

Kamila Leão Leão

Desenvolvimento colonial em abelhas nativas sem ferrão Amazônicas (Apidae: Meliponini):

Tamanho populacional, Nutrição e Alocação fenotípica

Colonial development in native Amazonian stingless bees (Apidae: Meliponini):

Population size, Nutrition and Phenotypic Allocation



**Belém
2019**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA

KAMILA LEÃO LEÃO

**Desenvolvimento colonial em abelhas nativas sem ferrão Amazônicas (Apidae:
Meliponini): Tamanho populacional, Nutrição e Alocação fenotípica**

Belém-Pará
2019

KAMILA LEÃO LEÃO

**Desenvolvimento colonial em abelhas nativas sem ferrão Amazônicas (Apidae:
Meliponini): Tamanho populacional, Nutrição e Alocação fenotípica**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia do convênio da Universidade Federal do Pará e Embrapa Amazônia Oriental, como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Ecologia. Área de concentração: Ecologia. Linha de Pesquisa: Ecologia de Organismos e Populações

Orientador: Dr. Felipe Andrés León Contrera

Co-Orientador: Dr. Cristiano Menezes

Belém-Pará
2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

L433d Leão, Kamila Leão
Desenvolvimento colonial em abelhas nativas sem ferrão
Amazônicas (Apidae: Meliponini) : Tamanho populacional,
Nutrição e Alocação fenotípica / Kamila Leão Leão. — 2019.
107 f. : il. color.

Orientador(a): Prof. Dr. Felipe Andrés León Contrera
Coorientador(a): Prof. Dr. Cristiano Menezes
Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Ecologia,
Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará,
Belém, 2019.

1. Estratégias ecológicas. 2. Padrões comportamentais. 3.
Longevidade. 4. Dieta semiartificial. 5. Meliponicultura. I.
Título.

CDD 574.5248

KAMILA LEÃO LEÃO

**Desenvolvimento colonial em abelhas nativas sem ferrão Amazônicas (Apidae:
Meliponini): Tamanho populacional, Nutrição e Alocação fenotípica**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia do convênio da Universidade Federal do Pará e Embrapa Amazônia Oriental, como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Ecologia pela comissão julgadora composta pelos membros:

COMISSÃO JULGADORA

Prof. Dr. Felipe Andrés León Contrera
Universidade Federal do Pará (Presidente)

Prof^a. Dra. Maria Cristina Espósito
Universidade Federal do Pará

Dra. Márcia Motta Maués
Embrapa Amazônia Oriental

Prof^a. Dra. Patrícia Maia Correia de Albuquerque
Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dr. Carlos Alfredo Lopes de Carvalho
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Aprovada em: 30 de Outubro de 2019.

Local de defesa: MAT 1 do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará.

Esta tese é dedicada à minha família (em especial aos meus filhos Ana Laura e Ricardo) e ao meu amigo Apicultor e Meliponicultor Luís Carlos “Gordo” (*In memoriam*).

AGRADECIMENTOS

À Deus por nunca me abandonar;

À Embrapa Amazônia Oriental pelo apoio institucional e disponibilidade de espaço para realização deste trabalho;

Ao Dr. Felipe Andrés León Contrera (UFPA), pela orientação e pela confiança depositada em mim;

Ao Dr. Cristiano Menezes pelas conversas, conselhos e agradável convivência;

Ao Dr. Giorgio Cristino Venturieri, pela amizade e ensinamentos ao longo desses anos;

Ao meu pai Jason Leão que com seu suor, me proporcionou estudar e chegar até aqui;

À minha mãe Maria do Socorro Luz por todo o carinho e atenção em todas as etapas de minha vida;

Ao Richard d'e Nixon Raiol Leão pelo incentivo, companheirismo constante em todos os momentos e pelo apoio durante a realização deste trabalho;

À minha irmã Karina Leão pelo carinho e ajuda nos momentos difíceis e a Maria de Fátima Dias (Fafá) pelo incondicional apoio durante todos estes anos (em especial por cuidar tão bem da Ana Laura na minha ausência);

À minha vó Hilda pelo apoio durante a escrita final desta tese;

Aos funcionários do Laboratório de botânica: José Alves da Rocha (*in memoriam*), Lorival Juracy Lucas, Ana Carolina Martins de Queiroz e Anderson Shcwamke pelo apoio constante e imprescindível na realização deste trabalho... Muito obrigada!

