

Ademais, o confinamento dessas rainhas com um grupo de operárias em placas de Petri pode ter funcionado como uma “pré-seleção”, visto que o contexto social é essencial sobre competências reprodutivas e expressão da atratividade em rainhas virgens (VEIGA *et al.*, 2017), sendo que isso está intimamente ligado à expressão de comportamentos de dominância em relação aos demais indivíduos da colônia (IMPERATRIZ-FONSECA & ZUCCHI, 1995). E, diferente do que já foi discutido para operárias jovens, a atividade das glândulas mandibulares em rainhas virgens, quando emergem, é mais alta e, além disso, a produção do hormônio juvenil é maior, e esses fatores estão relacionados à expressão de feromônios e ao estado reprodutivo (CRUZ-LANDIM *et al.*, 2011; CARDOSO-JÚNIOR *et al.*, 2017).

É importante ressaltar também que operárias jovens possuem exoesqueleto relativamente macio e, dessa forma, são incapazes de executar ataques de forma eficaz (MICHELETTE; SOARES, 1993; CASSILL *et al.*, 2008; ANDERSEN, 2012). Esse fato

também corroborou para a sobrevivência dessas rainhas até que recrutassem um grupo maior de operárias na colônia.

Os comportamentos exercidos por rainhas virgens de *M. subnitida* estão de acordo com os frequentemente descritos na literatura para outras espécies de *Melipona* (IMPERATRIZ-FONSECA & ZUCCHI, 1995; JARAU *et al.*, 2009; VEIGA *et al.*, 2017). Também foi possível observar que, diante o contexto proposto, rainhas com um dia após emergência apresentaram traços comportamentais e morfológicos que indicavam atratividade, como girar em torno do próprio eixo, acompanhados de distensão abdominal (CAMARGO, 1972; IMPERATRIZ-FONSECA & ZUCCHI, 1995; VEEN *et al.*, 1999; KÄRCHER *et al.*, 2013; VEIGA *et al.*, 2017).

Sabe-se que, em algumas espécies de abelhas sem ferrão, rainhas já nascem aptas para a reprodução (CAMARGO, 1972; SOMMEIJER *et al.*, 2003). Ademais, Veiga (2017) levantou a hipótese de que essa precocidade reprodutiva pode sugerir um tipo de estratégia diretamente ligada às pressões de alta competição reprodutiva dada a produção “excessiva” de rainhas a que as espécies de *Melipona* estão submetidas. Portanto, para rainhas de *M. subnitida* seria vantajoso expressar aptidão reprodutiva mais cedo, além de manter esse estado por mais tempo, garantindo maior oportunidade de se reproduzir e perpetuar genes.

Em contrapartida houve a formação de grupos que apresentavam padrões comportamentais mais similares. Sabe-se que o pico reprodutivo, em rainhas de algumas espécies desse grupo de abelhas, acontece por volta dos dez a 14 dias de vida (ENGELS & ENGELS, 1988; ENGELS *et al.*, 1993; SANTOS, 2012). Portanto, isso pode sugerir que, apesar de as rainhas de *M. subnitida* estarem aptas muito jovens, provavelmente apresentam variações hormonais em sua curta ontogenia (FERREIRA-CALIMAN *et al.*, 2013), expressas, neste caso, pela maior frequência de comportamentos específicos à medida que envelheceram.

É provável que rainhas muito jovens (um dia de emergência) de *M. subnitida*, sejam eficientes em induzir respostas específicas apenas em operárias (KOEDAM *et al.*, 1995; VELTHUIS *et al.*, 2006; KÄRCHER *et al.*, 2013; VEIGA, 2017) e não em machos. Isso é confirmado pela maior distância entre padrões comportamentais em rainhas de um e três dias e de um e 14 dias. Algo que não ocorre entre rainhas de três e 14 dias, sugerindo uma maior linearidade nesse período. Isso também é corroborado pela ocorrência de acasalamentos em rainhas liberadas entre de três e 21 dias após emergência.

