



**Universidade Federal do Pará
Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento Rural
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Amazônia Oriental
Universidade Federal Rural da Amazônia**

Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal

Nercy Virginia Campos Rabelo Pires

Efeitos da alimentação artificial protéica em colônias de uruçucinzenta (*Melipona fasciculata*, Smith 1858) (Apidae, Meliponini) e adaptação em casa-de-vegetação.

**Belém
2009**

Nercy Virginia Campos Rabelo Pires

Efeitos da alimentação artificial protéica em colônias de uruçucinzenta (*Melipona fasciculata*, Smith 1858) (Apidae, Meliponini) e adaptação em casa-de-vegetação.

Dissertação apresentada para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento Rural. Universidade Federal do Pará. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Amazônia Oriental. Universidade Federal Rural da Amazônia.
Área de concentração: Produção Animal.
Orientador Prof. Dr. Giorgio Cristino Venturieri
Co-orientador: Prof. Dr. Felipe Andrés León Contrera

**Belém
2009**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) –
Biblioteca Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento Rural / UFPA, Belém-PA

Pires, Nercy Virginia Campos Rabelo

Efeitos da alimentação artificial protéica em colônias de urucu-cinzenta (*Melípona fasciculata*, Smith 1858) (Apidae, Meliponini) e adaptação em casa-de-vegetação. / Nercy Virginia Campos Rabelo Pires; orientadores, Giorgio Cristino Venturieri, Felipe Andrés León Contrera - 2009.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Pará, Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento Rural, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Belém, 2009.

1. Abelha sem ferrão – Alimentação e rações. 2. Melípona. I. Título.

CDD – 22.ed. 638.1

Nercy Virginia Campos Rabelo Pires

Efeitos da alimentação artificial protéica em colônias de uruçucinzenta (*Melipona fasciculata*, Smith 1858) (Apidae, Meliponini) e adaptação em casa-de-vegetação.

Dissertação apresentada para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento Rural. Universidade Federal do Pará. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Amazônia Oriental. Universidade Federal Rural da Amazônia.
Área de concentração: Produção Animal.

Data da aprovação. Belém - PA: ____/____/____

Banca Examinadora

Dr. Giorgio Cristino Venturieri – Orientador e Presidente
Embrapa Amazônia Oriental

Dr. Orlando Tobias Silveira -Examinador
Museu Paraense Emilio Goeldi

Dra. Márcia Maria Correa Rego
Universidade Federal do Maranhão

À Maria Clara, Claryenny, Enivaldo Jr e Enivaldo.

Minha família, minha vida.

AGRADECIMENTOS

À Deus por nunca me abandonar.

Ao Cnpq pela bolsa concedida.

À FAPESPA pelo financiamento do projeto (Edital Universal- TO: 063/2008).

À Embrapa Amazônia Oriental por permitir a realização do trabalho.

Ao Dr. Giorgio Venturieri, pela orientação, pelas idéias, pela paciência e pela falta de paciência, pela amizade e momentos de descontração.

Ao Dr. Felipe Contrera, pela orientação, pela atenção, amizade e pela super ajuda nesta dissertação.

Ao laboratório de Agroindústria da Embrapa Amazônia Oriental, na pessoa do Dr. Marcos Êne Oliveira, pela atenção e ajuda na elaboração do alimento.

À Dra. Célia Tremacoldi, agradeço pela identificação dos fungos e pela atenção.

À bibliotecária Vera Fadul Lima, agradeço a ajuda com a normatização deste trabalho.

À minha família: Minha mãe, Maria Clara, meu pai, Enivaldo e minhas razões de viver Claryenny e Júnior. Agradeço por sempre serem minha força, por estarem ao meu lado, independente de qualquer coisa, por tornarem tudo bem melhor. Pelo amor de vocês sou grata.

À minha “pima” Anna por sempre acreditar em mim, pelo incentivo, sempre minha vida, sempre por perto.

Ao meu pai Paulo França pelo apoio inicial, pela ajuda financeira, a Renata França por me acolher e me aceitar como irmã.

À minha amiga Cristine por estar sempre por perto, pela amizade, pelas conversas no MSN e por me fazer ter certeza de que eu não estou sozinha aqui.

À amiga-filha Flávia por me mostrar que eu tenho que ser forte para cuidar dela.

À amiga Laís por sempre acreditar em mim.

Às amigas e irmãos Elisangela Rego e Janete Teixeira, pela ajuda, aprendizado, pelo apoio, amizade e companheirismo. Sem elas este trabalho não seria possível. Por amenizarem as dores e pelas confusões.

À família ludo- belenense: Marina, Fernanda, Adriano e Jerryane (grande amigo), pelos momentos de descontração e amizade eterna. Fernandinha, obrigada pela correção e revisão.

Ao amigo Glauber por ser a Verdade.

À família Soares de Souza: Carlos Francisco, Sr. Sobrinho, Paula e a amada Tia Maria Lucia por terem me adotado. Minha segunda família.

Ao meu querido, sempre querido, Rodrigo, pelo carinho, apoio, fé e amizade. Agradeço também à sua família, por me receberem tão bem em sua casa.

Ao Luciano Costa, pela ajuda com o alimento, conversas e idéias.

Às colegas de mestrado tanto queridas: Priscila e Elke, por tornarem as disciplinas menos... mais legais.

Aos colegas do laboratório de Botânica da Embrapa Amazônia Oriental por tornarem tudo mais divertido: Léia, Edilson, Giulia, Jéssica, Peter, Francis, Júnior, Jôse, Telma, Cléo, Nilo, João, Miguel, Jair, Solano, Sr. Maranhão, Sr. Valtelino, Orlando. E a Dra. Regina, Dra. Fernanda e Msc. Silvane, pelo exemplo.

Não podia esquecer de agradecer aos meninos: João, Tio, Olavo, Seu Manoel, pela ajuda, pela amizade e pelos lanches e maravilhosas conversas.

Agradeço a todos que contribuíram de alguma forma não só para o andamento desta dissertação, mas também para meu amadurecimento.

“Segue o teu destino,
Rega as tuas plantas,
Ama as tuas rosas.
O resto é a sombra
De árvores alheias”

(Fernando Pessoa)

RESUMO

O trabalho teve como objetivo desenvolver uma alimentação artificial protéica a base de extrato de soja (saborá artificial), e avaliar o seu efeito sobre a razão sexual, longevidade de operárias e desenvolvimento de colônias recém-divididas de *Melipona fasciculata* além de verificar a adaptação da espécie dentro de casas de vegetação. O saborá artificial aqui desenvolvido é constituído de 50g de extrato de soja, 20g de saborá fresco e 60ml de xarope de açúcar invertido (60%). Foi utilizado anilina para colorir o saborá artificial na tentativa de rastrear e verificar o consumo pelas operárias dentro das colônias. Foram utilizadas cinco colônias, das quais três receberam somente saborá e duas o saborá artificial. Não houve diferença significativa entre a produção de rainhas e operárias nos dois tratamentos e nos dois casos não houve produção de machos. As operárias que nasceram de caixas alimentadas com saborá artificial apresentaram maior longevidade e menor peso ao nascer. Estas caixas ainda iniciaram o processo de construção de células e postura mais cedo que as caixas alimentadas com saborá, contudo, suas rainhas apresentaram menor taxa de oviposição diária. O alimento a base de extrato de soja (saborá artificial) não afetou negativamente colônias recém divididas de *M. fasciculata*. Nos primeiros dias, as abelhas passaram a maior parte do seu tempo no topo da casa-de-vegetação tentando fugir, somente após o terceiro dia houve redução na mortalidade das operárias. Não houve diferença significativa, ao longo de cinco dias, entre a mortalidade de operárias em caixas transferidas, durante a noite e durante o dia, para dentro da casa-de-vegetação. A anilina se mostrou uma

Palavras-chave: Saborá. Alimentação artificial. Extrato de soja. *Melipona fasciculata*. Casa-de-vegetação.

ABSTRACT

The study aimed to develop an artificial food of the protein of soybean extract (artificial fermented pollen), and assess its effect on sex ratio, longevity of workers and development of newly divided colonies of *Melipona fasciculata*, and verify the adjustment the species in greenhouses. The fermented artificial pollen developed here consists of 50g of soybean extract, 20g of fermented pollen and 60mL inverted sugar syrup (60%). Aniline was used to color the fermented pollen artificial in an attempt to trace and verify the use by workers within the colonies. Five colonies were used, three of which received only the fermented pollen and two received artificial fermented pollen. There was no significant difference between the production of queens and workers in both treatments and in both cases there was no production of males. The workers who were born from boxes fed with artificial fermented pollen had greater longevity and lower birth weight. These boxes also have begun to build cells and earlier oviposition than the boxes fed with fermented pollen, however, their queens had lower daily rate of oviposition. The food based on soybean extract not adversely affect newly divided colonies of *M. fasciculata*. In the early days, the bees spend most of their time at the top of the greenhouse trying to escape, only after the third day there was a reduction in mortality of workers. There was no significant difference, over five days, between the mortality of workers moved in boxes during the night and during the day, inside the greenhouse. The aniline was an excellent tool to track the food handled and consumed by the colony.

Key words: Fermented pollen. Artificial pollen. Soybean extract. *Melipona fasciculata*. Greenhouse

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO DA LITERATURA	13
2.1 ABELHAS SEM FERRÃO	13
2.2 NUTRIÇÃO DE ABELHAS: ALIMENTAÇÃO ARTIFICIAL PROTEICA.....	15
2.3 RAZÃO SEXUAL.....	16
2.4 LONGEVIDADE.....	18
2.5 MULTIPLICAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DAS COLÔNIAS.....	20
2.6 ADAPTAÇÃO DE <i>Melipona fasciculata</i> (APIDAE, MELIPONINI) EM CASA-DE-VEGETAÇÃO VISANDO SEU USO NA POLINIZAÇÃO DE SOLANÁCEAS, NA REGIÃO AMAZÔNICA.....	22
3 MATERIAIS E METODOS	24
3.1 ELABORAÇÃO DE UMA DIETA ARTIFICIAL PROTÉICA PARA <i>Melipona fasciculata</i>	24
3.2 EFEITOS DA ALIMENTAÇÃO ARTIFICIAL PROTEICA (SABURÁ ARTIFICIAL) NAS COLÔNIAS	25
3.2.1 Produção de sexuais	26
3.2.1.1 Análise estatística.....	27
3.2.2 Longevidade de operárias	27
3.2.2.1 Análise estatística.....	28
3.2.3 Multiplicação e desenvolvimento das colônias	28
3.2.3.1 Análise estatística.....	29
3.3 ADAPTAÇÃO A CASA-DE-VEGETAÇÃO.....	29
3.3.1 Análise estatística	30
4 RESULTADOS	31
4.1 ELABORAÇÃO DE UMA DIETA ARTIFICIAL PROTÉICA PARA <i>Melipona fasciculata</i>	31
4.2 PRODUÇÃO DE SEXUADOS.....	34
4.3 LONGEVIDADE.....	35
4.4 MULTIPLICAÇÃO E DESENVOLVIMENTOS DAS COLÔNIAS	40
4.5 ADAPTAÇÃO DE <i>Melipona fasciculata</i> EM CASA-DE-VEGETAÇÃO.....	44
5 DISCUSSÃO	48
5.1 ELABORAÇÃO DE UMA DIETA ARTIFICIAL PROTÉICA PARA <i>Melipona fasciculata</i>	48
5.2 PRODUÇÃO DE SEXUADOS.....	49
5.3 LONGEVIDADE.....	50
5.4 DESENVOLVIMENTO DAS COLÔNIAS.....	51
5.5 ADAPTAÇÃO A CASA-DE-VEGETAÇÃO.....	53
6 CONCLUSÃO	55
REFERÊNCIAS	56
ANEXO A	67

1 INTRODUÇÃO

As abelhas indígenas sem ferrão fazem parte de um dos grandes grupos de polinizadores de plantas tropicais (HEARD, 1999; MICHENER, 2000; CORTOPASSI-LAURINO et al., 2006) e vários estudos mostraram que elas são polinizadoras potenciais de diversas espécies nativas da região Amazônica, como o urucum (*Bixa orellana*, Bixaceae), o açaí (*Euterpe oleracea*, Arecaceae) e o cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*, Sterculiaceae), dentre outras (MAUÉS; VENTURIERI, 1991; CASTRO et al., 2006; SLAA et al., 2006) .

A meliponicultura, ou criação de abelhas indígenas sem ferrão, é uma prática antiga entre as populações indígenas e tradicionais de todo o interior do Brasil e da América Latina, principalmente no México e América Central (NOGUEIRA-NETO, 1997; IMPERATRIZ-FONSECA et al., 2005; VILLANUEVA-G; ROUBIK; COLLI-UCAN, 2005; CORTOPASSI-LAURINO et al., 2006). No Brasil, esta atividade vem crescendo muito nos últimos 10 anos e para a maioria das pessoas consiste em uma atividade econômica secundária (ROSSO; IMPERATRIZ-FONSECA; CORTOPASSI-LAURINO, 2001).

Entretanto, muito do conhecimento adquirido pelos indígenas a respeito da criação dessas abelhas foi em grande parte perdido ou está em declínio acentuado (e.g. VILLANUEVA-G; ROUBIK; COLLI-UCAN, 2005) e pouco se conhece a respeito de dados básicos sobre a biologia das espécies amazônicas.

Em geral, as populações tradicionais amazônicas, assim como em toda a América Latina, por desconhecimento de técnicas de manejo de abelhas, costumam derrubar árvores para extração dos ninhos, provocando a morte das colônias, que abandonadas são expostas aos seus predadores naturais e pragas como forídeos e formigas (VILLANUEVA-G; ROUBIK; COLLI-UCAN, 2005; VENTURIERI, 2008a). Com a finalidade de reduzir o desmatamento para aquisição dos enxames iniciais necessários à criação racional pelos meliponicultores, Colleto – Silva (2005) descreveu uma técnica mais eficiente, racional e menos agressiva. Nesta técnica é aberta uma janela na árvore, o ninho é retirado total ou parcialmente, depois a janela é fechada com resina vegetal, desta forma a árvore continua viva e ainda pode servir como habitat para outros enxames.

Considerando a diversidade de espécies de abelhas, uma grande variedade (estilos e tamanhos) de caixas de criação tem sido proposta e testada. Estas caixas têm como objetivo facilitar a multiplicação dos ninhos, a coleta de mel e resina e outras necessidades dos meliponicultores (CORTOPASSI-LAURINO et al., 2006; VENTURIERI; 2008b). O aprimoramento das técnicas de multiplicação torna-se necessário para que haja um aumento na produção sem que aumente o número de ninhos retirados da mata. Uma alternativa seria a formação de novos ninhos a partir dos já existentes em caixas de criação. Isto pode ser realizado a partir de pouco material biológico; para isso deve-se conhecer o número mínimo de abelhas e favos necessários para a fundação de uma nova colônia.

Dentro do conceito de se desenvolver práticas agrícolas economicamente viáveis, ecologicamente sustentáveis e socialmente justas, a meliponicultura é uma atividade que se enquadra perfeitamente dentro dos conceitos de diversificação e melhor uso dos recursos naturais amazônicos, pois é uma atividade que pode ser integrada ao manejo florestal, plantio de fruteiras e/ou culturas de ciclo curto e, em muitos casos, pode contribuir no aumento da produção agrícola (VENTURIERI; RAIOL; PEREIRA, 2003).

É crescente o uso dessas abelhas para a polinização de plantas mantidas dentro de casas de vegetação (MALAGODI-BRAGA, 2002; SARTO; PERUQUETTI; CAMPOS, 2004; 2005; MALAGODI-BRAGA; KLEINERT, 2004; CRUZ et al., 2005), o que demonstra o grande potencial que estas abelhas possuem para uso nos cultivos de hortaliças especialmente entre as culturas possuidoras de anteras poricidas, como é o caso do tomateiro, que necessita de abelhas que vibram, como a *Melipona quadrifasciata* (Lepelletier, 1836) (SARTO; PERUQUETTI; CAMPOS, 2005).

A informação sobre a biologia e o comportamento de uma espécie é fundamental para o início de um correto processo de domesticação. A longevidade das diferentes castas das abelhas indígenas sem ferrão ainda não é inteiramente entendida, especialmente o efeito da alimentação suplementar sobre ela, assim como o efeito na produção de sexuais. Este trabalho pretende fornecer estas informações necessárias ao melhor manejo da espécie selecionada.

O objetivo deste trabalho foi desenvolver uma alimentação artificial (saborá artificial) para *Melipona fasciculata* e estabelecer uma metodologia de rastreamento do alimento dentro das colônias, verificando o consumo e as formas de utilização do alimento; estudar o efeito do saborá

artificial sobre a longevidade de operárias, produção das diferentes castas (rainhas, operárias e zangões) e desenvolvimento das colônias; além de verificar a adaptação comportamental da espécie dentro de casas de vegetação fornecendo algumas informações importantes para o manejo adequado da espécie como polinizadora de plantas em ambientes fechados, e para a manutenção dos ninhos em condições de confinamento.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 ABELHAS SEM FERRÃO

As abelhas são similares às vespas Sphecidae (MICHENER, 2000) e se diferenciaram destas porque suas fêmeas deixaram de se alimentar de proteína animal e passaram a coletar pólen e néctar das plantas para alimentação de suas larvas (SILVEIRA; MELO; ALMEIDA, 2002). No Brasil, segundo Silveira, Melo e Almeida (2002), já foram descritos 207 gêneros com um total de 1576 espécies de abelhas. As abelhas sem ferrão estão reunidas na família Apidae (ROIG-ALSINA; MICHENER, 1993), sendo esta considerada a mais diversificada e comum entre as famílias de abelhas (ROIG-ALSINA; MICHENER, 1993; SILVEIRA; MELO; ALMEIDA, 2002).