Ao Amigo Peter Hans Muller por todo o incentivo e por ter me conduzido para esse mundo... “O mundo das Abelhas”;

Aos amigos abelhud@s, pelo apoio e colaboração durante a condução das atividades: Andrio Andrade, Elisângela Rêgo, Hayron K. Cordeiro, Alex Sousa, Thaliana Sousa, Alessandra Leite, Barbara Lopes, Janaína de Cássia Ferreira, Yasmin G. de Sousa e André Gomes. Dentre os vários colaboradores, quero agradecer em especial as amigas Jamille Veiga pela amizade, críticas e pela ajuda com as análises; a Janete Gomes pela amizade, parceria e auxílio em campo e ao Alistair Campbell pela ajuda com as análises e conversas.

À CAPES/EMBRAPA (15/2014) pelo fornecimento da bolsa de estudo;

Ao CNPQ (400435/2014-4) Projeto PVE pelo apoio financeiro;

Sou muito grata a todas e todos que contribuíram para a elaboração desta tese!!!

Ninguém ignora tudo.

Ninguém sabe tudo.

Todos nós sabemos algumas coisas.

Todos nós ignoramos algumas coisas.

Por isso aprendemos sempre.

Paulo Freire

Desenvolvimento colonial em abelhas nativas sem ferrão Amazônicas (Apidae: Meliponini): Tamanho populacional, Nutrição e Alocação fenotípica

RESUMO

Os meliponíneos ou abelhas sem ferrão compreendem um diverso e abundante grupo de abelhas eusociais, que vivem em colônias perenes e apresentam uma ampla variação quanto às características comportamentais. O objetivo geral desta tese é entender alguns padrões populacionais e de desenvolvimento das espécies de abelhas sem ferrão amazônicas. Na Seção I, avaliamos o tamanho da população em abelhas sem ferrão com o objetivo de determinar o tamanho da colônia de cinco espécies de abelhas sem ferrão amazônicas e entender como outras características da colônia se relacionam com o tamanho da população. Encontramos uma população adulta de 1.046,00 em *Melipona flavolineata* Friese, 1900, 592,75 em *Melipona fasciculata*, Smith, 1854, 7.404,00 em *Scaptotrigona* aff. *postica* (Latreille, 1807), 2.425,33 em *Frieseomelitta longipes* (Smith, 1854) e 404,75 em *Plebeia minima* (Gribodo, 1893). A atividade externa foi a variável que melhor explicou o tamanho da população. Na Seção II investigamos a longevidade de operárias de abelhas sem ferrão alimentadas com dieta à base de soja. Nosso objetivo foi comparar o efeito de uma dieta semiartificial à base de soja versus uma dieta natural sobre a longevidade de operárias adultas de duas espécies de abelhas sem ferrão (*Melipona flavolineata* Friese, 1900 e *Scaptotrigona* aff. *postica* (Latreille, 1807)). Encontramos uma maior longevidade nas operárias que consumiram apenas pólen em comparação com aquelas que consumiram a dieta à base de soja para as duas espécies estudadas. Por fim, Na Seção III avaliamos a alocação fenotípica nas abelhas sem ferrão. Nesse trabalho investigamos a alocação fenotípica como resposta a variações climáticas e ambientais, usando como modelo de estudo a abelha sem ferrão *Melipona fasciculata* Smith, 1854. Nossos resultados revelam que a alocação fenotípica em *M. fasciculata* está fortemente associada à variação climática (estação) e não a qualidade do ambiente (local). A produção de rainhas virgens foi influenciada pela estação e o ano (sendo maior na estação seca), mas não pelo local. A produção de machos foi explicada pelas variáveis estação e local e a estação e o ano de coleta exerceram influência sobre a porcentagem de operárias produzidas, apresentando diferença entre anos. Acreditamos que esta tese contribui para o maior entendimento da história natural das abelhas sem ferrão e para o fortalecimento da meliponicultura na região amazônica.