A vitelogenina (Vg) é uma proteína associada ao desenvolvimento ovariano em abelhas e pode refletir o status reprodutivo desses indivíduos (JEDLICKA *et al.*, 2016; LOCKETT *et al.*, 2016; AWDE *et al.*, 2020), pois seu aumento coincide com o período que

antecede o voo nupcial em meliponíneos (ENGELS, 1987). Se esse for o caso também para rainhas virgens de *M. subnitida*, então os eventos já citados podem estar relacionados a um provável aumento da produção de Vg em rainhas a partir de três dias de vida, que se mantém por pelo menos três semanas.

Esses eventos também podem ser explicados pelo possível aumento na produção de diferentes compostos voláteis por glândulas cefálicas em rainhas virgens, a partir dos três dias de vida, que já indicaram ser capazes de gerar atratividade em machos a diferentes distâncias (VERDUGO-DARDON *et al.* 2011), ou ainda, pelo início (ou aumento) da produção de hexanoato de isopropila, produzido por glândulas abdominais. Em *Tetragonisca angustula*, esses compostos voláteis produzidos tanto por rainhas virgens quanto por fisogástricas, provocaram forte resposta em machos de agregações (FIERRO *et al.*, 2011).

Apesar da constante produção de machos em *M. subnitida*, já relatada na literatura (CONTEL; KERR, 1976), foi possível confirmar que o sucesso do método proposto esteve intrinsecamente ligado à maior produção desses indivíduos e à formação de agregados. Isso foi certificado pela majoritária ocorrência de acasalamentos em rainhas durante a formação de agregados de machos dessa espécie em Aquiraz – CE, sendo de suma importância realizar manejos visando à sincronização da maior produção dos indivíduos sexuais de uma área com a realização de práticas de multiplicação. E, embora isso ocorra, ainda houve alguns casos de acasalamento fora desse contexto. Isso pode indicar mais um tipo de estratégia evolutiva dessa espécie, com a ocorrência de cópulas mesmo em períodos de maior escassez de recursos no campo. A ocorrência de acasalamentos fora do período de maior produção de machos, novamente, é endossada pela produção de indivíduos sexuais durante todo o ano (CONTEL; KERR, 1976) e pela aptidão reprodutiva prolongada dessas rainhas, já discutida anteriormente.

Em Fortaleza, a produção de machos foi observada durante as coletas de discos realizadas em todo o estudo, no entanto, não houve formação de nenhum ponto de agregação no local. A baixa produção desses indivíduos pode estar relacionada, neste caso, à disponibilidade de alimento no campo e aos estoques, principalmente de pólen, das colônias matrizes (BEGO, 1983; MOO-VALLE *et al.*, 2001; 2004; MENESES, 2016). Em *Melipona becheii*, a quantidade de pólen em reservas na colônia é capaz de afetar o tamanho do corpo de machos, a sua produção de espermatozoides e a velocidade de maturidade sexual (PECH-MAY *et al.*, 2012). Há evidência de que esse déficit esteja ligado a fatores ambientais, como temperatura (VAN VEER *et al.*, 1999). No entanto, esse parece não ter sido o fator determinante, dada as condições semelhantes de clima e temperatura em ambos os ambientes testados em Fortaleza e Aquiraz – CE.

A produção de machos em grandes números e, conseqüentemente, os agregados desses indivíduos geralmente ocorrem quando as colônias estão muito fortes. Para isso há a necessidade de uma rica e diversificada flora dentro do raio de voo das abelhas capaz de fornecer alimento (pólen e néctar) em abundância durante determinado período do ano, como observado nas áreas de ocorrência natural de *M. subnitida* (ZANELLA, 2000; MAIA-SILVA *et al.*, 2020). No caso das colônias mantidas em Fortaleza, o Campus do Pici da Universidade Federal do Ceará está localizado em área urbana altamente antropizada e com pouca cobertura vegetal (GUIMARÃES, 2011; PINTO, 2019).

Além disso, a oferta de alimento para as abelhas varia drasticamente entre o período seco do ano (setembro a janeiro), quando há a floração da maioria das espécies vegetais presentes na área, e o período chuvoso (fevereiro a junho), quando praticamente não há oferta natural de alimento para as colônias (MENESES, 2016; NASCIMENTO, 2016). Apesar dos constantes manejos alimentares realizados com essas colônias, não se conseguiu resultados semelhantes àqueles observados no meliponário São Francisco em Aquiraz, onde as abelhas tinham acesso a floradas diversas e abundantes na maior parte do ano. Provavelmente, a dieta pouco variada à base de pólen desidratado predominantemente monofloral coletado por *Apis mellifera* consiga apenas manter as colônias em períodos de escassez de alimento, mas não seja o suficiente para estimular o investimento em reprodução representado pela produção de machos em grandes números.