Dentro da família Apidae, as abelhas sem ferrão encontram-se na subfamília Apinae (MICHENER, 2000; SILVEIRA; MELO; ALMEIDA, 2002). De acordo com Michener (2000) esta subfamília é dividida em quatro tribos: Apini, Bombini, Euglossini e Meliponini. Por outro lado, Silveira, Melo e Almeida (2002) consideram que Apinae possui 13 tribos presentes no Brasil, dentre estas a tribo Apini possui quatro subtribos: Apina, Bombina, Euglossina e Meliponina.

A subtribo Meliponina (SILVEIRA; MELO; ALMEIDA, 2002) ou tribo Meliponini (MICHENER, 2000; CAMARGO; PEDRO, 2007) reúne todas as abelhas sem ferrão e é representada por centenas de espécies em toda a região tropical e a subtropical do hemisfério sul. São descritas na região Amazônica mais de 140 espécies (CAMARGO, 1990). Atualmente existem 33 gêneros exclusivamente neotropicais, um total de 619 espécies (CAMARGO; PEDRO, 2007).

Variando de minúsculas (2 mm) a médias (1,2 cm), sendo em geral robustas, todas as espécies são eussociais, embora algumas possam sobreviver da pilhagem de alimentos de outras espécies (MICHENER, 2000; SILVEIRA; MELO; ALMEIDA, 2002). Elas constroem seus ninhos em cavidades pré-existentes como ocos de árvores, ninhos de cupins ou formigas expostos

em troncos e galhos ou até mesmo no chão (MICHENER, 2000; SILVEIRA; MELO; ALMEIDA, 2002; ROUBIK, 1983, 2006). Formam colônias perenes (NIEUWSTADT; IRAHETA, 1996; MICHENER, 1974, 2000; ROUBIK, 2006) com um número variável de indivíduos, de 300 até mais de 100.000 operárias, dependendo da espécie (MICHENER, 2000).

Estes ninhos são bem elaborados e apresentam estruturas que são características da espécie ou do táxon (MICHENER, 1974, 2000; SAKAGAMI, 1982; ROUBIK, 2006). As células de cria são construídas com cerúmen (cera e resina vegetal) podendo a região de cria ser envolta por uma camada de cerúmen chamada invólucro (VENTURIERI, 2008a) e elas estocam pólen e néctar, sua principal fonte de alimento, em potes de cerúmen (NOGUEIRA-NETO, 1997; MICHENER, 2000). O pólen é usado para o desenvolvimento larval, como fonte de proteína e o néctar como fonte de energia para os adultos (MICHENER, 1974; NOGUEIRA-NETO, 1997; BIESMEJER et al., 1999).

Dentro dos meliponíneos, o gênero *Melipona* é o que apresenta o maior número de espécies, e uma distribuição geográfica exclusivamente neotropical, abrangendo desde a Argentina, na América do Sul até o México, na América do Norte (MICHENER, 1979, 1990; SILVEIRA; MELO; ALMEIDA, 2002), sendo mais diversificado na bacia amazônica, possuindo 35 espécies no Brasil (SILVEIRA; MELO; ALMEIDA, 2002).

Melipona fasciculata, no Pará, conhecida como urucu-cinzenta e no Maranhão como tiúba, ocorre no nordeste da região Amazônica nos Estados do Pará, Maranhão e Tocantins (SILVEIRA; MELO; ALMEIDA, 2002), produz mel em boa quantidade e excelente qualidade armazenando-os em potes constituídos quase que exclusivamente por cera (VENTURIERI; RAIOL; PEREIRA, 2003).

Neste grupo não há formação de célula real, e as rainhas nascem de células semelhantes a uma célula de operária. As castas femininas (rainhas e operárias) apresentam diferenças marcantes na morfologia e no comportamento (MICHENER, 2000).

2.2 NUTRIÇÃO DE ABELHAS: ALIMENTAÇÃO ARTIFICIAL PROTEICA

Os materiais básicos para a alimentação dos meliponíneos são o pólen e o néctar provenientes das flores, exceto para a *Trigona hypogea* (Silvestri, 1902) que se alimenta de proteína animal (ROUBIK, 1989; NOLL, 1997; MATEUS; NOLL, 2004). Estes recursos são necessários para todo o desenvolvimento destes insetos, desde a fase de larva até a fase adulta. O néctar é a fonte de carboidratos na forma de açúcares, enquanto que o pólen fornece proteínas, lipídios, vitaminas e minerais (WINSTON, 2003).

O alimento é transportado para as colônias por abelhas campeiras (forrageiras) sendo armazenado em potes. Para obtenção do mel o néctar sofre dois tipos de modificações: uma física, a evaporação, e outra química, quando enzima invertase é acrescentada pelas operárias transformando a sacarose, existente no néctar, em glicose e frutose (BUTLER, 1954 *apud* ZUCOLOTO, 1975; NOGUEIRA-NETO, 1997; VENTURIERI et al., 2007).

Já o pólen é manipulado pelas abelhas através das mandíbulas; durante este processo são acrescentadas secreções das glândulas mandibulares e das glândulas hipofaringeanas, ocorrendo também o crescimento de leveduras e bactérias, principalmente do gênero *Bacillus*, que produzem enzimas extracelulares auxiliando na pré-digestão desse alimento (NOGUEIRA-NETO, 1997). Após este processamento este pólen estocado recebe o nome de saburá (NOGUEIRA-NETO, 1970; 1997)

Vários estudos vêm sendo desenvolvidos com o objetivo de encontrar substitutos para o mel e o pólen, mantendo as colônias em boas condições, mesmo quando há pouca disponibilidade de flores no ambiente. Um bom substituto para o pólen deve ter características semelhantes ao do estocado no ninho (FERNANDES-DA-SILVA; ZUCOLOTO, 1990).

Zucoloto (1975) avaliou o valor nutritivo de pólenes já fermentados de diferentes espécies de abelhas para *Nannotrigona (Scaptotrigona) postica* (atual *Scaptotrigona postica*, Latreille, 1807), sendo que o melhor resultado encontrado foi obtido com o pólen de *Melipona quadrifasciata*. O referido autor sugeriu ainda que a fermentação seria uma condição que facilitaria o uso do alimento pelas abelhas, já que o pólen de menor valor nutritivo foi o de *Friseomelitta varia* (Lepeletier, 1836) que é armazenado praticamente como é coletado.

O primeiro estudo sobre uma dieta semi-artificial que substituísse o pólen foi o de Camargo (1976). Neste foi usado o pólen de *Typha dominguensis* mais mel e saburá da espécie que receberia a dieta. Segundo esta autora, a mistura pastosa de mel e pólen deveria ser colocada em vidro coberto com gases à temperatura de 28 a 32 °C pelo período de 10 a 15 dias. Nesse tempo, a mistura sofreria fermentação, aumentando e diminuindo seu volume, quando ao final poderia então ser oferecida às abelhas.

A mistura de 25% de levedo de cerveja e 75% de pólen também apresentou resultado satisfatório para o desenvolvimento das glândulas hipofaringeanas e dos ovócitos, mostrando-se um bom substituto para *Scaptotrigona (Scaptotrigona) postica* (PENEDO; TESTA; ZUCOLOTO, 1976).

Baseado em Camargo (1976), Costa e Venturieri (2009) desenvolveram uma alimentação semi-artificial a base de saburá, extrato de soja, açúcar e água, para *Melipona flavolineata* (Friese, 1900). A dieta que obteve os melhores resultados quanto ao desenvolvimento das glândulas hipofaringeanas e dos ovócitos foi a constituída de 43 g de extrato de soja, 14 g de sacarose e 43 ml de água.

2.3 RAZÃO SEXUAL

A produção de sexuais em insetos sociais é um evento que pode ser influenciado por uma complexa interação entre fatores intra e extra-coloniais (van VEEN; SOMMEIJER; ARCE, 1999). Em ambientes naturais, sexuais são produzidos constantemente, mas em quantidades que variam de acordo com as colônias (MOO-VALLE; QUEZADA-EUÁN; WENSELEERS, 2001).

Os machos não têm uma produção fixa, esta varia de acordo com a idade da colônia, com a sazonalidade (KERR, 1950) e com a quantidade de alimento (BEGO, 1990; van VEEN; SOMMEIJER; ARCE, 1999; GROSSO; BEGO; MARTINEZ, 2000; MOO-VALLE QUEZADA-EUÁN; WENSELEERS, 2001; SOMMEIJER et al., 2003; CHINH; SOMMEIJER, 2005). Já a proporção de rainhas e operárias é constante, havendo variação no número de rainhas virgens produzidas apenas em condições anormais como, por exemplo, variações de temperatura nos

ninhos; da quantidade de operárias nutrizes ou enfermeiras, quando a colônia é atacada por parasitas e também quando a quantidade de pólen e mel estocado é insuficiente (KERR, 1950).

A razão sexual está sujeita a muita variabilidade interespecífica (MICHENER, 1974). Em *M. marginata* (Lepeletier, 1836), por exemplo, a proporção de operárias e rainhas é 3:1 (KERR, 1950), em *M. quadrifasciata*, *M. bicolor* (Lepeletier, 1836), *M. interrupta fasciculata*, *M. flavipennis* (atual *M. fuliginosa* Lepeletier, 1836) e *M. rufiventris paraensis* (atual *M. paraensis* ducke, 1916) é 7:1 (KERR, 1950). Já em 1974, Kerr (*apud* VIEIRA et al., 2004) propôs um modelo para explicar em *Melipona* a segregação de 75 operárias para 25 rainhas (3:1) a cada 100 nascimentos.

A determinação do sexo nas abelhas sociais levou a uma evolução gradual de dois sistemas de determinação de castas. No primeiro, a rainha e as operárias se parecem e o macho é diferente (Apídeos), na outra, as operárias mais se parecem com os machos que com a rainha (KERR; CUNHA, 1990). Nos Meliponíneos, as semelhanças da morfologia externa entre operárias e machos são muito grandes (KERR; CUNHA, 1990).

O sistema de determinação do sexo nos Meliponíneos é o Haplo-diplóide, onde as fêmeas (rainha e operárias) são diplóides e os machos são haplóides (KERR, 1996). Nas abelhas do gênero *Melipona*, entre as castas diplóides, esse sistema é genético e alimentar. As larvas para serem rainhas têm que ser heterozigotas para os dois pares de genes responsáveis pela determinação de castas e ainda estar em uma colônia forte, com grande quantidade de alimento estocado. Nestas condições há o desenvolvimento da glândula *corpora allata*, esta, por sua vez, produz o hormônio Juvenil III na quantidade necessária para ativar os genes feminizantes e então a larva se torna rainha. Em uma situação de colônia fraca elas serão operárias assim como as larvas homozigotas para esses genes (KERR, 1996).

Nas abelhas do gênero *Trigona*, por outro lado, o fator é somente alimentar, a larva fêmea se desenvolve em operária ou rainha de acordo com a quantidade de alimento que recebe. Neste grupo existe a formação de células reais que são maiores e comportam maior quantidade de alimentos (NOGUEIRA-NETO, 1997; MICHENER, 2000).

Vale lembrar que nos meliponíneos não há diferença qualitativa entre a alimentação oferecida para as larvas que se tornarão operárias ou rainhas (CAMARGO, 1972; HARTFELDER, 1986 *apud* BUSCHINI; CAMPOS, 1995).

Os fatores que desencadeiam a produção de diferentes sexuais nos meliponíneos ainda não são claros (MOO-VALLE; QUEZADA-EUÁN; WENSELEERS, 2001), mas se sabe que fatores intrínsecos da colônia, a genética e as reservas de alimentos parecem ter efeito limitante na produção das castas (ENGELS; IMPERATRIZ-FONSECA, 1990; KOEDAM, 1999; VELTHUIS; KOEDAM; IMPERATRIZ-FONSECA, 2005). Nas abelhas sem ferrão, porém, os efeitos das condições da colônia sobre a determinação das castas é pouco conhecido (MORAIS, et al., 2006).

Quanto à influência da alimentação na produção de sexuais em abelhas sem ferrão, sabe-se que existe uma relação positiva entre a quantidade de alimento dentro da colônia e a produção de machos e rainhas virgens, essenciais para a multiplicação de colônias e para o processo natural de enxameagem (VIEIRA et al., 2004). Entretanto, há diversas variáveis que influenciam a produção de sexuais além da alimentação (MORAIS et al., 2006).

Por outro lado, existem trabalhos que dizem que a reserva de alimento parece não ser o aspecto mais importante na produção de rainhas virgens em *M. fasciculata* (MORAIS, et al., 2006), mas a falta de alimento pode ser um fator limitante na produção de sexuais em *M. beecheii* (Bennet, 1831) (MOO-VALLE; QUEZADA-EUÁN; WENSELEERS, 2001). Sabe-se também que o nível de alimento estocado influencia na produção de machos em muitas espécies de abelhas sem ferrão (BEGO, 1990; van VEEN; SOMMEIJER; ARCE, 1999; GROSSO; BEGO; MARTINEZ, 2000; MOO-VALLE; QUEZADA-EUÁN; WENSELEERS, 2001; SOMMEIJER et al., 2003; CHINH; SOMMEIJER, 2005), o que mostra que esse é um fenômeno ainda não totalmente compreendido.

2.4 LONGEVIDADE

Uma diversidade de fatores intrínsecos e extrínsecos pode regular a longevidade nos insetos sociais. Entre estes fatores podemos citar a nutrição (formigas, BOULAY et al., 1999), a presença de rainha virgem ou fecundada dentro do ninho (*Apis*, BETIOLI; CHAUD-NETTO, 1999), fatores hereditários (MILNE, 1985 *apud* CONTRERA, 2005), polietismo etário e a

divisão de trabalho (formigas, CHAPUISAT; KELLER, 2002; TOFILSKI, 2002, 2006), a quantidade e a qualidade do alimento estocado na colônia (abelhas sem ferrão, TERADA; GARÓFALO; SAKAGAMI, 1975) e fatores sazonais (ARNOLD, 1978 *apud* CONTRERA, 2005; TERADA; GARÓFALO; SAKAGAMI, 1975; CAMARGO, 1982; ROUBIK, 1982; CONTRERA, 2005). Por exemplo, em *Apis mellifera* (Linnaeus, 1758), operárias que nascem no inverno vivem mais que as nascidas no verão (PAGE; PENG, 2001; AMDAM; OMHOLT, 2002).

A senescência em insetos pode ser explicada por duas hipóteses, a primeira dita que a longevidade está relacionada com a idade (*programmed senescence*) e a segunda diz que a longevidade está negativamente correlacionada com o nível de atividade realizada pelo inseto (*rate-of-living* ou *burnout senescence*) (O'DONNELL; JEANNE, 1995).

A nutrição das abelhas pode ser considerada outro fator importante, já que a qualidade e a quantidade do alimento recebido na fase larval determinam sua casta, e o pólen, fonte de proteína, exerce papel fundamental na fisiologia e morfologia das abelhas, podendo assim afetar a longevidade (CONTRERA, 2005). Em *M. quadrifasciata*, a longevidade das operárias pode ter origem endógena, ligada à alimentação larval e à qualidade do pólen e também está relacionada com o peso ao nascer, quanto mais pesadas mais as operárias vivem (CONTRERA, 2005).

Outro ponto relacionado à nutrição seria a disponibilidade de alimento para a colônia; quanto maior a quantidade de recursos disponíveis maior será o estímulo das abelhas em voar para forrageio acelerando assim a sua senescência e sua taxa de mortalidade (BIESMEIJER, 1997; PAGE; PENG, 2001; AMDAM; OMHOLT, 2002).

A longevidade das operárias, também é influenciada pela atividade exercida pelas mesmas (CAMARGO, 1982; SCHMIDT-HEMPEL; WOLF, 1988; CAREY, 2001; AMDAM; OMHOLT, 2002; TOFILSKI, 2002, 2006), ou seja, quanto maior a distância na busca de alimentos (mel, pólen) e outros produtos necessários à sobrevivência da colônia (resina, barro) menor é a vida da operária.

Não se pode acreditar, entretanto que fatores individuais sejam unicamente responsáveis pela determinação da longevidade (CONTRERA, 2005); os fatores já mencionados devem agir em conjunto.

Embora exista uma variabilidade muito grande na longevidade de forrageadoras (SOMMEIJER, 1984 *apud* BIESMEYER; TÓTH, 1998) ainda não é conhecido se isso é causado

pela variação no custo de diferentes comportamentos ou por fatores como a genética, morfologia e fisiologia, por exemplo.