Palavras-chaves: Estratégias ecológicas, Padrões comportamentais, Longevidade, Dieta semiartificial, Meliponicultura

Colonial development in native Amazonian Stingless bees (Apidae: Meliponini): Population size, Nutrition and Phenotypic Allocation

ABSTRACT

Meliponines or stingless bees comprise a diverse and abundant group of eusocial bees, which live in perennial colonies and have a wide range of behavioral characteristics. The general objective of this thesis is to understand population dynamics and developmental patterns of Amazonian stingless bee species. In Section I, we evaluated the population size and several biological characteristics of colonies (e.g. worker external activity, queen egg-laying rate) of five stingless bee species in order to understand how colony characteristics relate to population size. We found an average adult population of 1,046.00 in *Melipona flavolineata*, Friese, 1900, 592.75 in *Melipona fasciculata*, Smith, 1854, 7,404.00 in *Scaptotrigona* aff. *postica* (Latreille, 1807), 2,425.33 in *Frieseomelitta longipes* (Smith, 1854) and 404.75 in *Plebeia minima* (Gribodo, 1893). External activity was the variable that best explained population size. In Section II we investigate the longevity of stingless bee workers fed soy-based diets. Our objective was to compare the effect of a semi-artificial soybean diet versus a natural diet on the longevity of adult workers of two stingless bee species (*Melipona flavolineata* Friese, 1900 e *Scaptotrigona* aff. *postica* (Latreille, 1807)). We found a higher longevity in workers that consumed only pollen compared to those that consumed the soybean diet for both species studied. Finally, In Section III we evaluated the phenotypic allocation in stingless bees. In this work we investigate phenotypic allocation as a response to climatic and environmental variation, using the stingless bee *Melipona fasciculata* Smith, 1854 as a model species. Our results reveal that phenotypic allocation in *M. fasciculata* was strongly associated with seasonal variation and not the quality of the environment (local). The production of virgin queens was influenced by season and year (being higher in the dry season), but not by location. Male production was explained by season and local environmental variables and season and study year influenced the percentage of workers produced, showing differences between years. We believe that this thesis contributes to our understanding of the natural history of Amazonian stingless bees and the development of regional meliponicultural practices.

Keywords: Ecological strategies, Behavioral patterns, Longevity, Semi-artificial diet, Meliponiculture

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	11
Objetivos e Organização da tese.....	12
Referências Bibliográficas.....	14
SEÇÃO I: O Tamanho da População em Abelhas Sem Ferrão	18
Resumo.....	20
Abstract.....	21
Introdução.....	22
Material e Métodos.....	24
Resultados.....	27
Discussão.....	36
Referências Bibliográficas.....	39
SEÇÃO II: Longevidade de Operárias de Abelhas Sem Ferrão Alimentadas com Pólen e Soja	52
Resumo.....	54
Abstract.....	55
Introdução.....	56
Material e Métodos.....	58
Resultados.....	60
Discussão.....	63
Referências Bibliográficas.....	67
SEÇÃO III: Alocação Fenotípica em Abelhas Sem Ferrão	73
Resumo.....	75
Abstract.....	76
Introdução.....	77
Material e Métodos.....	80
Resultados.....	84
Discussão.....	91
Referências Bibliográficas.....	94
CONCLUSÃO GERAL	101

INTRODUÇÃO GERAL

As abelhas sem ferrão ou meliponíneos (Hymenoptera: Apidae: Meliponini) são insetos eusociais que vivem em colônias perenes, com elevada diversidade e ampla distribuição geográfica (Michener, 2013). Ocorrem em regiões tropicais e subtropicais do planeta, com exceção das Ilhas do Pacífico (Camargo & Pedro, 2007), tendo no Brasil 244 espécies descritas (Pedro, 2014).

Estas abelhas vivem em colônias perenes, nas quais há divisão de trabalho reprodutivo, cuidado com a prole e sobreposição de gerações no mesmo ninho, caracterizando-as como eusociais avançadas (Wilson, 1971; Michener, 1974). Além disso, seus ninhos são compostos por, em geral uma rainha, dezenas a centenas de machos (que apresentam papel meramente reprodutivo) e centenas a milhares de operárias (que realizam todas as tarefas de manutenção da colônia e cuidam da cria) (Roubik, 2006). A arquitetura do ninho dessas abelhas, resumidamente, consiste em uma entrada, túnel de acesso, potes de alimento (néctar e pólen) e área de cria, com favos horizontais ou em cachos (Wille & Michener, 1973; Nogueira-Neto, 1997). As abelhas sem ferrão estocam pólen e mel em potes separados dentro dos seus ninhos para sobreviver nas épocas com escassez de recursos florais (Michener, 2013).