Embora não esteja claro como os meliponíneos escolhem entre diferentes tipos de pólen, com base em seu valor nutricional, torna-se imprescindível associar um pasto apícola adequado às espécies utilizadas e, em caso de deficiência de floradas naturais no campo, manejos alimentares devem ser constantes e com uma dieta adequada, garantindo, dessa forma, o aumento na produção geral das colônias e, conseqüentemente, no número de machos (PECHMAY *et al.*, 2012; MENESES, 2016). Isso é endossado pela evidente associação entre a maior diversidade de fontes de pólen e a melhora da saúde em abelhas (ALAUX *et al.* 2010; PASQUALE *et al.* 2013; DOLEZAL *et al.* 2019).

Um gargalo ainda não solucionado e apontado por alguns autores (CAMARGO, 1972; MENEZES, 2010; PRATO, 2010; MENEZES *et al.*, 2013) é a perda de um considerável número de rainhas durante o voo nupcial. Essa problemática foi um fator limitante nesse estudo e, provavelmente, está relacionada ao ataque de predadores presentes nas áreas de liberação das colônias ou a fatores fisiológicos relacionados à rainha, que a fizeram se perder no retorno ao ninho.

Quanto ao estabelecimento das colônias geradas pelo método proposto, notou-se um menor tempo médio necessário quando comparado a técnicas convencionais testadas em outro estudo com *M. subnitida* (MENESES, 2016). O desenvolvimento das colônias obtidas foi acompanhado em Fortaleza – CE durante os meses mais secos (setembro a janeiro) e o início do período chuvoso (fevereiro); e a produção média de células ovopositadas foi satisfatória, semelhante ao obtido por Meneses (2016), em colônias manejadas em condições de confinamento.

As diferenças produtivas observadas entre as colônias desse estudo provavelmente estão associadas à falta de recursos específicos para *M. subnitida* em campo, poucas reservas de pólen na colônia, além das características individuais das rainhas, como a possível presença de ovariolos mais alongados (VELTHUIS, 1976), no entanto essas características não foram analisadas. Além disso, é importante ressaltar que essas multiplicações receberam menor incremento e doações de recursos se comparadas às colônias formadas pelos métodos normalmente utilizados.

Na realização de multiplicações por técnicas convencionais, só é possível a obtenção de até duas colônias em um mesmo período, para cada matriz utilizada (NOGUEIRANETO, 1953; CORTOPASSI-LAURINO *et al.*, 2006; VILLAS-BÔAS, 2018). Entretanto, utilizando-se o método de aproveitamento de rainhas virgens, esse número varia de acordo com a produção dessas fêmeas por espécie. Para a espécie avaliada, a produção de rainhas varia entre 7-8% em uma população (KOEDAM *et al.*, 1999). Logo, em um disco com 100 células, podem emergir sete ou oito rainhas. Portanto, será possível obter-se até oito rainhas para se tentar fundar novas colônias. Considerando-se a taxa de sucesso de 36,7% obtida nesse estudo (contexto com maior produção de machos e formação de agregados), seria possível obter-se até três colônias a cada oito rainhas utilizadas, com investimentos mínimos. Utilizando-se o parâmetro de doação de recursos em divisões tradicionais como referência (dois a quatro discos de crias maduras para gerar uma colônia), esse número aumentaria para seis colônias. Isso representa um considerável incremento nas multiplicações de colônias.

Nesse contexto, diferente dos métodos tradicionais, que utilizam em torno de 30 a 50% de material biológico das colônias matrizes (VILLAS-BOAS, 2018), além de maior tempo para a obtenção de colônias, dada a emergência de rainhas, e posterior seleção pelas operárias (WENSELEERS; RATNIEKS, 2004), o método de multiplicação por aproveitamento de rainhas virgens propicia a otimização do processo de obtenção de enxames, pela introdução de uma única rainha virgem por colônia, possibilitando que essa expresse todo o seu potencial reprodutivo.