Nas abelhas sem ferrão a longevidade das operárias é em média de 50 dias (CAREY, 2001). Em *Melipona beecheii*, 51 dias (BIESMEYER; TÓTH, 1998), em *M. favosa* (Fabricius, 1758), 40 dias (SOMMEIJER, 1984) e 34 dias, em *Apis* (RIBBANDS, 1952). Em *M. fasciculata* e *M. scutellaris* (Latreille, 1811) as rainhas apresentam longevidade máxima de 84 meses (CARVALHO-ZILSE; KERR, 2004). Já os machos com 11 a 14 dias atingem sua maturidade sexual em *M. fasciculata* e em *M. scutellaris* com 9 a 11 dias, logo depois são expulsos ou saem da colônia (CARVALHO-ZILSE; KERR, 2004).

Nos insetos sociais, a longevidade das operárias exerce um papel determinante na taxa de crescimento e no tamanho final da colônia, esta pode aumentar tanto pelo aumento da taxa de nascimento de operárias quanto pelo decréscimo da taxa de mortalidade das mesmas (CAREY, 2001).

As rainhas virgens, em colônias com rainha fisogástrica presente, são toleradas por pouco tempo ou são mortas logo após sua emergência (IMPERATRIZ-FONSECA; ZUCCHI, 1995; KOEDAM; MONGE; SOMMEIJER, 1994). Já os machos deixam o ninho alguns dias depois de emergirem e não retornam à colônia (KERR et al., 1962; SAKAGAMI, 1982; ENGELS; ENGELS, 1984; VELTHUIS; KOEDAM; IMPERATRIZ-FONSECA, 2005), vivendo por pouco tempo (MICHENER, 1974).

2.5 MULTIPLICAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DAS COLÔNIAS

Quanto à multiplicação de colônias, existem diversos métodos e caixas de criação que facilitam a multiplicação artificial de ninhos. Entretanto, sempre é necessário aperfeiçoar as metodologias de multiplicação, como no caso da técnica recém descrita e testada por Baquero, Venturieri e Nates-Parra (2004), na qual se pega um favo de cria com operárias prontas a emergir, mais um número razoável de operárias (100 em *M. fasciculata*) e os introduz numa nova

caixa. Esse ninho, com cuidado e alimentação artificial (xarope e pólen), se desenvolve adequadamente originando colônias funcionais.

Para Carvalho (2007) seriam necessárias 200 operárias, sendo 100 novas e 100 campeiras, para o bom povoamento de uma colônia no que diz respeito ao peso adquirido pela caixa e ao número de células de cria.

O início do processo de construção de células e o começo da postura estão diretamente ligados à presença de pólen dentro da colônia (Venturieri, com. pess.), existindo uma relativa sincronia entre o início da postura e a oferta de pólen em ninhos recém fundados, portanto a carência de pólen pode atrasar o início desse processo.

Já o número de células construídas depende das condições gerais da colônia como, por exemplo, o tamanho populacional e quantidade de alimento (CAMILLO-ATIQUÉ, 1974 *apud* GIANNINI; BEGO, 1998; SAKAGAMI; ZUCCHI, 1974), em grupos com pouca capacidade de regulação térmica o padrão de oviposição é afetado por fatores externos mesmo quando as condições internas da colônia são boas (SAKAGAMI; ZUCCHI, 1974).

Aidar (1996) fala que a população de uma colônia de abelhas está relacionada diretamente à postura da rainha e às reservas alimentares, portanto o número de células de cria reflete o tamanho da população da colônia.

A postura de uma colônia forte de *M. fasciculata* é de mais ou menos 40 ovos por dia ou cerca de 14.400 abelhas por ano (KERR, 1996), e em colônias novas o tempo para aparecimento do primeiro ovo é de 14,58 dias depois da aceitação da rainha pelas operárias (KERR, 1996). Para *Apis* essa aceitação, segundo Silva (2006), depende do estabelecimento de trocas de sinais e de substâncias de controle entre os indivíduos da colônia.

As colônias utilizadas nesse trabalho necessitavam primeiramente se organizar e fortalecer por isso as atividades de construção de células e início da postura podem ter começado mais tarde e em menor número que o normal para a espécie, respectivamente.

A utilização de uma alimentação artificial para manutenção de colônias nos períodos de escassez de recursos é uma prática constante entre os meliponicultores (COSTA, 2008). Os efeitos da alimentação artificial no processo de determinação de castas, na razão sexual, na longevidade de operárias e no desenvolvimento de colônias recém divididas são totalmente desconhecidos. Entretanto, dados de Costa e Venturieri (2009) já demonstraram que alimentos

artificiais feitos à base de extrato de soja funcionam como bons substitutos do pólen, pelo menos quanto ao desenvolvimento ovariano e das glândulas hipofaríngeas de operárias de *M. flavolineata*, mantidas em condições artificiais. Ainda é necessário testarmos como as colônias de meliponíneos respondem a essa alimentação artificial.

2.6 ADAPTAÇÃO DE *Melipona fasciculata* (APIDAE, MELIPONINI) EM CASA-DE-VEGETAÇÃO VISANDO SEU USO NA POLINIZAÇÃO DE SOLANÁCEAS, NA REGIÃO AMAZÔNICA.

As abelhas indígenas sem ferrão (Apidae; Meliponini segundo MICHENER, 2000; CAMARGO; PEDRO, 2007) são um dos grandes grupos polinizadores de plantas tropicais (CASTRO et al., 2006; CORTOPASSI-LAURINO et al., 2006), e diversos estudos mostraram que elas são visitantes e polinizadoras potenciais de várias espécies nativas, com interesse econômico, da região Amazônica, como o urucum (*Bixa orellana*, Bixaceae) e o açaí (*Euterpe oleraceae*, Arecaceae) (VENTURIERI; RODRIGUES; PEREIRA, 2005).

O plantio dentro de casas de vegetação é muito utilizado em todo o mundo, tendo como vantagens a proteção contra o frio ou sol intenso, contra as adversidades climáticas (MALAGODI-BRAGA; KLEINERT, 2002), a redução do uso de pesticidas (GUALBERTO; BRAZ; BANZATTO, 2002), além de proteger o cultivo de suas pragas naturais (pássaros, fungos, moscas, entre outros).

O uso dos meliponíneos para polinização de plantas mantidas em casa-de-vegetação já é bastante estudado (revisão SLAA et al., 2006), e tem vantagens quando comparado ao uso de *Apis*, pois elas não apresentam um ferrão funcional, são menos agressivas, e possuem uma menor amplitude de vôo de forrageamento, o que as torna adequadas para polinização em ambientes fechados (HEARD, 1999; SLAA et al., 2000; SLAA et al., 2006).

As solanáceas são utilizadas com frequência como fonte de pólen por abelhas do gênero *Melipona* (WILMS; WIECHERS, 1997 *apud* SARTO; PERUQUETTI; CAMPOS, 2005), pois

são plantas com anteras poricidas e precisam de vibração para liberar o pólen- buzz-pollination (BUCHMANN, 1983 *apud* SARTO; PERUQUETTI;CAMPOS, 2005). O uso de *Melipona fasciculata* para polinização de Solanáceas e sua adaptação a casa-de-vegetação tanto na Amazônia quanto no Brasil ainda não foi estudado.

Colônias utilizadas para polinização sofrem mais estresse que as utilizadas para produção de mel, desde o transporte até as casas de vegetação até sua adaptação as condições de confinamento, que pode levar dias ou semanas, pois as colônias perdem operárias campeiras e reduzem a produção de cria nova. Algumas espécies se adaptam melhor e mais rápido que outras e algumas como, por exemplo, *Scaptotrigona bipunctata* (Lepeletier, 1836), *S. quadripunctata*, *Trigona fuscipennis* (Friese, 1900), não forragearam sob confinamento (ver SLAA et al., 2006).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

As colônias que foram utilizadas neste trabalho encontram-se no meliponário científico da Embrapa Amazônia Oriental. Essas foram acondicionadas em caixa de criação racional proposta por Venturieri (2004, 2008b) baseada nos modelos de Portugal-Araujo (1955) e Oliveira e Kerr (2000).

O período de coleta dos dados variou de acordo com cada experimento. O acompanhamento da longevidade foi realizado entre dezembro/08 e abril/09. A contagem de sexuais ocorreu nos meses de dezembro/08 e janeiro e fevereiro/09. As coletas dos dados referentes à adaptação das abelhas a casa-de-vegetação foram realizadas em março e maio /09.

3.1 ELABORAÇÃO DE UMA DIETA ARTIFICIAL PROTÉICA PARA *Melipona fasciculata*.

A dieta inicialmente testada foi a desenvolvida por Costa e Venturieri (2009), trocando-se o saburá de *M. flavolineata* pelo de *M. fasciculata*. Testaram-se várias concentrações de extrato de soja (33, 30, 28 gramas) e de saburá (5-10-15 g). A soja foi escolhida por ter alto valor protéico, semelhante ao pólen e valor comercial mais baixo que o pólen de *Apis*, que já é normalmente usado como substituto na alimentação de meliponíneos.

Uma segunda dieta foi testada, elaborada com os mesmos ingredientes da utilizada por Costa e Venturieri (2009), mas com método de preparo diferente. A descrição desta nova fórmula será descrita no item resultados.

Anilina líquida colorida (Arcolor®) comestível foi usada para rastrear o saburá artificial na lixeira, no aparelho digestivo das abelhas, no alimento larval e nos potes de alimento.

O alimento foi oferecido a seis colônias diariamente (3g), em tampinhas de plástico e diretamente nos potes. Depois de dois dias que foi dada a alimentação, operárias que estavam manipulando o saburá artificial foram retiradas e dissecadas para observação do seu estômago.

Foram retiradas também amostras do alimento larval de algumas células recém fechadas e foi observada a lixeira para verificar possíveis traços da anilina. Larvas foram retiradas e comparadas com as que receberam somente saburá.

O comportamento das operárias ao ser ofertado o alimento foi observado na tentativa de verificar se ele estava sendo consumindo ou não, e de descobrir o destino dado ao alimento que elas manipulavam.

3.2 EFEITOS DA ALIMENTAÇÃO ARTIFICIAL PROTEICA (SABURÁ ARTIFICIAL) NAS COLÔNIAS.

Colônias recém-divididas, provenientes de colônias mães diferentes, com cerca de 100 (cem) operárias, o que permite uma fácil observação, foram utilizadas nos experimentos.

Metade das colônias recebeu somente saburá e xarope invertido de açúcar 60% (grupo controle) e a outra metade recebeu xarope e saburá artificial. O saburá artificial utilizado foi elaborado especialmente para essa espécie tendo sido baseada na proposta por Costa e Venturieri (2009), uma alimentação altamente protéica a base de extrato de soja, açúcar, água, ácido cítrico e inóculo de saburá (pólen fermentado) (Itens 3.1 e 4.1).

Foi esperado até que os indivíduos dos primeiros favos, filhos da nova rainha, chegassem a estágio de pupa (38 dias) e adulto (45 dias) para iniciar os experimentos.

Para todos os experimentos foram utilizados testes não-paramétricos, pois os dados não apresentaram uma distribuição normal.

3.2.1 Produção de sexuais

Para testar a influência do saburá artificial na produção de sexuais foram utilizadas cinco colônias, três (colônias 4, 14 e 15) receberam xarope e saburá (grupo controle) e duas (colônias 6 e 7) receberam xarope e saburá artificial.

Utilizamos a técnica descrita em Koedam (2003), na qual se retira um favo de cria da colônia e tira-se o opérculo de células em que as abelhas se encontram no estágio pupal e, pela morfologia do rosto, pode-se diferenciar entre rainhas, machos e operárias (Fig.1).

As rainhas são menores que as operárias e apresentam cabeça e olhos mais estreitos. As operárias possuem olhos com cores mais brilhantes e as principais diferenças entre os machos e fêmeas são as formas da antena e a genitália (KERR, 1950), os machos por sua vez possuem características marcantes como olhos de maior tamanho o que proporciona uma menor distância interocular em relação às rainhas e operárias.

De todas as colônias foi retirado um favo e verificado o sexo de aproximadamente 100 indivíduos.



Figura 01. Abelhas de *Melipona fasciculata* em estágio pupal. R: rainha; O: operária e M: macho. Método descrito em Koedam, 2003.

3.2.1.1 Análise estatística

Foi utilizado o teste U Mann-Whitney (ZAR, 1999) para comparar os resultados obtidos entre os experimentos. E o teste de Qui-Quadrado para verificar se havia diferença entre a quantidade de rainhas e operárias observadas e esperadas nos dois tratamentos. O nível de significância adotado foi de 0,05 (SOKAL; ROHLF, 1995).

3.2.2 Longevidade de operárias

Para testar a influência da alimentação artificial na longevidade de operárias foram utilizadas cinco colônias, três (colônias 4, 14 e 15) formaram o grupo controle e duas (colônias 6 e 7) receberam xarope e saburá artificial.

Favos com cria preste a emergir foram retirados de cinco colônias e colocados em caixas incubadoras até o nascimento dos indivíduos, 25 operárias, no mínimo, de cada caixa foram retiradas, pesadas em balança de precisão e marcadas com códigos de cores utilizando canetas com tinta acrílica permanente, sendo em seguida devolvidas à colônia de origem. A cada dia foi verificada a taxa de sobrevivência das operárias nos dois grupos.

3.2.2.1 Análise estatística

Para verificar se existia uma correlação entre o peso ao nascer e a longevidade por tratamento foi utilizado o teste de Correlação de Spearman (ZAR, 1999). Foi usado o teste U de Mann-Whitney para verificar se o tratamento influencia na longevidade e no peso ao nascer. E o teste de Kruskal-Wallis foi usado para ver se existia diferenças no peso e na longevidade entre as colônias de cada tratamento. O nível de significância adotado foi de 0,05 (SOKAL; ROHLF, 1995).

3.2.3 Multiplicação e desenvolvimento das colônias.

Neste experimento foi testado o efeito da alimentação artificial protéica no desenvolvimento das colônias recém divididas sendo analisado para isto o tempo gasto, em dias, no processo de fortalecimento da colônia e no estabelecimento de uma nova rainha, além da evolução da taxa diária de oviposição da rainha fecundada. Quando a postura saiu do campo de visão parou-se a contagem de células.

3.2.3.1 Análise estatística

Foi utilizado o teste U Mann-Whitney (ZAR, 1999) para comparar as taxas de oviposição por cada tratamento e o teste de Kruskal-Wallis (ZAR, 1999) para verificar se existia diferença entre as colônias de cada tratamento.

E para comparar o tempo gasto pelas colônias em aceitar uma nova rainha e para iniciar o processo de construção de células e o de postura foi utilizado o teste U de Mann-Whitney. O nível de significância adotado foi de 0,05 (SOKAL; ROHLF, 1995).

3.3 ADAPTAÇÃO A CASA-DE-VEGETAÇÃO

Neste experimento foram utilizadas duas colônias fortes. Para verificar a adaptação das abelhas à casa-de-vegetação foi utilizado o critério de mortalidade de operárias nos cinco primeiros dias de confinamento.

O experimento foi realizado em duas semanas, na primeira a colônia foi transferida para casa-de-vegetação de manhã (antes das oito horas), e na segunda foi transferida à noite (depois das sete horas). Assim foi verificado se o horário de transferência diminuiria ou não a mortalidade das campeiras.

Foi comparada também a produtividade do tomateiro e da berinjela cultivadas dentro e fora da casa-de-vegetação, para verificar a eficiência da polinização feita por operárias de *M. fasciculata*.

3.3.1 Análise estatística

Foi utilizado teste U Mann-Whitney (ZAR, 1999) para verificar se o horário de transferência da caixa influenciava na mortalidade de operárias; e para comparar a produção de frutos dentro e fora da casa-de-vegetação. O nível de significância adotado foi de 0,05 (SOKAL; ROHLF, 1995).

4 RESULTADOS

4.1 ELABORAÇÃO DE UMA DIETA ARTIFICIAL PROTÉICA PARA *Melipona fasciculata*

Inicialmente, tentou-se utilizar a alimentação artificial desenvolvida por Costa e Venturieri (2009) apenas trocando-se o saburá da mistura, que era de *M. flavolineata* pelo saburá da própria espécie, (*M. fasciculata*). Entretanto, nesta formulação ocorreu grande incidência de fungos principalmente os do gênero *Aspergillus* e *Penicillium* (Fig. 2a). Outro problema foi a não ocorrência de fermentação do alimento. Independente da concentração de saburá ou de extrato de soja, esta dieta não foi aceita pelas operárias. Portanto, não foi possível o seu uso para a alimentação de *M. fasciculata*.

Após várias tentativas, ao longo de cinco meses, chegou-se a uma formulação muito satisfatória, onde não houve proliferação excessiva de fungos e foi de grande aceitação por parte das operárias (Fig. 2b; c). Nesta alimentação foi utilizado basicamente extrato de soja, saburá e xarope de açúcar invertido (60%).