Apesar de todos os meliponíneos não possuírem ferrão funcional, essa tribo de abelhas apresenta uma gama de variações nas suas características biológicas, nos hábitos de nidificação e na arquitetura de seus ninhos (Michener, 1974; Nogueira-Neto, 1997; Roubik, 2006). Isso se deve às pressões ambientais às quais estão expostos esses insetos que, dependendo da sua região de ocorrência, irão adotar diferentes estratégias ecológicas (Roubik, 2006; Michener, 2013; Maia-Silva et al., 2015).

O conhecimento do tamanho da população e dos padrões comportamentais das abelhas sem ferrão, bem como das estratégias adotadas por elas diante das variações climáticas apresenta uma grande importância ecológica e econômica, pois as abelhas nativas sem ferrão são um grupo importante de polinizadores, que ajudam a manter a biodiversidade de plantas nos ecossistemas

naturais, aumentando a produtividade e a qualidade de culturas agrícolas, tanto em ambientes abertos quanto em casas de vegetação (Heard, 1999; Gallai et al., 2009; Giannini et al., 2015).

Estas abelhas têm sido registradas como visitantes florais de 107 cultivos vinculados à produção de alimentos no mundo e como polinizadoras de 52 culturas (BPBES/REBIPP, 2019), como é o caso do açaí (*Euterpe oleracea*; Campbell et al., 2018), da berinjela (*Solanum melongena*; Nunes-Silva et al., 2013), da canola (*Brassica napus*; Witter et al., 2015), da maçã (*Malus domestica*; Viana et al., 2014), do morango (*Fragaria x ananassa*; Malagodi-Braga & Peixoto Kleinert, 2004; Antunes et al., 2007), do tomate (*Solanum lycopersicum*) (del Sarto et al., 2005; Bartelli & Nogueira-Ferreira, 2014), dentre outras.

Além disso, a meliponicultura (nome dado à criação das abelhas sem ferrão) apresenta potencial para a geração de renda de forma sustentável, por meio da produção de mel (principal produto explorado de maneira comercial), pólen e própolis (Cortopassi-laurino et al., 2006; Jaffé et al., 2015; Koffler et al., 2015).

Atualmente, muitas espécies de abelhas sem ferrão são manejadas nas Américas, África, Ásia e Austrália, contudo, devido a diferenças biológicas entre as espécies (Wille, 1983; Nogueira-Neto, 1997; Cortopassi-laurino et al., 2006) ainda há necessidade de ampliar o conhecimento básico sobre as estratégias ecológicas (alocação fenotípica) e padrões comportamentais (tamanho da população e longevidade dos indivíduos) de algumas espécies importantes para a meliponicultura da Amazônia (Roubik, 2006, Jaffé et al., 2015).

Objetivos e Organização da tese

Assim, a presente tese tem como objetivo geral entender alguns padrões populacionais e de desenvolvimento das espécies de abelhas sem ferrão amazônicas, contribuindo para o conhecimento da história natural desse grupo para o desenvolvimento e fortalecimento da meliponicultura na região.

Esta tese está organizada em três seções em formato de manuscrito para publicação e uma conclusão geral.

Seção I – O tamanho da população em abelhas sem ferrão

[Artigo: Relação entre tamanho populacional e características coloniais de abelhas sem ferrão Amazônicas (Apidae: Meliponini)]

Com este estudo nosso objetivo foi determinar o tamanho da colônia de cinco espécies de abelhas sem ferrão amazônicas e entender como outras características da colônia se relacionam com o tamanho da população. Nossos resultados mostram que entre os parâmetros biológicos avaliados a atividade externa é o que melhor explica o tamanho da população, podendo ser utilizado para estimar a população das colônias de abelhas sem ferrão.

Seção II – Longevidade de operárias de abelhas sem ferrão alimentadas com dieta à base de soja.