## 7 CONCLUSÕES

O presente estudo permite concluir-se que é possível aproveitar as rainhas virgens produzidas em excesso em colônias de jandaíra (*Melipona subnitida*) para formar colônias com pequenos grupos de operárias, com essas rainhas geralmente apresentando o comportamento típico e sendo aceitas pelas operárias independentemente de suas idades entre um e 14 dias.

Também se pôde concluir que essas rainhas conseguem acasalar-se com sucesso, desde que sejam liberadas em ambientes com a presença de muitos machos, sendo a existência de aglomerações de machos importante para altas taxas de sucesso de acasalamento. Finalmente, essas rainhas são bem-sucedidas em estabelecer novas colônias, permitindo concluir que o método de aproveitamento de rainhas virgens constitui uma alternativa viável para produzir um número bem maior de novas colônias de jandaíra (*Melipona subnitida*) a partir de cada colônia matriz, utilizando-se as rainhas virgens que já seriam normalmente eliminadas.



## REFERÊNCIAS

- ALAUX C. *et al.* Diet effects on honeybee immunocompetence. **Biology letters**, [s.l.], v. 6, n. 4, p. 562-565, 2010.
- ALVES, J. E.; FREITAS, B. M. Requerimentos de polinização da goiabeira. **Ciência Rural**, [s.l.], v. 37, n. 5, p. 1281-1286, 2007.
- ALVES, D. F. S. *et al.* Efeitos da aplicação tópica do mel de *Melipona subnitida* em feridas infectadas de ratos. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, [s.l.], v. 35, n. 3, p. 188-193, 2008.
- ANDERSEN, S. O. Cuticular sclerotization and tanning. In: **Insect molecular biology and biochemistry**. Academic Press, [s.l.], p. 167-192, 2012.
- ASCHER J.S.; Pickering J. **Discover life: bee species guide and world checklist (Hymenoptera: Apoidea: Anthophila)**. 2021. Disponível em: [http://www.discoverlife.org/mp/20q?guide=Apoidea\\_species&flags=HAS](http://www.discoverlife.org/mp/20q?guide=Apoidea_species&flags=HAS). Acesso em: 25 fev. 2021.
- AWDE D. N.; SKANDALIS, A.; RICHARDS, M. H. Vitellogenin expression corresponds with reproductive status and caste in a primitively eusocial bee. **Journal of Insect Physiology**, [s.l.], v. 127, p. 104-113, 2020.
- BAPTISTELLA, A. R. *et al.* Techniques for the in vitro production of queens in stingless bees (Apidae, Meliponini). **Sociobiology**, [s.l.], v. 59, n. 1, p. 297-310, 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. 105 p. Tese de Doutorado. Programa de pós-graduação em sustentabilidade. Escola de artes, ciências e humanidades. Universidade de São Paulo. São Paulo, Brasil. 2018.
- BEGO, L. R. On social regulation in *Nannotrigona (Scaptotrigona) postica* Latreille, with special reference to male production cycles (Hym., Apidae, Meliponinae). **Boletim de Zoologia**, [s.l.], v. 7, n. 7, p. 181-196, 1983.
- BEZERRA, A. D. M. **Uso da abelha canudo (*Scaptotrigona* sp. nov.) na polinização do meloeiro (*Cucumis melo*) em ambiente protegido**. 2014. Embrapa Agroindústria Tropical-Tese/dissertação (ALICE), Fortaleza, Brasil. 2014.
- BOMFIM, I. G. A. *et al.* Polinização em melancia com e sem semente. **Fortaleza, Brazil: Embrapa Agroindústria Tropical (Embrapa Agroindústria Tropical. Documentos, 168, 53pp)**, 2013.
- BRUENING, P. H. **Abelha Jandaíra**. 3. ed. Natal: SEBRAE, 2006. 138 p.
- CAMARGO, C. A. Mating of the social bee *Melipona quadrifasciata* under controlled conditions (Hymenoptera, Apidae). **Journal of the Kansas Entomological Society**, [s.l.], p. 520-523, 1972.

CAMARGO J. M. F.; PEDRO S. R. M.; 2013. Meliponini Lepeletier, 1836. In Moure, J. S., Urban, D. & Melo, G. A. R. (Orgs). **Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region - online version**. [S.l.]. Disponível em <http://www.moure.cria.org.br/catalogue>. Acesso em 02 abr. 2021.