Em uma vidraria higienizada e seca colocou-se 50 g de extrato de soja e 50 ml de xarope de açúcar (veja o modo de preparo do xarope no anexo A). Misturou-se bem, em seguida esta foi levada ao aparelho de microondas por 1 minuto ou até atingir 70°C em banho-maria, esperou-se esfriar naturalmente e ao atingir 30°C foi acrescentado 20 g saburá diluído em 10 ml do xarope. Então foi então acrescentada a anilina em uma quantidade suficiente para colorir e diferenciar a alimentação artificial do pólen comum. O vidro foi fechado com papel toalha e fita para evitar a entrada de formigas. O alimento foi misturado, uma vez por dia, durante todos os quinze dias em que ficou no escuro. Após esse período foi conservado em geladeira. A anilina foi utilizada aqui para fins de rastreamento, necessários a esta pesquisa, sendo facultativo seu uso para fins de criação. Foram obtidos bons resultados com a anilina azul e vermelha.

A aparência do alimento a base de soja (saburá artificial) encontrada na lixeira variou entre não digerida (Fig. 2b) à digerida (Fig. 2d). A alimentação artificial foi encontrada também no aparelho digestivo (Fig. 2e), no alimento larval (Fig. 2f), e as larvas apresentaram uma leve

pigmentação de acordo com a anilina administrada (Fig. 02g 1- larva alimentada com saburá; 2- larva alimentada com saburá artificial pigmentado com anilina azul).

Não houve alteração nos estágios de desenvolvimento das abelhas, já que foram encontrados larvas, pupas e adultos em células que foram provisionadas com o saburá artificial. E abelhas adultas apresentaram características morfológicas (cabeça, tórax, abdômen, pernas, asas) normais.

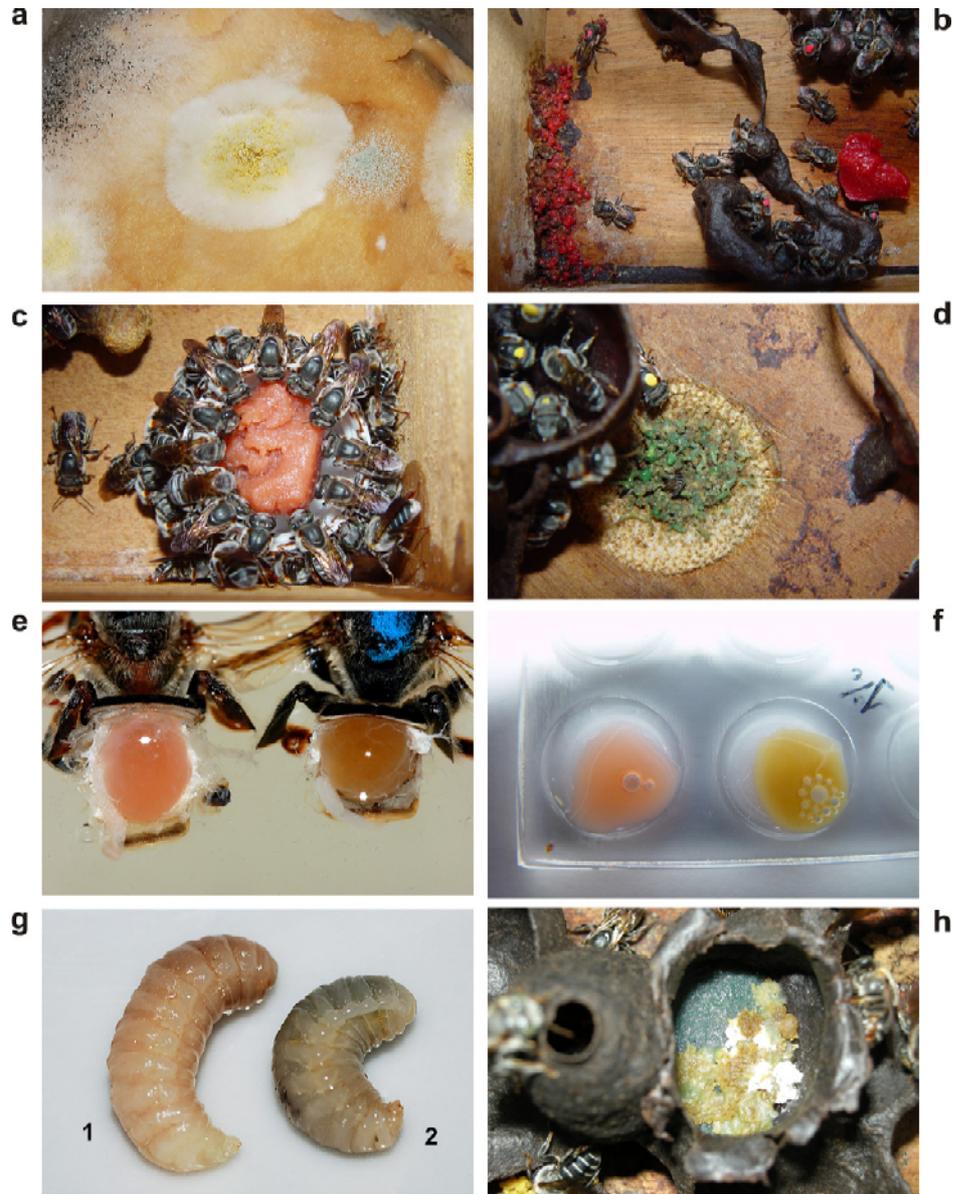


Figura 2: a- Proliferação de fungos do gênero *Aspergillus* e *Penicillium* no saborá artificial; b- Operárias de *Melipona fasciculata* comendo o saborá artificial e lixeira com pedaços do alimento artificial não digerido; c- Operárias comendo o saborá artificial oferecido à colônia em tampinha de plástico; d- Lixeira com traços de saborá artificial digerido; e- Aparelho digestivo de operárias, à esquerda operária alimentada com saborá artificial (anilina vermelha) e à direita alimentada com saborá.; f- Diferenças na coloração do alimento larval de células que foram provisionadas com saborá artificial vermelho (à esquerda) e com saborá (à direita); g- Larvas de *Melipona fasciculata*: 1-alimentada com saborá; 2-alimentada com saborá artificial colorido com anilina azul; h- Saborá artificial administrado diretamente nos potes, depois de alguns dias era misturado com pólen natural coletado pelas operárias.

4.2 PRODUÇÃO DE SEXUADOS

Das três colônias do grupo controle nasceram 311 indivíduos, sendo 31 rainhas e 280 operárias (1:9), na colônia 4 a proporção rainhas e operárias foi de 1:5, na 14, 1:19 e na 15, 1:10. Nas duas do grupo que recebeu saburá artificial nasceram 193 indivíduos, 13 rainhas e 180 operárias (1:14). A colônia 6 nasceu uma rainha para cada 30 operárias e a colônia 7 uma rainha para cada nove operárias. Não houve produção de machos. O teste qui-quadrado mostrou que houve diferença entre a quantidade de rainhas e operárias esperadas e observadas, segundo a hipótese de determinação de castas de Kerr (1974 *apud* Vieira et al., 2004) nos dois tratamentos (soja: χ^2 : 34,33 $p < 0,05$; pólen: χ^2 : 37,48 $p < 0,05$).

Não houve diferença entre o número de rainhas ($U=2$; $Z=0.58$; $p=0.56$) ou operárias ($U=0.5$; $Z= 1.44$; $p= 0.15$) produzidas por tratamento (Figs. 3 e 4).

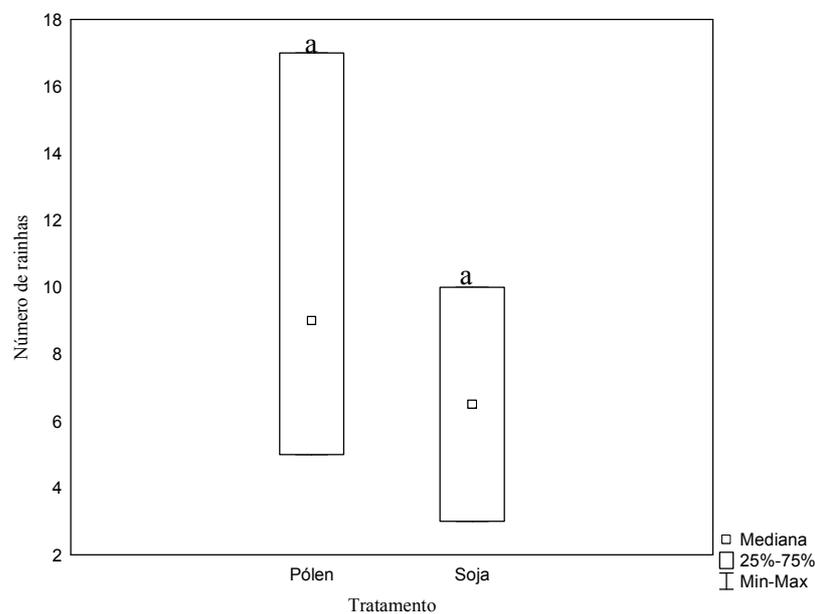


Figura 3: Produção de rainhas em colônias de *Melipona fasciculata* submetidas a dois tratamentos alimentares. Letras iguais sobre as barras significam não haver diferenças significativas entre os tratamentos de acordo com o teste U de Mann-Whitney ($Z=0.58$; $p=0.56$; n pólen: 31; n soja: 13).

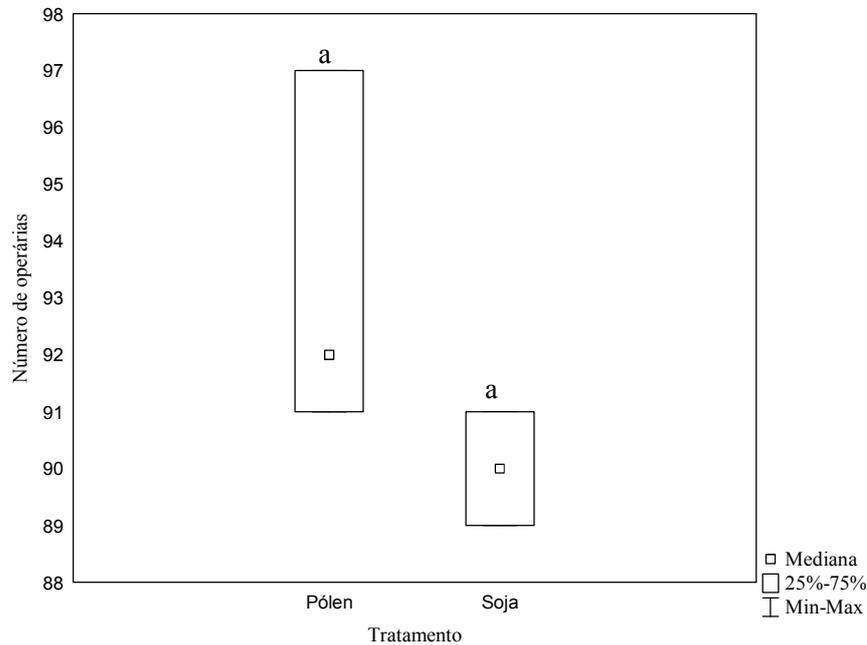


Figura 4: Produção de operárias em colônias de *Melipona fasciculata* submetidas a dois tratamentos alimentares. Letras iguais sobre as barras significam não haver diferenças significativas entre os tratamentos de acordo com o teste U de Mann-Whitney ($Z= 1.44$; $p= 0.15$; n pólen: 280; n soja: 180).

4.3 LONGEVIDADE

Foram marcadas 101 abelhas de três caixas no grupo controle, as quais apresentaram longevidade média de 37.46 ± 23.42 dias e peso médio ao nascer de 0.123 ± 0.013 g. Já nas duas caixas que receberam saburá artificial foram marcadas 55 operárias, que apresentaram longevidade média de 46.18 ± 24.38 dias e peso médio ao nascer de 0.094 ± 0.012 g.

Operárias alimentadas com saburá artificial tiveram maior longevidade ($Z= 2.01$, $p=0.044$) e menor peso ao nascer ($Z=-9.21$, $p< 0.05$) que as alimentadas com pólen (Figs. 5 e 6).

No tratamento do saburá artificial não houve correlação entre a longevidade e o peso ao nascer ($r=0.22$, $p=0.1$) (Fig. 7). Já no tratamento controle houve uma correlação positiva e significativa entre as duas variáveis ($r=0.29$, $p= 0.03$, Fig. 8). Quando os dados foram analisados

juntos foi observado que a soja influenciou na relação longevidade *versus* peso ao nascer ($n=156$, $r=0.46$, $p=0.56$).

Dentro de cada grupo houve diferenças significativas entre as colônias, no grupo alimentado com pólen, tanto na longevidade ($H=6.01$, $GL=2$, $p=0.04$, Fig. 9) quanto no peso ao nascer ($H=13.61$, $GL=2$, $p=0.001$, Fig. 10). Nas caixas alimentadas com saburá artificial houve diferença significativa somente entre a longevidade ($Z=3.85$, $p<0.05$, Fig. 11); no peso ao nascer as caixas não diferiram ($Z=0.16$, $p=0.87$, Fig.12).

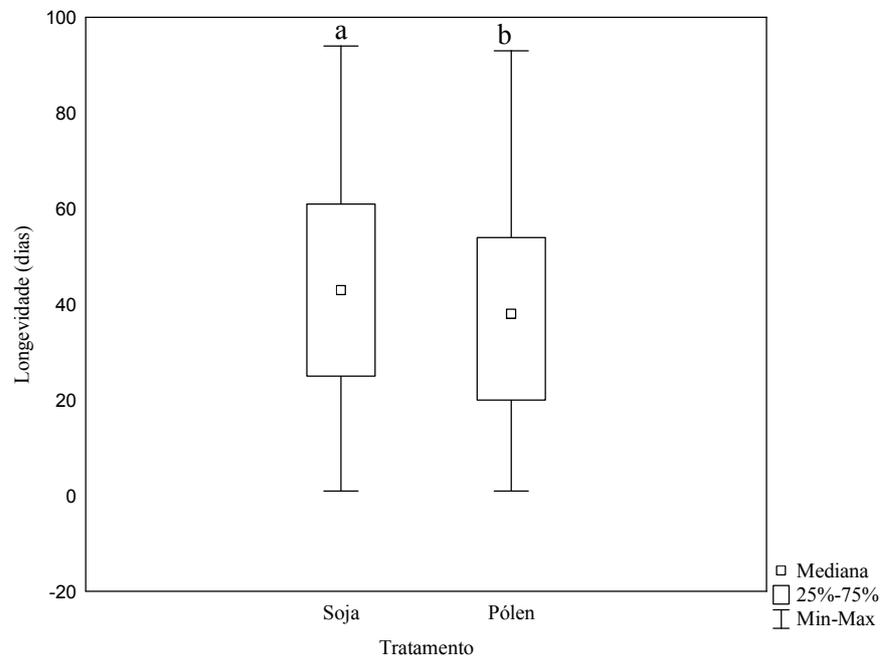


Figura 5: Variação da longevidade de operárias de *Melipona fasciculata* nos dois tratamentos testados. Letras diferentes sobre as barras significam haver diferenças significativas entre os tratamentos de acordo com o teste U de Mann-Whitney ($Z=2.01$, $p<0.05$; n soja: 55; n pólen: 101).

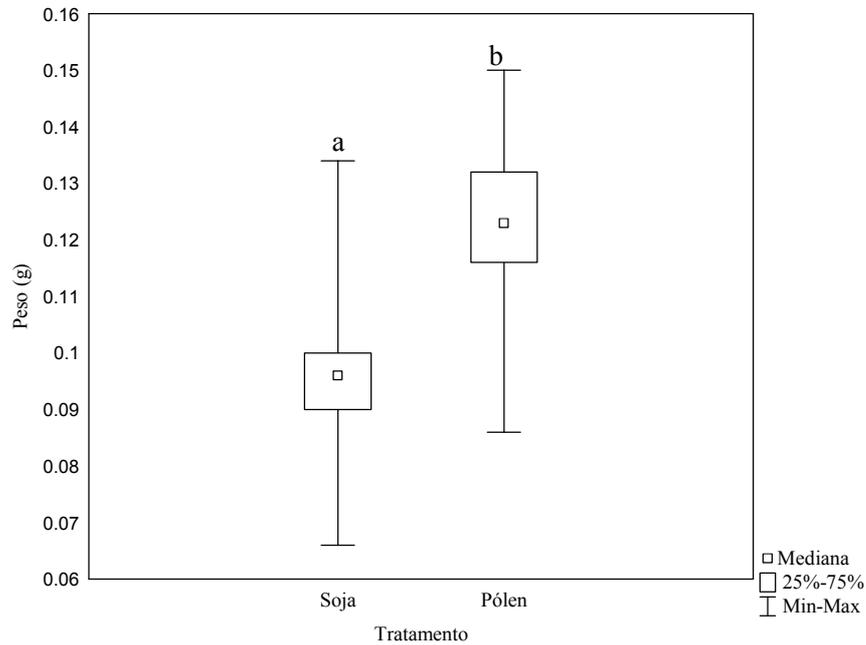


Figura 6: Variação do peso ao nascer de operárias de *Melipona fasciculata* nos dois tratamentos testados. Letras diferentes sobre as barras significam haver diferenças significativas entre os tratamentos de acordo com o teste U de Mann-Whitney ($Z=-9.21$, $p<0,05$; n soja: 55; n pólen: 101).