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.

CARDOSO-JÚNIOR, C. A. M. *et al.* Methyl farnesoate epoxidase (mfe) gene expression and juvenile hormone titers in the life cycle of a highly eusocial stingless bee, *Melipona scutellaris*. **Journal of insect physiology**, [s.l.], v. 101, p. 185-194, 2017.

CASSILL, D. L.; VO, K.; BECKER, B. Young fire ant workers feign death and survive aggressive neighbors. **Naturwissenschaften**, [s.l.], v. 95, n. 7, p. 617-624, 2008.

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**. Ministério do Meio Ambiente. Brasília: MMA, 2020.

CONTEL, E. P. B.; KERR, W. E. Origin of males in *Melipona subnitida* estimated from data of an isozymic polymorphic system. **Genetica**, v. 46, n. 3, p. 271-277, 1976.

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

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

CRUZ, D. O.; CAMPOS, L. A. O. Pollination by bees in greenhouse. **Revista Brasileira de Agrociência**, [s.l.], v. 15, n. 1/4, p. 5-10, 2009.

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, n. 1, p. 83-88, 2000.

CRUZ-LANDIM, C.; GRACIOLI-VITTI, L. F.; ABDALLA, F. C. Ultrastructural studies of the mandibular gland of *Melipona quadrifasciata* Lepeletier, 1836 (Apidae, Meliponini): a comparison between workers and queens. **Journal of Apicultural Research**, [s.l.], v. 50, n. 4, p. 306-315, 2011.

DAFNI, A. *et al.* *Bombus terrestris*, pollinator, invasive and pest: An assessment of problems associated with its widespread introductions for commercial purposes. **Applied Entomology and Zoology**, [s.l.], v. 45, n. 1, p. 101-113, 2010.

DELAPLANE, K. S.; MAYER, D. R.; MAYER, D. F. **Crop pollination by bees**. Wallingford: Cabi, 2000.

DOLEZAL, A. G. *et al.* Interacting stressors matter: diet quality and virus infection in honeybee health. **Royal Society open science**, [s.l.], v. 6, n. 2, p. 181803, 2019.

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

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.; IMPERATRIZ-FONSECA V. L. Caste development, reproductive strategies, and control of fertility in honeybees and stingless bees. **Social insects**. Springer, Berlin, Heidelberg. p. 167-230, 1990.

ENGELS, E. *et al.* Age-related patterns of volatile cephalic constituents in queens of the neotropical stingless bee *Scaptotrigona postica* Latr (Hymenoptera, Apidae). **Apidologie**, [s.l.], v. 24, n. 6, p. 539-548, 1993.

ENGEL, M. S.; RASMUSSEN, C. Corbiculate bees. **Encyclopedia of Social Insects**. Springer, Berlin, 2020. 8p.

FELIX, J. A. **Perfil zootécnico da meliponicultura no Estado do Ceará**. 2015. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, Brasil. 2015.

FERREIRA-CALIMAN, M. J. *et al.* Chemical identity of recently emerged workers, males, and queens in the stingless bee *Melipona marginata*. **Apidologie**, [s.l.], v. 44, n. 6, p. 657-665, 2013.

FIERRO, M. M. *et al.* Queen volatiles as a modulator of *Tetragonisca angustula* drone behavior. **Journal of chemical ecology**, [s.l.], v. 37, n. 11, p. 1255-1262, 2011.

GIANNINI, T. C. *et al.* Protecting a managed bee pollinator against climate change: strategies for an area with extreme climatic conditions and socioeconomic vulnerability. **Apidologie**, [s.l.], v. 48, n. 6, p. 784-794, 2017.

GIANNINI, T. C.; COSTA, W. F.; BORGES, R. C.; MIRANDA, L., DA COSTA, C. P. W.; SARAIVA, A. M.; FONSECA, V. L. I. Climate change in the Eastern Amazon: crop-pollinator and occurrence-restricted bees are potentially more affected. **Regional Environmental Change**, [s.l.], v. 20, n. 1, p. 1-12, 2020.

GRÜTER, C. Stingless Bees: An Overview. **Stingless Bees**, Springer, Cham, p. 1-42, 2020.

GUIMARÃES, M. O. **Comunidade de abelhas Euglossina (Hymenoptera: Apidae) em fragmentos de Mata Atlântica e mata litorânea no estado do Ceará**. 2011. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Brasil. 2011.

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.

HRNCIR, M. *et al.* Stingless bees and their adaptations to extreme environments. **Journal of Comparative Physiology A**, [s.l.], v. 205, n. 3, p. 415-426, 2019.

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.; 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. A case of multiple mating in stingless bees (Meliponinae). **Insectes sociaux**, [s.l.], v. 45, n. 2, p. 231-233, 1998.

INSTITUTO DE PESQUISA E ESTRATÉGIA ECONÔMICA DO CEARÁ (IPECE). **Perfil Básico Municipal**. Fortaleza-CE, 2017. Disponível em: <https://www.ipece.ce.gov.br/perfilmunicipal/>. Acesso em 18 agosto. 2020

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

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

JEDLIČKA, P. *et al.* Gene expression dynamics in major endocrine regulatory pathways along the transition from solitary to social life in a bumblebee, *Bombus terrestris*. **Frontiers in physiology**, [s.l.] v. 7, p. 574, 2016.

KÄRCHER M. H.; MENEZES C.; ALVES D. A.; BEVERIDGE O. S.; IMPERATRIZFONSECA, 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.

KERR, W. E. Evolution of the mechanism of caste determination in the genus *Melipona*. **Evolution**, [s.l.], p. 7-13, 1950.

KOEDAM, D.; CONTRERA, F. A. L.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. Clustered male production by workers in the stingless bee *Melipona subnitida* Ducke (Apidae, Meliponinae). **Insectes sociaux**, [s.l.], v. 46, n. 4, p. 387-391, 1999.

LIMA, V.P.; MARCHIORO, C.A. Brazilian stingless bees are threatened by habitat conversion and climate change. **Reg Environ Change**, [s.l.], v. 21, n. 14, 2021.

LOCKETT, G. A. *et al.* Gene expression differences in relation to age and social environment in queen and worker bumble bees. **Experimental gerontology**, [s.l.], v. 77, p. 52-61, 2016.

MAIA-SILVA C., HRNCIR M., SILVA C. I.; IMPERATRIZ-FONSECA V. L. Survival strategies of stingless bees (*Melipona subnitida*) in an unpredictable environment, the Brazilian tropical dry forest. **Apidologie**, [s.l.], v. 46, n. 5, p. 631-643, 2015.

MAIA-SILVA, C. *et al.* Stingless bees (*Melipona subnitida*) overcome severe drought events in the Brazilian tropical dry forest by opting for high-profit food sources. **Neotropical entomology**, [s.l.], v. 49, n. 4, p. 595-603, 2020.

MATEUS, S. *et al.* Beyond temporal-polyethism: division of labor in the eusocial bee *Melipona marginata*. **Insectes Sociaux**, [s.l.], v. 66, n. 2, p. 317-328, 2019.

MEIXNER, M. D. *et al.* A historical review of managed honeybee populations in Europe and the United States and the factors that may affect them. **Journal of invertebrate pathology**, [s.l.], v. 103, p. S80-S95, 2010.

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

MENEZES, C. **A produção de rainhas e a multiplicação de colônias em *Scaptotrigona aff. depilis* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)**. 2010. 97 p. Tese de doutorado. Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. 2010.

MENEZES, C., VOLLET-NETO, A.; FONSECA, V. L. I. An 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. Notes on the habits of some Panamanian stingless bees (Hymenoptera, Apidae). **Journal of the New York Entomological Society**, [s.l.], v. 54, n. 3, p. 179-197, 1946.

MICHENER, C. D. **The Social Behavior of the Bees**. Cambridge, Harvard University Press, 1974.

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, 1988 a.

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

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

MICHENER C. D., The Meliponini, *In*: Roubik (ed.) **Pot-honey: a legacy of stingless bees**, V. P. Pedro; S. R. M., Springer, New York, 2013

MICHELETTE, E. R.; SOARES, A. E. E. Characterization of preimaginal developmental stages in Africanized honeybee workers (*Apis mellifera* L). **Apidologie**, [s.l.], v. 24, n. 4, p. 431-440, 1993.

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.

MOO-VALLE, H. *et al.* 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.