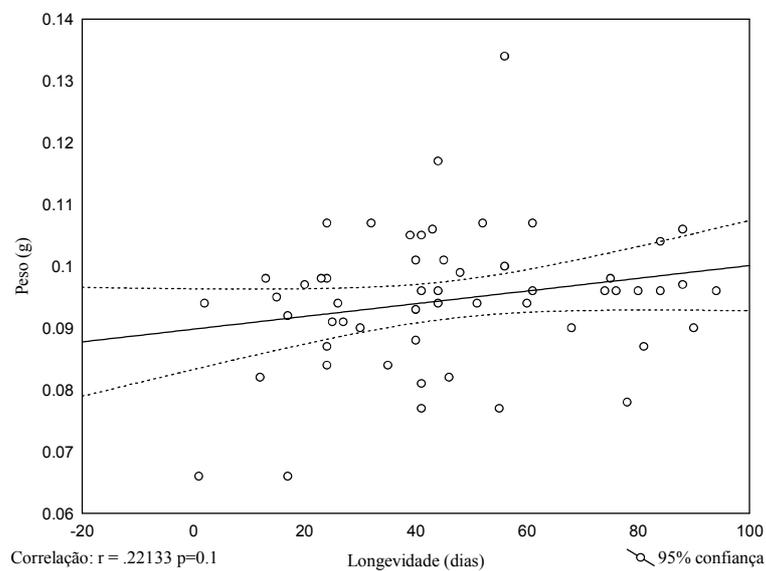


Figura 7: Correlação de Spearman r entre longevidade e peso a nascer de operárias (n=55) de *Melipona fasciculata* em colônias (n=2) que receberam alimentação artificial a base de soja.

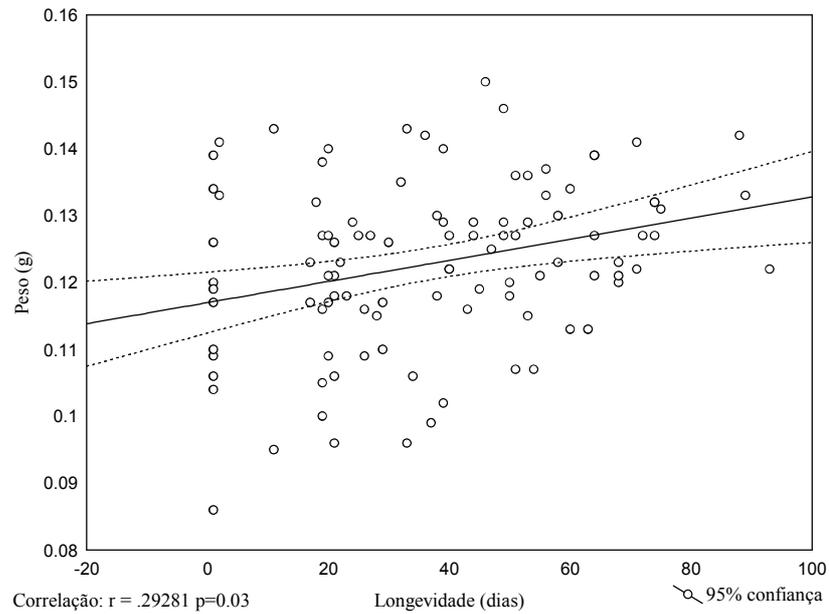


Figura 8: Correlação de Spearman r entre peso ao nascer e longevidade de operárias ($n=101$) *Melipona fasciculata* em colônias do grupo controle (pólen) ($n=3$).

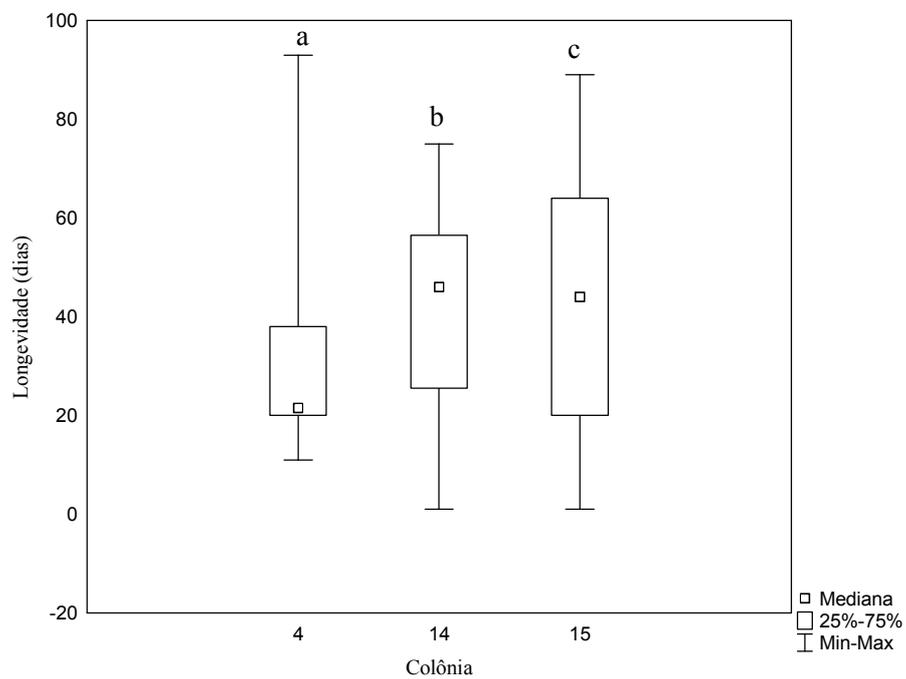


Figura 9: Variação da longevidade de operárias de *Melipona fasciculata* por caixa no grupo controle. Letras diferentes sobre as barras significam haver diferenças significativas entre os tratamentos de acordo com o teste Kruskal-Wallis ($H=6.01$, $GL=2$, $p=0.04$; $n=34, 32, 35$ respectivamente).

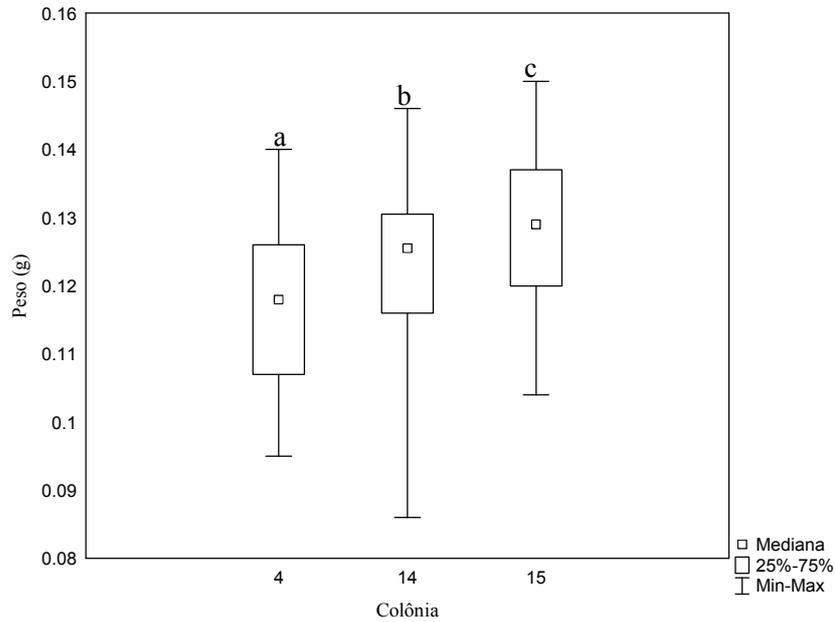


Figura 10: Variação do peso ao nascer de operárias de *Melipona fasciculata* por caixa no grupo controle. Letras diferentes sobre as barras significam haver diferenças significativas entre os tratamentos de acordo com o teste Kruskal-Wallis ($H=13.61$, $GL=2$, $p=0.001$; $n= 34, 32, 35$ respectivamente).

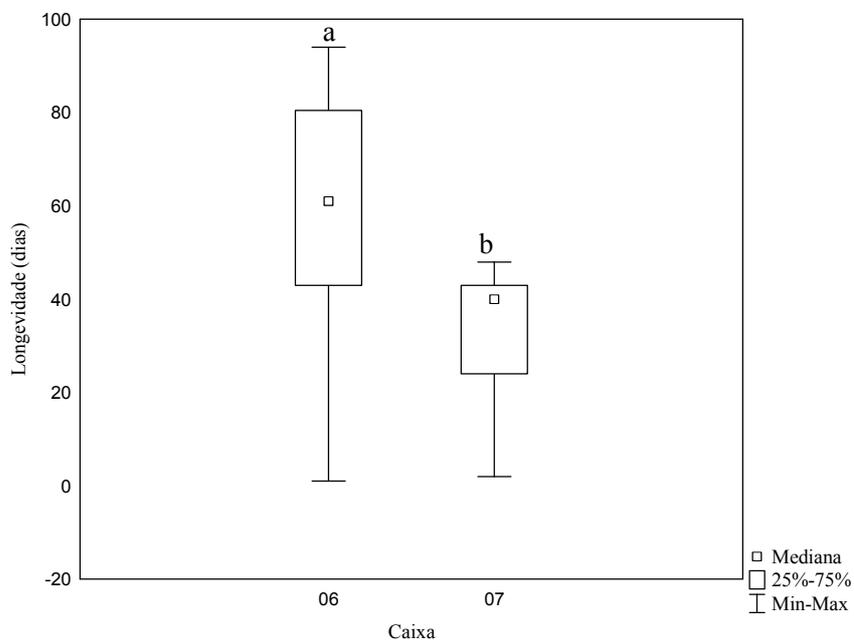


Figura 11: Variação da longevidade de operárias de *Melipona fasciculata* por caixa no grupo soja. Letras diferentes sobre as barras significam haver diferenças significativas entre os tratamentos de acordo com o teste U de Mann-Whitney ($Z=3.85$, $p< 0,05$; $n= 28$ e 27 , respectivamente).

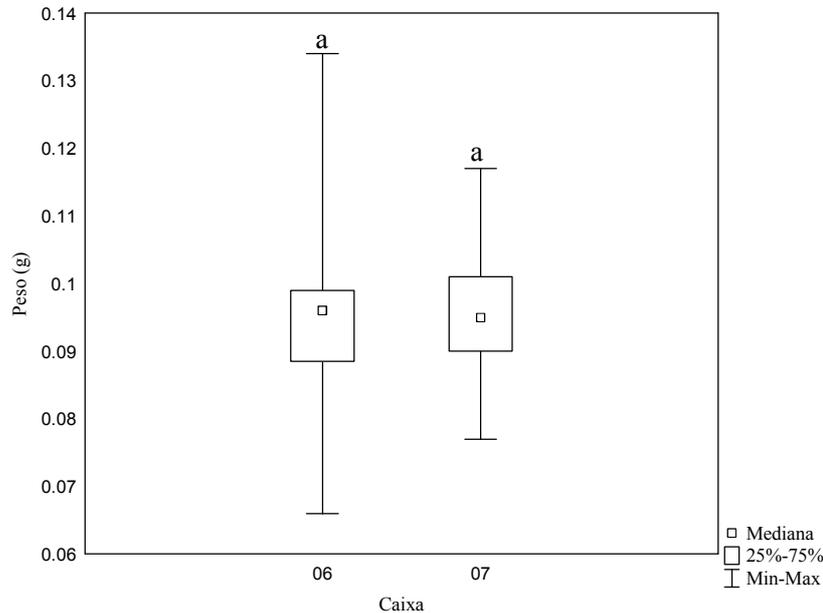


Figura 12: Variação do peso ao nascer de operárias de *Melipona fasciculata* por caixa no grupo soja. Letras iguais sobre as barras significam não haver diferenças significativas entre os tratamentos de acordo com o teste U de Mann-Whitney ($Z= 0.16$, $p= 0.87$; $n= 28$ e 27 , respectivamente).

4.4 MULTIPLICAÇÃO E DESENVOLVIMENTOS DAS COLÔNIAS

A taxa de postura dos dois grupos apresentou média de 6.56 ± 3.91 ovos/dia ($n=3$; controle) e 4.59 ± 3.91 ovos/dia ($n= 6$; soja). Existe diferença significativa entre o grupo controle e saburá artificial ($Z= 2.60$, $p= 0.009$) (Fig. 12), dentro de cada grupo os resultados foram os seguintes: houve variação entre as colônias no grupo do saburá artificial ($H=36.79$, $GL=5$, $p<0.00$), mas dentro do grupo controle não houve variação ($H= 4.98$, $GL=2$, $p=0.08$).

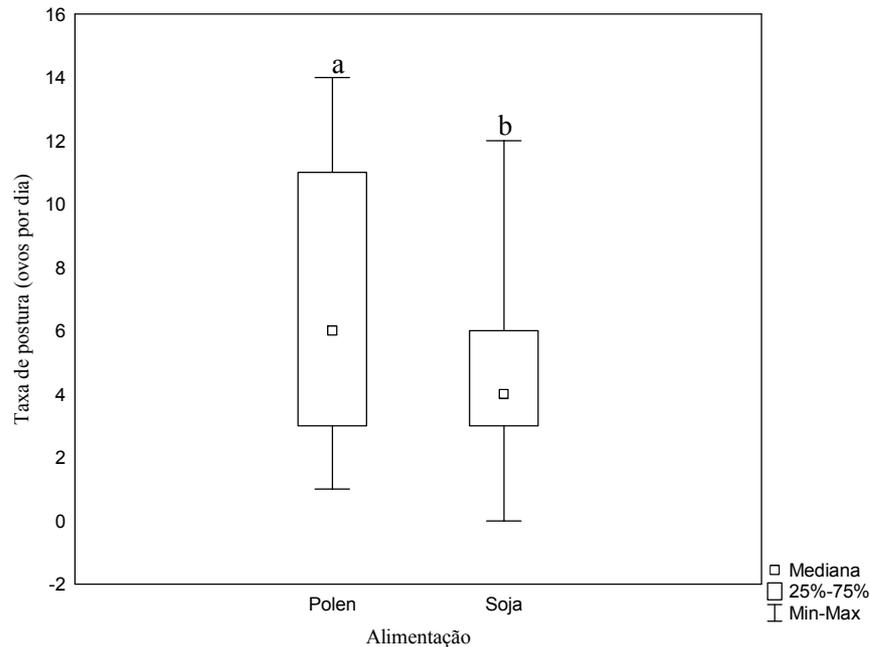


Figura 12: Variação na taxa de postura diária em *Melipona fasciculata* entre os grupos controle e soja. Letras diferentes sobre as barras significam haver diferenças significativas entre os tratamentos de acordo com o teste U de Mann-Whitney ($Z= 2.60$, $p < 0,05$; n pólen: 32 posturas em três colônias; n soja: 93 posturas em seis colônias).

Os dados referentes ao tempo, em dias, que as colônias recém divididas nos dois tratamentos levaram para aceitar uma rainha nova e para o início dos processos de construção de células e de postura encontram-se na Tabela 1. Houve diferença significativa entre os tratamentos quando comparados os processos de início de construção de células e o início da postura ($Z= -2.28$, $p= 0.02$; $Z= -2$, $p= 0.04$, respectivamente) (Fig. 13 e 14). Não houve diferença no tempo de aceitação de uma nova rainha ($Z= -1.37$, $p=0.17$) (Fig. 15).

Tabela 01: Tempo gasto, em dias, em algumas atividades no período inicial do processo de desenvolvimento das colônias recém divididas de *Melipona fasciculata*.

Colônia	Tratamento	Data da divisão	Rainha dominante (Dias)	Início da construção de células (Dias)	Início do processo de postura (Dias)
3	Soja	11/09/08	6	12	15
6	Soja	16/09/08	3	4	17
7	Soja	17/09/08	1	5	8
8	Soja	8/10/08	2	13	20
9	Soja	8/10/08	1	13	15
Média			2.6±1.85	9.4±4.5	15±4.41
4	Controle	11/09/08	6	12	18
10	Controle	14/10/08	16	21	23
12	Controle	16/10/08	5	35	37
13	Controle	16/10/08	5	14	21
14	Controle	22/10/08	1	22	23
15	Controle	30/10/08	5	14	15
Média			6.33±5.04	19.66±8.54	22.83±7.6

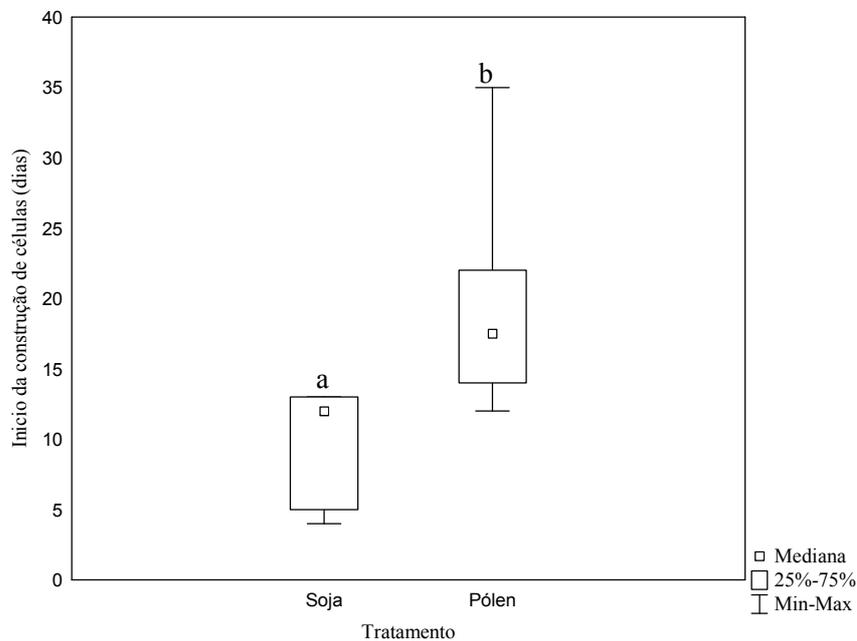


Figura 13: Variação no tempo de construção de células nos dois tratamentos. Letras diferentes sobre as barras significam haver diferenças significativas entre os tratamentos de acordo com o teste U de Mann-Whitney ($Z = -2.28$, $p = 0.02$; n soja: 5; n pólen: 6).