MORITZ, R. F.; SOUTHWICK, E. E. Communication Network of the Superorganism. In: **Bees as Superorganisms**. Springer, Berlin, Heidelberg, p. 110-151, 1992.

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.

NASCIMENTO, J. E.M. **Variação temporal na produção e valor nutricional do pólen usado na dieta de *Apis mellifera* L. em floresta estacional semidecidual**. 2016. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Brasil. 2016.

NOGUEIRA-NETO, P. **Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão**. Ed. Nogueirapis, São Paulo, 1953.

NUNES-SILVA, P. **Capacidade vibratória e polinização por vibração nas abelhas do gênero *Melipona* (Apidae, Meliponini) e *Bombus* (Apidae, Bombini)**. 2011. Tese de Doutorado. PhD thesis, University of São Paulo- Ribeirão Preto, Brazil. 2011.

NUNES-SILVA, P.; HNR CIR, M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. “A Polinização por Vibração”. **Oecologia Australis**, [s.l.], v. 14, n. 1, p. 140-151, 2010.

OTESBELGUE, A.; dos SANTOS, C. F.; 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.

PANDEY, A.; BLOCH, G. Juvenile hormone and ecdysteroids as major regulators of brain and behavior in bees. **Current Opinion in Insect Science**, [s.l.], v. 12, p. 26-37, 2015.

PARIS, E. H. *et al.* The Origins of Maya Stingless Beekeeping. **Journal of Ethnobiology**, [s.l.], v. 40, n. 3, p. 386-405, 2020.

PASQUALE, D.G.G. *et al.* Influence of pollen nutrition on honey bee health: do pollen quality and diversity matter?. **PloS one**, [s.l.], v. 8, n. 8, p. e72016, 2013.

PEARCE, A. N.; HUANG, Z. Y.; BREED, M. D. Juvenile hormone and aggression in honeybees. **Journal of Insect Physiology**, [s.l.], v. 47, n. 11, p. 1243-1247, 2001.

PECH-MAY, F.G. *et al.* Colony pollen reserves affect body size, sperm production and sexual development in males of the stingless bee *Melipona beecheii*. **Insectes sociaux**, [s.l.], v. 59, n. 3, p. 417-424, 2012.

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

PINTO, G. S. **Nidificação e dieta de imaturos de *Euglossa cordata* manejadas em área urbana**. 2019. Tese (Doutorado), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Brasil. 2019.

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

RATNIEKS, F. L. Heirs and spares: caste conflict and excess queen production in Melipona bees. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, [s.l.], v. 50, n. 5, p. 467-473, 2001.

REYES-GONZÁLEZ, A.; CAMOU-GUERRERO, A.; DEL-VAL, E. *et al.* 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.

ROBINSON, G. E. *et al.* Colony integration in honeybees: mechanisms of behavioral reversion. **Ethology**, [s.l.], v. 90, n. 4, p. 336-348, 1992.

ROBINSON, G. E.; VARGO, E. L. Juvenile hormone in adult eusocial Hymenoptera: gonadotropin and behavioral pacemaker. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology: Published in Collaboration with the Entomological Society of America**, [s.l.], v. 35, n. 4, p. 559-583, 1997.

SANTOS, C. F. **Biologia reprodutiva de rainhas e machos de *Tetragonisca angustula* (Hymenoptera: Meliponini)**. 2012. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto, Brasil. 2012.

SANTOS, C. F. *et al.* Congregation sites and sleeping roost of male stingless bees (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). **Sociobiology**, [s.l.], v. 61, n. 1, p. 115-118, 2014.

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

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.

SILVA D. L. NAVES; 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, T. M. S. *et al.* Chemical composition and free radical scavenging activity of pollen loads from stingless bee *Melipona subnitida* Ducke. **Journal of food composition and analysis**, [s.l.], v. 19, n. 6-7, p. 507-511, 2006.

SILVA G.R.; NATIVIDADE T.B.; CAMARA C.A.; SILVA E.M.S.; DE ASSIS R.S.F.; SILVA T.M.S. Identification of Sugar, Amino Acids and Minerals from the Pollen of Jandaíra Stingless Bees (*Melipona subnitida*). **Food and Nutrition Sciences**, [s.l.], v. 5, p. 1015-1021, 2014.

- SLAA, E. J. *et al.* Stingless bees in applied pollination: practice and perspectives. **Apidologie**, [s.l.], v. 37, n. 2, p. 293-315, 2006.
- SKALDINA, O.; SORVARI, J. Biomarkers of ecotoxicological effects in social insects. In: **Perspectives in environmental toxicology**. Springer, Cham, [s.l.], p. 203-214, 2017.
- SOMMEIJER, M. J. *et al.* Reproductive behaviour of stingless bees: nest departures of non-accepted gynes and nuptial flights in *Melipona favosa* (Hymenoptera: Apidae, Meliponini). **Entomologische Berichten-Nederlandsche Entomologische Vereniging**, [s.l.], v. 63, n. 1, p. 7-13, 2003.
- VAN VEEN, J. W.; SOMMEIJER, Marinus J.; MEEUWSEN, F. J. A. J. Behaviour of drones in *Melipona* (Apidae, Meliponinae). **Insectes Sociaux**, [s.l.], v. 44, n. 4, p. 435-447, 1997.
- VAN VEEN, J. W.; SOMMEIJER, Marinus J. Colony reproduction in *Tetragonisca angustula* (Apidae, Meliponini). **Insectes sociaux**, [s.l.], v. 47, n. 1, p. 70-75, 2000.
- VEIGA, J. C. *et al.* Para onde vão e o que fazem os machos das abelhas sem ferrão após o acasalamento?. In: **Embrapa Amazônia Oriental-Resumo em anais de congresso (ALICE)**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELIPONICULTURA, 2014, Belém, PA. Sustentabilidade, tecnologia e mercados. Belém, PA: CBA, 2014.
- VEIGA, J. C. **Aptidão reprodutiva e acasalamentos em condições artificiais na abelha sem ferrão *Melipona flavolineata* Friese (Hymenopte, Apidae, Meliponini)**. 2015. 106 p. Tese de Doutorado. Museu Paraense Emílio Goeldi. Pará, 2015.
- 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**, v. 104, n. 3-4, p. 31, 2017.
- VEIGA, J. C. *et al.* The Life Histories of the "Uruçu Amarela" Males (*Melipona flavolineata*, Apidae, Meliponini). **Embrapa Amazônia Oriental-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2018.
- VELTHUIS, H. H. W. Environmental, genetic, and endocrine influences in stingless bee caste determination. **Phase and caste determination in insects**, [s.l.], p. 35-53, 1976.
- VELTHUIS, H. H.; VAN DOORN, A. A century of advances in bumblebee domestication and the economic and environmental aspects of its commercialization for pollination. **Apidologie**, [s.l.], v. 37, n. 4, p. 421-451, 2006.
- VENTURIERI, G. C. *et al.* Meliponicultura no Brasil: Situação atual e perspectivas futuras para o uso na polinização. In: **Polinizadores no Brasil: contribuição e perspectivas para a biodiversidade, uso sustentável, conservação e serviços ambientais**. EDUSP, 2012. p. 227-255.
- VERDUGO-DARDON, M. *et al.* Olfactory attraction of *Scaptotrigona mexicana* drones to their virgin queen volatiles. **Apidologie**, [s.l.], v. 42, n. 4, p. 543-550, 2011.
- VILLAS-BÔAS, J. K. **Manual tecnológico: mel de abelhas sem ferrão**. 1 ed. Brasília. Brasil, 2012.



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

VOLLET-NETO, A.; KOFFLER, S.; dos SANTOS, C. F.; 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 de Doutorado. PhD Thesis, University of São Paulo, Ribeirão Preto, Brazil. 2017.

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. suppl\_5, p. S310-S312, 2004.

WENSELEERS, T.; ALVES D.A.; FRANCOY, T.M.; BILLEN, J.; IMPERATRIZFONSECA, V.L. Intraspecific queen parasitism in a highly eusocial bee. **Biology Letters**, [s.l.], v. 7, n. 2, p. 173-176, 2010.

WINSTON, M. L. **A biologia da abelha**. Tradução de Carlos A. Osowski. Magister. Porto Alegre, 2003.

ZANELLA F. The bees of the Caatinga (Hymenoptera, Apoidea, Apiformes): a species list and comparative notes regarding their distribution. **Apidologie**, [s.l.], v. 31, p. 579–592, 2000.