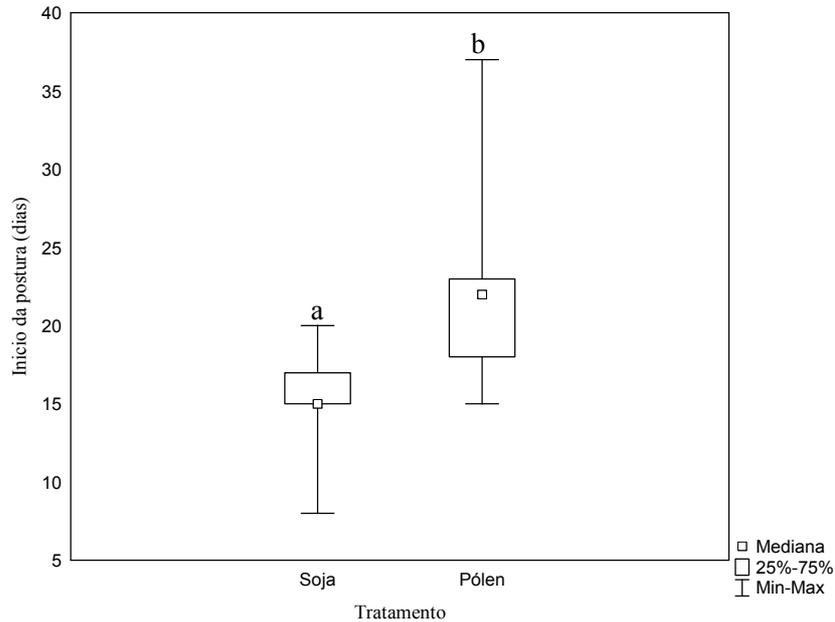


Figura 14: Variação do início do processo de postura em colônias submetidas a tratamento com soja e com pólen. Letras diferentes sobre as barras significam haver diferenças significativas entre os tratamentos de acordo com o teste U de Mann-Whitney ($Z = -2$, $p = 0.04$; n soja: 5; n pólen: 6).

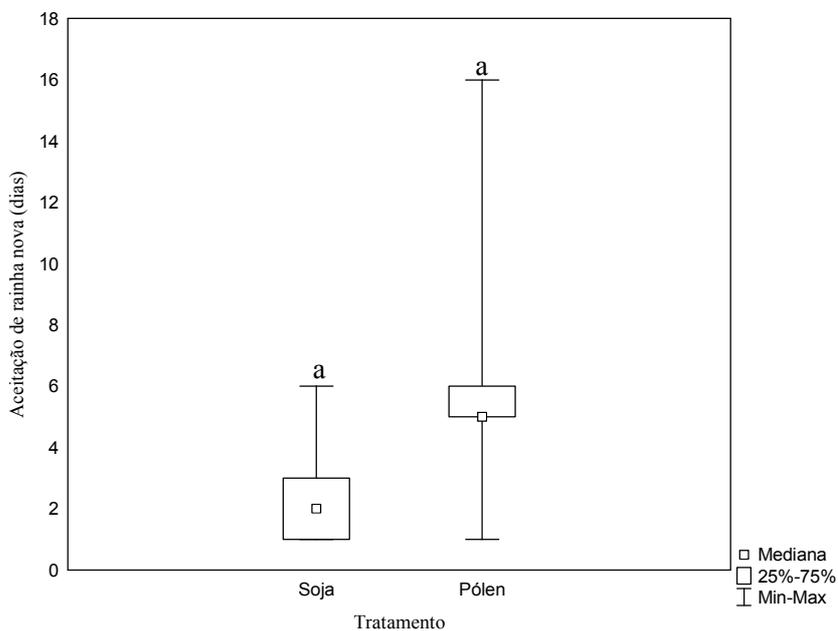


Figura 15: Variação no tempo de aceitação de uma nova rainha em colônias recém divididas submetidas a dois tratamentos. Letras iguais sobre as barras significam não haver diferenças significativas entre os tratamentos de acordo com o teste U de Mann-Whitney ($Z = -1.37$, $p = 0.17$; n soja: 5; n pólen: 6).

4.5 ADAPTAÇÃO DE *Melipona fasciculata* EM CASA-DE-VEGETAÇÃO.

Durante os cinco dias do experimento, morreram 127 operárias da caixa que foi transferida a noite e 92 da caixa transferida pela manhã, com médias de mortalidade diárias de $21,16 \pm 16,48$ e $15,33 \pm 10,09$, respectivamente. A mortalidade ao longo dos dias encontra-se na Figura 16. Os resultados dos testes estatísticos mostraram que não houve diferença significativa entre os horários de transferência das caixas ($Z= 0,48$, $p=0,63$) (Fig. 17).

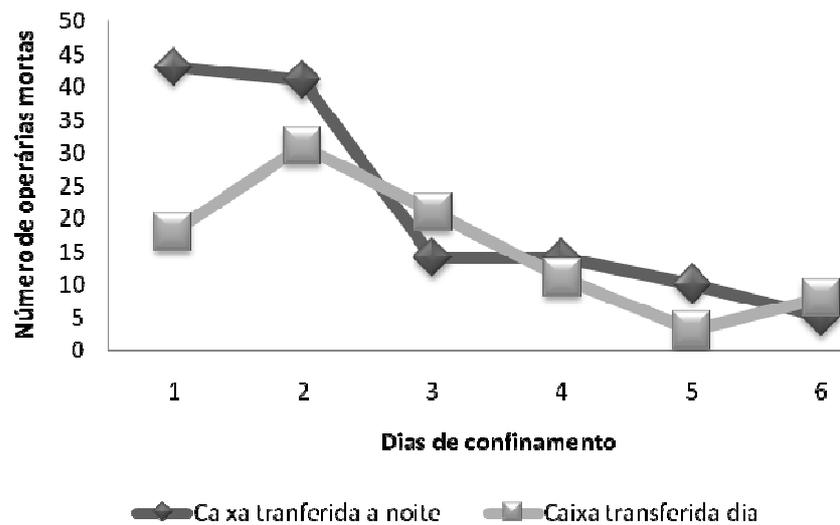


Figura 16: Número de operárias mortas em cinco dias de confinamento por horário de transferência do ninho para dentro da casa-de-vegetação.

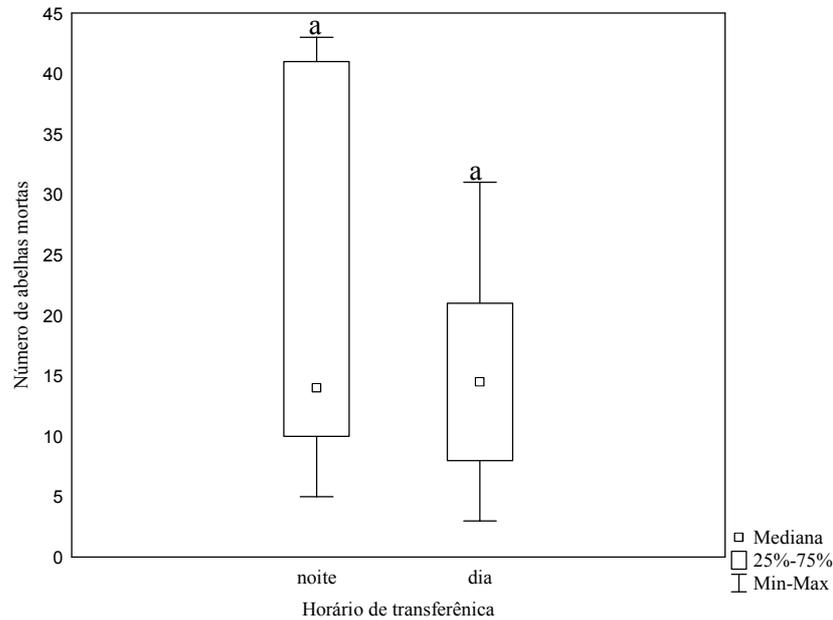


Figura 17: Número de abelhas mortas por horário de transferência da caixa para casa-de-vegetação com suas médias e valores máximos e mínimos. Letras iguais sobre as barras significam não haver diferenças significativas entre os tratamentos de acordo com o teste U de Mann-Whitney ($Z= 0.48$, $p=0.63$; n noite: 127; n pólen: 92).

As abelhas visitaram as flores de tomateiros, pimenta doce e berinjela que se encontravam dentro da casa-de-vegetação (Fig.18A) e essas culturas produziram frutos (Fig. 18B). No ambiente fechado e com a ajuda das abelhas, cinco vasos de tomateiro produziram 253 frutos, já do lado de fora da casa-de-vegetação 6 vasos produziram 167 frutos. Quanto a produtividade da berinjela a produção de 9 vasos no ambiente fechado foi de 30 frutos e em ambiente aberto 5 vasos produziram 3 frutos.

Houve diferença significativa tanto na produção de tomate ($Z= 2.74$; $p= 0.006$) quanto na de berinjela ($Z=3$; $p= 0.002$).



Figura 18: A- Operária de *Melipona fasciculata* em flor de tomateiro dentro da casa-de-vegetação. B- Tomates produzidos pela visitação de operárias de *Melipona fasciculata* dentro da casa-de-vegeta o.

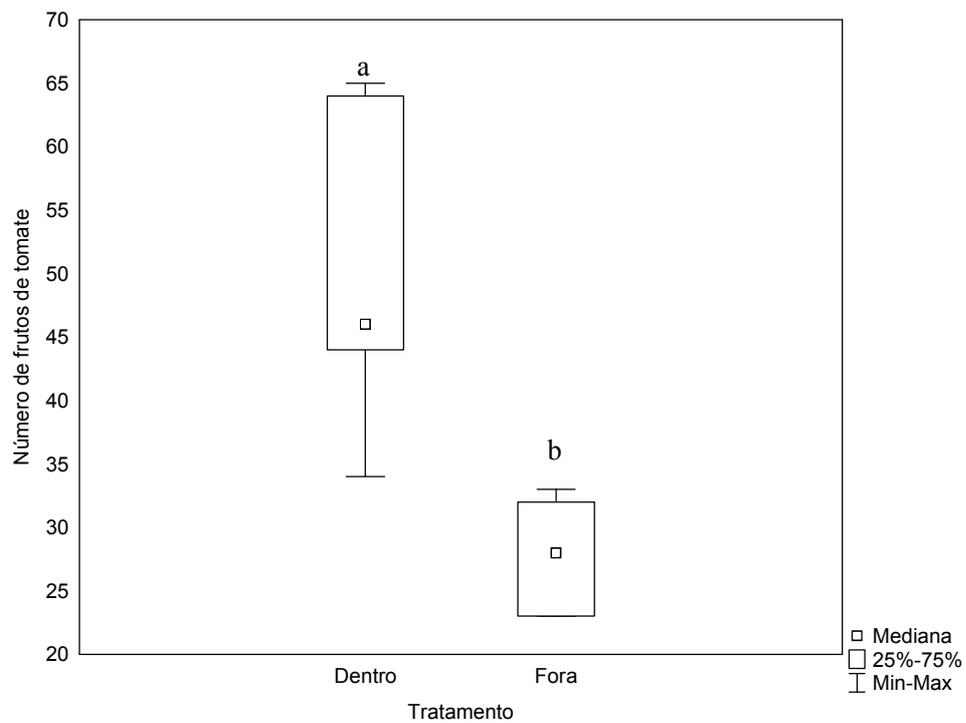


Figura 19: Número de frutos do tomateiro produzido dentro e fora da casa-de-vegeta o com suas m dias e valores máximos e mínimos. Letras diferentes sobre as barras significam haver diferenças significativas entre os tratamentos de acordo com o teste U de Mann-Whitney ($Z= 2.74$; $p= 0.006$).

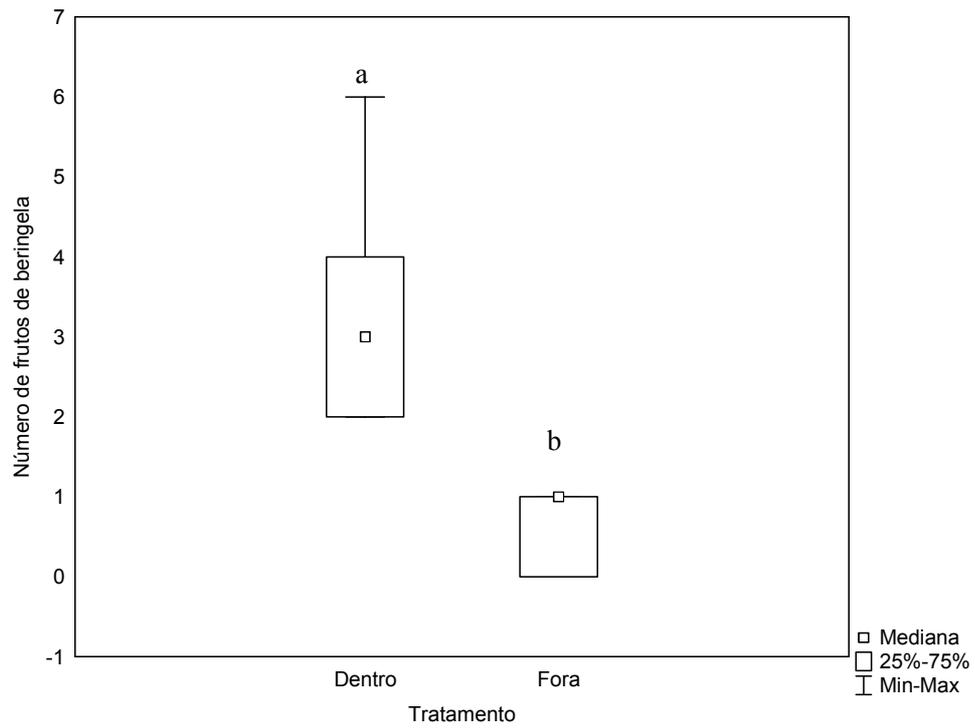


Figura 20: Número de frutos da berinjela produzido dentro e fora da casa-de-vegetação com suas médias e valores máximos e mínimos. Letras diferentes sobre as barras significam haver diferenças significativas entre os tratamentos de acordo com o teste U de Mann-Whitney ($Z=3$; $p= 0.002$).

5 DISCUSSÃO

5.1 ELABORAÇÃO DE UMA DIETA ARTIFICIAL PROTÉICA PARA *Melipona fasciculata*.

Um dos problemas encontrados na elaboração da alimentação baseada na desenvolvida por Costa e Venturieri (2009) foi a não fermentação do alimento, o que pode ter levado a uma não aceitação pelas abelhas. Esse resultado confirma Zucoloto (1975), que já sugeria a necessidade de uma fermentação para o substituto ser melhor aceito pelas abelhas (*Scaptotrigona postica*). As operárias não comeram esse saburá artificial e quando o visitavam manipulavam pouco e já levavam para lixeira em grandes pedaços. Um dia após a oferta do saburá artificial este era totalmente visto na lixeira.

O saburá artificial que não apresentou proliferação de fungos e fermentou foi bem aceito pelas operárias, sendo intensamente manipulado e consumido (Fig. 2c). Este era raramente encontrado na lixeira, e quando encontrado era em pouca quantidade. Quando o saburá artificial era administrado diretamente nos potes, este depois de alguns dias era misturado ao pólen natural coletados pelas operárias (Fig. 2h), ou selado com cerúmen da mesma forma que fechavam os potes de pólen natural colhido das flores. O saburá artificial também foi encontrado dentro das células de cria o que confirma sua utilização como alimento larval. Operárias que acabavam de se alimentar do saburá artificial foram observadas realizando trofaláxis com outras operárias da colônia.

O uso da anilina mostrou-se como uma excelente ferramenta para o rastreamento do alimento administrado, podendo ser facilmente seguido no alimento larval, no aparelho digestivo das operárias, fezes na lixeira e potes de alimento, não alterando a palatabilidade do mesmo.

Não houve indícios de doenças ou falhas no desenvolvimento das abelhas, mas seriam necessários estudos histológicos e morfo-fisiológicos comparativos para chegar a conclusões exatas sobre o efeito da alimentação artificial no desenvolvimento de *M. fasciculata*.

O bom desenvolvimento das colônias que receberam alimentação suplementar a base de soja mostrou que o saburá artificial aqui desenvolvido pode ser administrado em épocas de pouca

florada sem nenhum dano aparente a colônia. Porém, deve-se tomar cuidado, pois foi encontrada em algumas colônias alimentadas com saburá artificial, uma taxa de reabertura de células visivelmente maior que nas colônias que não receberam, contudo esses dados não são conclusivos podendo ser decorrentes da proliferação de fungos, inerentes do período chuvoso, manipulação excessiva das colônias, ou outros fatores não investigados.

5.2 PRODUÇÃO DE SEXUADOS

Muitas são as variáveis que atuam na proporção entre rainhas e operárias nas abelhas do gênero *Melipona*, entre elas pode-se citar a espécie de abelha, a estação do ano e o estado nutricional da colônia (KERR, 1984 *apud* KERR, 1996).

Em condições de alta disponibilidade de alimento o máximo de produção de rainhas é de 25% (KERR, 1983 *apud* KERR, 1996; KERR; CARVALHO; NASCIMENTO, 1996) e o mínimo é de 1% a 3% (KERR, 1949 *apud* 1996). E em muitos casos a disponibilidade de alimento parece também influenciar na produção de machos (BEGO, 1990; van VEEN; SOMMEIJER; ARCE, 1999; GROSSO; BEGO; MARTINEZ, 2000; MOO-VALLE; QUEZADA-EUÁN; WENSELEERS, 2001; SOMMEIJER et al., 2003; CHINH; SOMMEIJER, 2005).

Colônias divididas com a metodologia aqui aplicada possuem pouco ou nenhum alimento estocado, dependendo quase que exclusivamente da alimentação (xarope, saburá ou saburá artificial) dada diariamente. Este fato pode explicar a pouca produção, abaixo do esperado, de rainhas e a não produção de machos nas colônias estudadas nos dois tratamentos.

Morais et al. (2006), estudando a mesma espécie, só encontraram machos em colônias fortes; e, Kerr (1996), também com *M. fasciculata*, verificou a ausência de machos nos primeiros favos de postura na maioria das colônias estudadas.

A produção de rainhas e operárias, segundo Morais et al. (1996), é primeiramente afetada por fatores intra-coloniais, como a taxa diária de postura, do que por reservas de recursos. Em *M. beecheii*, por exemplo, a produção de rainhas foi menos dependente da quantidade de alimento

estocado que a produção de machos (MOO-VALLE; QUEZADA-EUÁN; WENSELEERS, 2001).

Em colônias mantidas sob condições naturais, rainhas, machos e operárias são constantemente produzidos variando apenas na quantidade (MOO-VALLE; QUEZADA-EUÁN; WENSELEERS, 2001). E vários parecem ser os fatores que influenciam na produção de sexuais, não podendo ser explicado exclusivamente pela quantidade de alimento estocado na colônia. Velthuis e Sommeijer (1991 *apud* MOO-VALLE; QUEZADA-EUÁN; WENSELEERS, 2001) afirmam que a proporção de 25% de rainhas só é atingida sob condições ideais de alimentação.

Os gráficos mostram uma tendência de o saburá natural produzir mais rainhas e operárias que o saburá artificial, porém não houve diferença significativa entre os tratamentos, logo o alimento artificial não afeta significativamente a produção de sexuais e nem a determinação das castas.

Para melhores conclusões seria necessário o aumento do número amostral, mas ainda assim sugerimos que o saburá artificial seja ofertado às colônias de *M. fasciculata* na época de baixa florada ou escassez de pólen, que na região coincide com períodos mais chuvosos, de dezembro a maio.

5.3 LONGEVIDADE

A longevidade média das operárias tanto do grupo que recebeu alimentação adicional a base de soja (46 dias) quanto do grupo controle (37 dias) ficou próxima dos resultados obtidos para outras espécies do mesmo gênero, 51 dias *M. beechei* (BIESMEYER; TÓTH, 1998) e 40 dias para *M. favosa* (SOMMEIJER, 1984).

Assim como Contrera (2005), que encontrou para *M. quadrifasciata* uma relação entre a longevidade de operárias e seu peso, quanto mais pesadas, mais viveram, neste trabalho foi encontrada uma relação positiva entre a longevidade e o peso ao nascer para *M. fasciculata* do

grupo controle. O grupo que recebeu saburá artificial não apresentou relação entre os dois parâmetros, a soja parece ter influenciado negativamente nessa relação.

Nas abelhas alimentadas com o saburá artificial, o peso ao nascer, parece não ser tão importante para a longevidade, já que nasceram com um peso médio menor e uma longevidade média maior, quando comparadas às do grupo controle, devendo assim existir outros fatores influenciando essa relação, como por exemplo, o próprio fator genético, e outros fatores intra-coloniais.

Devido à variação entre as colônias dentro de cada grupo, pouco se pode concluir sobre a relação entre a longevidade e o peso ao nascer, e pouco se pode conhecer sobre a influência da soja nestes parâmetros. Para qualquer outro tipo de conclusão seria necessário realizar repetições e aumentar o número de caixas por tratamento. Além de minimizar o fator sazonal, já que este parece ter influência na longevidade de operárias.

Outro problema encontrado durante o experimento foi o fato de as operárias, assim que iniciaram suas atividades de vôo começaram a trocar de caixas várias vezes no mesmo dia e ao longo de todo o experimento, não importando a condição da caixa de origem ou a da caixa para qual migraria, se forte ou fraca.

A presença de várias caixas da mesma espécie próximas pode ter desorientado algumas operárias e não se pode descartar a possibilidade de operárias deste experimento terem entrado em outras caixas do meliponário.

5.4 DESENVOLVIMENTO DAS COLÔNIAS

Durante o desenvolvimento das colônias, em alguns casos, foi necessário inserir outro favo de cria preste a emergir. Algumas vezes somente após esse processo é que se iniciou o processo de construção de células.

Em um dado momento optamos por unir duas colônias, a colônia 5 tinha rainha, possuía poucas operárias e não tinha postura, a colônia 8 tinha operárias e não tinha rainha, ambas do grupo do saburá artificial. No dia após a união, a construção de células e em seguida o processo

de postura foram iniciados, o que nos leva a crer que o número de operárias parece ser importante para o início do processo de construção de células e oviposição. Segundo Aidar (1996), quanto maior o número de abelhas disponíveis na caixa maior será o desenvolvimento das colônias recém divididas.

Houve também interrupção ou parada na postura, em todos os casos, nas caixas que foram alimentadas com saburá artificial. Em dois desses casos as colônias só iniciaram a postura depois de um dia de oferta de saburá, estas caixas não foram utilizadas nos outros experimentos.

As caixas que foram alimentadas com o saburá artificial começaram o processo de construção de células e postura mais cedo, quando comparadas com as colônias do grupo controle. E já que, segundo Venturieri (com. pess.), a oferta de saburá para as colônias desencadeia o processo de construção e aprovisionamento das células, a soja parece ser um bom substituto do pólen.

A postura nas colônias do grupo controle foi em média 6.56 ovos/dia e no grupo do saburá artificial 4.59. Em colônias fortes a taxa para mesma espécie é de 40 ovos diários (KERR, 1996).

Para Giannini e Bego (1998) o número de células ovipositadas em *M. fasciculata* (*M. compressipes fasciculata*) foi de $5,6 \pm 2,5$ e a produtividade da colônia em 24 horas foi de cerca de 27 oviposições por dia, mas essas colônias eram fortes e bem estabilizadas. Baquero, Venturieri e Nates-Parra (2004) encontraram depois de 8 dias de iniciado o processo de postura uma taxa de oviposição de 30 células em 24 horas, em época de maior florada e menos chuvas (mês de setembro).

A taxa de postura está diretamente relacionada ao tamanho populacional (AIDAR, 1996); quanto mais células ovipositadas maior vai ser a colônia. A maior taxa de postura do grupo alimentado com saburá sugere um melhor desenvolvimento final dessas colônias, provavelmente esse seja o fator mais importante para avaliar o desenvolvimento inicial dos ninhos.

O alimento a base de soja parece ter estimulado o início da construção de células e o início do processo de postura, mas ainda assim deve-se ter cuidado com sua oferta, pois houve uma alta taxa de reabertura de células e parada na postura nas colônias.

De acordo com nossos resultados o saburá artificial parece não ter influenciado negativamente no desenvolvimento das colônias, sendo poucas ou ausentes as diferenças apresentadas em relação às colônias alimentadas com o saburá.

O desenvolvimento não depende só de fatores como quantidade de abelhas, de favos, tipo de alimentação e taxas de construção de células e postura; o potencial genético de cada colônia também influencia no bom desenvolvimento das mesmas, pois caixas provenientes de colônias mães fortes terão suas atividades realizadas mais rapidamente (CARVALHO, 2007).

5.5 ADAPTAÇÃO A CASA-DE-VEGETAÇÃO

As abelhas campeiras apresentaram uma dificuldade inicial em adaptar-se ao ambiente fechado, passando a maior parte do tempo próximas ao teto de plástico da casa-de-vegetação, tentando escapar. Muitas operárias ao saírem das colônias não conseguiram voltar e acabaram morrendo, esse mesmo comportamento foi visto em *M. subnitida* (Ducke, 1910) (CRUZ et al., 2004).

Vários são os fatores que podem influenciar esse comportamento como, por exemplo, a elevada temperatura da casa-de-vegetação e a desorientação proporcionada pelo ambiente fechado (FREE, 1993), além do próprio material do qual é feita a casa (vidro, plástico ou tela) que é diferentemente permeável à luz ultravioleta, utilizada pelas abelhas em sua orientação (von FRISCH, 1967 *apud* CRUZ et al., 2004).

Uma alternativa para minimizar alguns desses problemas seria a instalação das caixas do lado de fora da casa-de-vegetação, estando elas conectadas com a casa apenas por um tubo de acesso (SARTO; PERUQUETTI; CAMPOS, 2005).

A redução da mortalidade das campeiras, a partir do terceiro dia, provavelmente é devida a uma nova geração de abelhas campeiras que no início de suas atividades realizam vôos de aprendizado e reconhecimento do ambiente externo, conseguindo retornar a colônia.

Foi observado durante todo o experimento que as rainhas continuavam realizando postura, mostrando que a instalação das mesmas no ambiente fechado da casa-de-vegetação não interferiu na atividade interna da colônia.

Na tentativa de se colocar caixas recém divididas dentro da casa-de-vegetação, em cinco delas a postura foi totalmente interrompida e houve morte da rainha em menos de uma semana,

além da morte da maioria das operárias, provavelmente o número reduzido de operárias impossibilitou a regulação térmica interna da caixa.

Não houve diferença estatística significativa na mortalidade de operárias em função do horário de transferência das colônias, contudo numericamente mais operárias morreram quando a transferência para casa-de-vegetação foi realizada à noite.

Durante a noite todas as abelhas estão dentro da caixa, logo ao amanhecer todas as campeiras saem à procura de alimento e com a nova posição das colônias não conseguem retornar para a caixa, se perdendo dentro da casa-de-vegetação, ou se debatendo no teto da casa e nas laterais de tela, e acabam morrendo. Já quando a transferência ocorre pela manhã a maioria das campeiras já saiu e quando a caixa é colocada no ambiente fechado menos operárias morrem, as campeiras quando voltam do campo, ao local de origem da caixa, acabam entrando nas vizinhas. Já foi observado, para esta e outras espécies, que em muitos casos não existe agressividade a operárias que trocam de caixas (Item 4.3, deste trabalho).

Algumas espécies não conseguem forragear em determinadas culturas agrícolas dentro da casa-de-vegetação como, por exemplo, *Nannotrigona perilempoides* (Cresson, 1878) e *Trigona fuscipennis* em *Salvia splendens* e *Scaptotrigona bipunctata* e *S. quadripunctata* em morango (ver revisão em SLAA et al., 2006), entretanto segundo este mesmo autor, diversas outras espécies de meliponíneos se adaptam muito bem a condições de confinamento em casa-de-vegetação.

Desta forma, durante a escolha de qual meliponíneo utilizar em casas de vegetação deve-se levar em consideração, ao menos, dois fatores: a adaptação da abelha ao ambiente fechado e sua eficiência na polinização da cultura em questão.

6 CONCLUSÃO

O alimento desenvolvido neste trabalho foi bem aceito pelas operárias e a anilina é uma boa ferramenta para rastrear o saburá artificial dentro da colônia.

O saburá artificial apresentou melhor resultado que o saburá (pólen fermentado) na longevidade, início da construção de células e início do processo de postura. Já o saburá foi melhor na taxa de postura diária e no peso ao nascer.

O alimento artificial não influencia da determinação de sexo e castas em colônias recém divididas de *M. fasciculata*.

Conclui-se que o alimento protéico artificial feito a base de extrato de soja (saburá artificial) pode ser oferecido às colônias de *M. fasciculata*, especialmente em períodos de baixa florada, já que não alterou o desenvolvimento das colônias.

Para ser utilizado como fonte principal de proteína, mais estudos serão necessários, onde sejam investigados todos esses aspectos em colônias alimentadas exclusivamente com o saburá artificial.

M. fasciculata se adapta muito bem ao uso para polinização em casa-de-vegetação e o horário de transferências das caixas para dentro da casa parece não alterar a taxa de mortalidade.

REFERÊNCIAS

- AIDAR, D. S. **A Mandaçaia:** biologia de abelhas, manejo e multiplicação artificial de colônias de *Melipona quadrifasciata* Lep (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1996. 103p.
- AMDAM, G. V.; OMHOLT, S. W. The regulatory anatomy of honeybee lifespan. **Journal of Theoretical Biology**, v.216, p.209-228, 2002.
- BAQUERO, P. L.; VENTURIERI, G. C.; NATES-PARRA, G. División y desarrollo de nidos de *Melipona fasciculata*. In: ENCUENTRO COLOMBIANO SOBRE ABEJAS SILVESTRES, 2., 2004, Bogotá. **Anais...** Bogotá: Universidad Nacional de Colômbia, 2004. p. 128-130.
- BEGO, L. R. On social regulation in *Nannotrigona (Scaptotrigona) postica* LAtreille, with special reference to productivity of colonies (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 34, p. 721-738, 1990.
- BETIOLI, J. V.; CHAUD-NETTO, J. Longevidade de operárias de abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.) (Hymenoptera, Apidae) confinadas com e sem rainha. **Naturalia**, v.24, p.49-59, 1999.
- BIESMEIJER, J. C. **The organization of foraging in stingless bees of the genus *Melipona*; an individual-oriented approach.** (PhD). Utrecht University, Utrecht, 1997.
- BIESMEIJER, J. C.; TÓTH, E. Individual foraging activity level and longevity in the stingless bee *Melipona beecheii* in Costa Rica (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). **Insectes Sociaux**, v. 45, p. 427-443, 1998.
- BIESMEIJER, J. C. et al. Niche differentiation in nectar-collecting stingless bees: the influence of morphology, floral choice and interference competition. **Ecological Entomology**, v. 24, p. 380-388, 1999.
- BOULAY, R. et al. Social isolation in ants: evidence of its impact on survivorship and behavior in *Camponotus fellah* (Hymenoptera, Formicidae). **Sociobiology**, v.33, n.2, p.111-124, 1999.

BUSCHINI, M. L. T.; CAMPOS, L. A. O. Caste determination in *Trigona spinipes* (Hymenoptera, Apidae): influence of the available food and the juvenile hormone. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 55, supl. 1, p. 121-129, 1995.

CAMARGO, C. A. Determinação das castas em *Scaptotrigona postica* Latreille (Hymenoptera, Apidae). **Revista Brasileira de Biologia**, v. 32, p. 133-138, 1972.

CAMARGO, C. A. Dieta semi-artificial para abelhas da subfamília Meliponinae (Hymenoptera, Apidae). **Ciência e Cultura**, v. 28, n.4, p. 430-431. 1976.

CAMARGO, C. A. Longevity of diploid males, haploid males, and workers of the social bee *Melipona quadrifasciata* Lep. (Hymenoptera: Apidae). **Journal of the Kansas Entomological Society**, v.55, n.1, p.8-12, 1982.

CAMARGO, J. M. F. Stingless bees of the Amazon. In: VEERESH, G. K., MALLIK, B., VIRAKTAMATH, C. A. (Eds.). **Proceedings of the 11th International Congress of the IUSSI**. IUSSI, Bangalore, India. 1990. p. 736-738.

CAMARGO, J. M. F.; PEDRO, S. R. M. Meliponini Lepeletier, 1836. In: MOURE, J. S., URBAN, D.; MELO, G. A. R. (Orgs). **Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region**. Curitiba: Sociedade Brasileira de Entomologia, 2007, p. 272- 577.

CAREY, J. R. Demographic mechanisms for the evolution of long life in social insects. **Experimental Gerontology**, v.36, p.713-722. 2001.

CARVALHO, G. E. V. DE. **Aspectos reprodutivos de *Melipona compressipes fasciculata* (Hymenoptera, Apidae): alimento larval, ovo e povoamento de colméias**. 2007. 69f. Dissertação (Mestrado em Agroecologia)- Universidade Estadual do Maranhão, 2007.

CARVALHO-ZILSE, G. A.; KERR, W. E. Substituição natural de rainhas fisogástricas e distância de vôo dos machos em tiuba (*Melipona compressipes fasciculata* Smith, 1854) e Uruçu (*Melipona scutellaris* Latreille, 1811) (Apidae, Meliponini). **Acta Amazonica**, v.34, n.4, p.649-652, 2004.

CASTRO, M. S. D. et al. Stingless bees. In: IMPERATRIZ-FONSECA, V. L., SARAIVA, A. M., et al. (Eds.). **Bees as pollinators in Brazil: assessing the status and suggesting best practices**. Ribeirão Preto: Holos Editora, 2006. p.75-88.

CHAPUISAT, M.; KELLER, L. Division of labour influences the rate of ageing in weaver ant workers. **Proceedings of the Royal Society of London B**, v.269, p.909-913, 2002.

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

COLETTI-SILVA, A. Captura de enxames de abelhas sem ferrão (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae) sem destruição de árvores. **Acta Amazonica**, v. 35, n. 3, p.383-388, 2005.

CONTRERA, F. A. L. **Trofaláxis e contatos sociais em abelhas-sem-ferrão do gênero *Melipona* Illiger, 1806 (Apidae, Meliponini)**. 2005. 198f. Tese (Doutorado em Ecologia) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, 2005.

CORTOPASSI-LAURINO, M. et al. Global Meliponiculture: challenges and opportunities. **Apidologie**, v.37, n.2, p.275-292, 2006.

COSTA, L. **Nutrição de operárias de urucu-amarela, *Melipona flavolineata* Friese 1900 (Apidae: Meliponina)**. 2008. 72f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal)-Universidade Federal do Pará, 2008.

COSTA, L.; VENTURIERI, G. C. Diet impacts on *Melipona flavolineata* workers (Apidae, Meliponini). **Journal of Apicultural Research**, v. 48, p. 38-45, 2009.

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

CRUZ, D. D. O. et al. Pollination efficiency of the stingless bee *Melipona subnitida* on greenhouse sweet pepper. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.40, n.12, p.1197-1201, 2005.

ENGELS, E.; ENGELS, W. Drohnen-Ansammlungen bei Nestern der Stachellosen Biene *Scaptotrigona postica*. **Apidologie**, v. 15, n. 3, p.315-328, 1984.

ENGELS, W.; IMPERATRIZ- FONSECA, V. L. Caste development, reproductive strategies, and control of fertility in honey bees and stingless bees. In: ENGELS, W. (Ed.). **Social insects: an Evolutionary Approach to Castes and Reproduction**. Berlin: Springer-Verlag, 1990, p. 167-230.

FERNANDES-DA-SILVA, P. G.; ZUCOLOTO, F. S. A semi-artificial diet for *Scaptotrigona depilis* Moure (Hymenoptera, Apidae). **Journal of Apicultural Research**, v.29, n.4, p.233-235, 1990.

FREE, J. B. **Insects pollination of crops**. 2. ed. London: Academic Press, 1993. 684p.

GIANNINI, K. M.; BEGO, L. R. On the oviposition behaviour of *Melipona compressipes fasciculata* (Hymenoptera, Meliponinae). **Iheringia**, Série Zoologica, v. 84, p. 83-94, 1998.

GROSSO, A. F.; BEGO, L. R.; MARTINEZ, A. S. The production of males in queenright colonies of *Tetragonisca angustula angustula* (Hymenoptera, Meliponinae). **Sociobiology**, v. 35. p. 475-485, 2000.

GUALBERTO, R.; BRAZ, L. T.; BANZATTO, D. A. Produtividade, adaptabilidade e estabilidade fenotípica de cultivares de tomateiro sob diferentes condições de ambiente. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, p. 81-88, 2002.

HEARD, T. A. The role of stingless bees in crop pollination. **Annual Review of Entomology**, v.44, p.183-206. 1999.

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; ZUCCHI, R. Virgin queens in stingless bees: a review. **Apidologie** (Celle), v. 26, n. 3, p. 231-244, 1995.

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. et al. Abelhas e desenvolvimento rural no Brasil. **Mensagem Doce**, v.80, n.3, p.3-8, 2005.

KERR, W. E. Genetic determination of castes in the genus *Melipona*. **Genetics**, v.35. p. 143-152. 1950.

KERR, W. E. **Biologia e manejo da tíuba: a abelha do Maranhão**. São Luís: EDUFMA. 1996.156p.

KERR, W. E. et al. Reproduction in the social bees (Hymenoptera: Apidae). **Journal of the New York Entomological Society**, v. 70, p. 265-276, 1962.

KERR, W. E.; CUNHA, R. A. DA. Sex determination in bees. XXVI. Masculinism of workers in the Apidae. **Revista Brasileira de Genética**, v. 13, n. 3, p. 479-489. 1990.

KERR, W.E.; CARVALHO, G. A.; NASCIMENTO, V. A. **Abelha Uruçu: biologia, manejo e conservação**. Belo Horizonte: Acangaú. 1997. 144p.

KOEDAM, D. Production of queens, workers and males in the stingless bee *Melipona favosa* (Apidae, Meliponinae): patterns in time and space. **Netherlands Journal of Zoology**, v.49, p. 289-302, 1999.

KOEDAM, D. A non-invasive method for sampling *Melipona* brood combs and determining caste and sex ratios. In: MELO G. A. R.; ALVES-DOS-SANTOS I. (Eds.). **Apoidea Neotropica: Homenagem aos 90 anos de Jesus Santiago Moure**. Criciúma: UNESC, 2003, p.1-19.

KOEDAM, D.; MONGE, I. A.; SOMMEIJER, M. J. Social interactions of gynes and their longevity in queenright colonies of *Melipona favosa* (Apidae, Meliponinae). **Netherlands Journal of Zoology**, v. 45, n. 3/4, p. 480-494, 1994.

MALAGODI-BRAGA, K. S. **Estudo de agentes polinizadores em cultura de morango (*Fragaria x ananassa* Duchesne - Rosaceae)**. 2002. 104f. Tese (Doutorado) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, 2002.

MALAGODI-BRAGA, K. S.; KLEINERT, A. D. M. P. Os meliponíneos como polinizadores em estufas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 14., 2002, Campo Grande-MT. **Anais...** Campos Grande: Confederação Brasileira de Apicultura, 2002. p. 204-208.

MALAGODI-BRAGA, K. S.; KLEINERT, A. D. M. P. Could *Tetragonisca angustula* Latreille (Apinae, Meliponini) be effective as strawberry pollinator in greenhouses?. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.55, n.7, p.771-773, 2004.

MATEUS, S.; NOLL, F. B. Predatory behavior in a necrophagous bee *Trigona hypogea* (Hymenoptera; Apidae, Meliponini). **Naturwissenschaften**, v. 91, p. 94–96. 2004.

MAUÉS, M. M.; VENTURIERI, G. C. Aspectos da biologia floral do urucuzeiro (*Bixa orellana*) na região de Belém – Pará. In: REUNIÃO TÉCNICO-CIÊNTÍFICA SOBRE O MELHORAMENTO GENÉTICO DO URUCUZEIRO, 1.,1991, Belém-PA. **Anais...** Belém: EMBRAPA-CPATU, 1991.p.82-89.

MICHENER, C. D. **The Social Behavior of the Bees: a comparative Study**. Cambridge: Harvard University Press.1974. 404p.

MICHENER, C. D. Biogeography oh the bees. **Annals of the Missouri Botanical Garden**. v. 66, p. 277-347, 1979.

MICHENER, C. D. Classification of Apidae (Hymenoptera).**The University of Kansas Science Bulletin**. v. 54, p. 75-164, 1990.

MICHENER, C. D. **The Bees of the World**. Baltimore and London, UK: Johns Hopkins University Press. 2000. 913 p.

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 Souciaux**, v. 48, p. 398-403, 2001.

MORAIS, M. M. et al. Colony internal conditions related to caste production in *Melipona compressipes fasciculata* (Apidae, Meliponini). **Insectes Sociaux**, v.53, p.1-4. 2006.

NIEUWSTADT, M. G. L. VAN; IRAHETA, C. E. R. Relation between size and foraging range in stingless bees (Apidae, Meliponinae). **Apidologie**, v. 27, p. 219-228, 1996.

NOGUEIRA-NETO, P. **A criação de abelhas indígenas sem ferrão**. São Paulo: Editora Chácaras e Quintais. 1970. 365 p.

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

NOLL, F. B. Foraging Behavior on Carcasses in the Necrophagic Bee *Trigona hypogea* (Hymenoptera: Apidae). **Journal of Insect Behavior**, v. 10, n. 3. 1997.

O'DONELL, S.; JEANNE, R. L. Implications of senescence patterns for the evolution of age polyethism in eusocial insects. **Behavior Ecology**, v. 6, p. 269-273, 1995.

PAGE, R. E., JR.; PENG, C. Y. S. Ageing and development in social insects with emphasis on the honey bee, *Apis mellifera* L. **Experimental Gerontology**, v.36, p.695-711, 2001.

PENEDO, M. C. T.; TESTA, P. R.; ZUCOLOTO, F. S. Valor nutritivo do geval e do levedo de cerveja em diferentes misturas com pólen para *Scaptotrigona (Scaptotrigona) postica* (Hymenoptera, Apidae). **Ciência e Cultura**, v.28, n. 5, p. 536-538, 1976

OLIVEIRA, F.; KERR, W. E. **Divisão de uma colônia de japorá (*Melipona compressipes manaosensis*) usando-se uma colméia e o método de Fernando Oliveira**. INPA, MCT, Manaus. 2000. 10p.

PORTUGUAL-ARAÚJO, V. Colméias para "abelhas sem ferrão"- Meliponini. **Instituto de Angola Boletim** n.7. 1955.

RIBBANDS, C. R. Division of labour in the honeybee community. **Proceedings of the Royal Society of London**. series B, Biological Sciences, v.140, p. 32-43, 1952.

ROIG-ALSINA, A.; MICHENER, C.D. Studies of the phylogeny and classification of long-tongued bees. **University of Kansas Science Bulletin**, v.55, p.124-162, 1993.

ROSSO, J. M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; CORTOPASSI-LAURINO, M. Meliponicultura en Brasil I: Situacion en 2001 y perspectivas. In: SEMINARIO MEXICANO

SOBRE ABEJAS SIN AGUIJÓN, 2., 2001, Mérida- México. **Memórias...** Mérida: 2001. p. 28-35.

ROUBIK, D. W. Seasonality in colony food storage, brood production and adult survivorship: studies on *Melipona* in tropical forest (Hymenoptera, Apidae). **Journal of the Kansas Entomological Society**, v. 55, n. 4, p. 789-800, 1982.

ROUBIK, D. W. Nest and colony characteristics of stingless bees from Panama. **Journal of the Kansas Entomological Society**, v. 56, p. 327-355, 1983.

ROUBIK, D. W. **Ecology and natural history of tropical bees**. Cambridge University Press. 1989. 514p.

ROUBIK, D. W. Stingless bee nesting biology. **Apidologie**, v. 37, p. 124-143, 2006.

SAKAGAMI, S. F. Stingless bees. In: HERMANN, H.R. (Ed.). **Social Insects**. vol 3. New York: Academic Press. 1982. 361-423p.

SAKAGAMI, S. F; ZUCCHI, R. Oviposition behaviour of two dwarf stingless bees, *Hypotrigona (Leurotrigona) muelleri* and *H. (Trigonisca) duckei*, with Notes on the temporal articulation of oviposition process in Stingless bees. **Jour. Fac. Sci. Hokkaido Univ., Ser. VI**, n. 19, v. 2, p. 361-421, 1974.

SARTO, M. C. L. DEL; PERUQUETTI, R. C.; CAMPOS, L. A. O. Polinização em Ambiente Protegido: Uso da Abelha-sem-Ferrão Mandaçaia na Polinização do Tomateiro em Sistema Orgânico de Produção. In: AGUIAR, L. A.; DAREZZO, R. J. et al. (Eds.). **Cultivo em ambiente protegido histórico, tecnologia e perspectiva**. Viçosa: Ed. Viçosa, 2004, p.241-252.

SARTO, M. C. L. DEL; PERUQUETTI, R. C.; CAMPOS, L. A. O. Evaluation of the Neotropical Stingless Bee *Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera: Apidae) as Pollinator of Greenhouse Tomatoes. **Journal of Economic Entomology**, v.98, n.2, p.260-266, 2005.

SCHMIDT-HEMPEL, P.; WOLF, T. J. Foraging effort and life span in a social insect. **Journal of Animal Ecology**, v.56, p.209-218, 1988.

SILVA, E. C. A. DA. Técnicas de substituição de rainhas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 16., 2006, Aracaju-SE. **Anais...** Itauna: Mensagem Doce, 2006.

SILVEIRA, F. A.; MELO, G. A. R.; ALMEIDA, E. A. B. **Abelhas Brasileiras: Sistemática e Identificação**. Belo Horizonte: Fernando A. Silveira. 2002. 253p.

SLAA, E. J. et al. A scientific note on the use of stingless bees for commercial pollination in enclosures. **Apidologie**, v. 31, p. 141-142. 2000.

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

SOKAL, R. R.; ROHLF, F. T. **Biometry: the principles and practice of statistics in biological research**. 3 ed. New York: W. h. Freeman, 1995. 887p.

SOMMEIJER, M. J. Distribution of labor among workers of *Melipona favosa* F: age-polyethism and worker oviposition. **Insectes Sociaux**. v. 31, p. 171-184, 1984.

SOMMEIJER, M. J. et al. Natural patterns of caste and sex allocation in the stingless bees *Melipona favosa* and *M. trinitarsis* related to worker behavior. **Insectes Sociaux**, v. 50, p. 38-44, 2003.

TERADA, Y.; GARÓFALO, C. A.; SAKAGAMI, S. F. Age-survival curves for workers of two eusocial bees (*Apis mellifera* and *Plebeia droryana*) in a subtropical climate, with notes on worker polyethism in *P. droryana*. **Journal of Apicultural Research**, v.14, n.3/4, p.161-170, 1975.

TOFILSKI, A. Influence of age polyethism on longevity of workers in social insects. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v.51, p.234-237, 2002.

TOFILSKI, A. Influence of caste polyethism on longevity of workers in social insect colonies. **Journal of Theoretical Biology**, v.238, p.527-531, 2006.

van VEEN, J. W.; SOMMEIJER, M. J.; ARCE, H. The role of colony development and resource availability in the regulation of queen production in *Melipona beecheii* (Apidae, Meliponini). In: van VEEN, J. W. (Ed.). **Colony Reproduction in Stingless bees**. p. 79-87. 1999.

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

VENTURIERI, G. C. **Criação de abelhas indígenas sem ferrão**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental. 2004. 36 p.

VENTURIERI, G. C. **Criação de abelhas indígenas sem ferrão**. 2 ed. Belém: Embrapa Amazônia Oriental. 2008a. 60p.

VENTURIERI, G. C. Caixa para criação de Uruçu-amarela *Melipona flavolineata* Friese, 1900. **Comunicado Técnico** 212. 2008b.

VENTURIERI, G. C. et al. **Caracterização, colheita, conservação e embalagem de méis de Abelhas Indígenas Sem Ferrão**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental. 2007. 51p.

VENTURIERI, G. C.; RAIOL, V. F. O.; PEREIRA, C. H. B. Avaliação da introdução da criação racional de *Melipona fasciculata* (Apidae: Meliponina), entre os agricultores familiares de Bragança- PA, Brasil. **Biota Neotropica**, v.3, n.2, p.1-7, 2003.

VENTURIERI, G. C.; RODRIGUES, S. T.; PEREIRA, C. A. B. As abelhas e a flor do açazeiro. **Mensagem Doce**, n. 80, p. 32-33, 2005.

VIEIRA, C. U. et al. Expressão do gene hormônio juvenil metiltransferase em abelhas *Melipona scutellaris* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). **Arquivos do Instituto Biológico**, v.71, n.supl., p.378-380, 2004.

VILLANUEVA-G, R.; ROUBIK, D. W.; COLLI-UCAN, W. Extinction of *Melipona beecheii* and traditional beekeeping in the Yucatan peninsula. **Bee World**, v.86, n.2, p.35-41, 2005.

WINSTON, M. L. **A biologia da abelha**. Tradução: OSOWSKI, Carlos A. Porto Alegre: Magister, 2003. 276p.

ZAR, J. H. **Biostatistical Analysis**. New Jersey: Prentice Hall.1999. 123p.

ZUCOLOTO, F. S. Valor nutritivo de pólenes usados por diferentes espécies de abelhas para *Nannotrigona (Scaptotrigona) postica* (Hymenoptera, Apoidea). **Revista Brasileira de Biologia**, v. 35, n. 1, p. 77-82. 1975.

ANEXO A- Xarope de açúcar invertido - 60%

Ingredientes:

12 Kg de açúcar

8 L de água

12 g de ácido cítrico

1 colher (café) de sal mineral

Como fazer

Misturar tudo e aquecer, mexendo até atingir 80° C. A partir desta temperatura, manter a mistura em fogo baixo por 25 minutos (em temperatura inferior a 80° C). Decorrido esse tempo, desligar o fogo e esperar o xarope esfriar naturalmente até 28-30 ° C, quando assim poderá ser utilizado.