[Artigo: Stingless Bees Fed on Fermented Soybean-extract-based Diet Had Reduced Lifespan than Pollen-Fed Workers]

Neste estudo experimental, comparamos o efeito de uma dieta semi-artificial à base de soja *versus* uma dieta natural sobre a longevidade de operárias adultas de duas espécies de abelhas sem ferrão: *Melipona flavolineata* Friese e *Scaptotrigona aff. postica* (Latreille). Encontramos uma maior longevidade nas operárias que consumiram apenas pólen natural em comparação com aquelas que consumiram a dieta à base de soja nas duas espécies estudadas.

Seção III – Alocação fenotípica em abelhas sem ferrão

[Artigo: Alocação fenotípica na abelha sem ferrão Uruçu Cinzenta (Apidae: Meliponini) em resposta à variação climática e ambiental]

Neste estudo investigamos a alocação fenotípica como resposta a variações climáticas e ambientais, usando como modelo a abelha sem ferrão *Melipona fasciculata* Smith, 1854. Nossos

resultados mostram que a alocação fenotípica em *M. fasciculata* está fortemente associada à variação climática (estação) e não a qualidade do ambiente (local).

REFERÊNCIAS

- Antunes, O.T., Calvete, E.O., Rocha, H.C., Nienow, A.A., Cecchetti, D., Riva, E., Maran, R. E. (2007). Produção de cultivares de morangueiro polinizadas pela abelha jataí em ambiente protegido. *Horticultura Brasileira*, 25:94–99. doi: 10.1590/S0102-05362007000100018
- Bartelli, B.F., Nogueira-Ferreira, F.H. (2014). Pollination services provided by *Melipona quadrifasciata* Lepeletier (Hymenoptera: Meliponini) in greenhouses with *Solanum lycopersicum* L. (Solanaceae). *Sociobiology*, 61:510–516. doi: 10.13102/sociobiology.v61i4.510-516
- BPBES/REBIPP (2019): Relatório temático sobre Polinização, Polinizadores e Produção de Alimentos no Brasil. Marina Wolowski; Kayna Agostini; André Rodrigo Rech; Isabela Galarda Varassin; Márcia Maués; Leandro Freitas; Liedson Tavares Carneiro; Raquel de Oliveira Bueno; Hélder Consolaro; Luisa Carvalheiro; Antônio Mauro Saraiva; Cláudia Inês da Silva. Maíra C. G. Padgurschi (Org.). 1ª edição, São Carlos, SP: Editora Cubo. 184 páginas. doi: 10.4322/978-85-60064-83-0
- Camargo, J.M.F., Pedro, S.R.M. (2007). Meliponini Lepeletier, 1836. In: Moure, J. S., Urban, D. Melo, G.A.R. (Eds.), *Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region*. Curitiba, Sociedade Brasileira de Entomologia, 272-578p
- Campbell, A.J., Carvalheiro, L.G., Maués, M.M., Jaffé, R., Giannini, T.C., Freitas, M.A.B., Coelho, B.W.T., Menezes, C. (2018). Anthropogenic disturbance of tropical forests threatens pollination services to açai palm in the Amazon river delta. *Journal of Applied Ecology*, 1–12. doi: 10.1111/1365-2664.13086

Cortopassi-Laurino, M., Imperatriz-Fonseca, V.L., Roubik, D.W., Dollin, A., Heard, T., Aguilar, I., Venturieri, G.C., Eardley, C., Nogueira-Neto, P. (2006). Global meliponiculture: Challenges and opportunities. *Apidologie*, 37: 275-292. doi: 10.1051/apido:2006027

del Sarto, M.C.L., Peruquetti, R.C., Campos, L.A.O. (2005). Evaluation of the neotropical stingless bee *Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera: Apidae) as pollinator of greenhouse tomatoes. *Journal of Economic Entomology*, 98:260–266. doi: 10.1603/0022-0493-98.2.260

Gallai, N., Salles, J.M., Settele, J., Vaissière, B.E. (2009). Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecological Economics*, doi: 10.1016/j.ecolecon.2008.06.014

Giannini, T.C., Garibaldi, L.A., Acosta, A., Silva, J.S., Maia, K.P., Saraiva, A.M., Guimarães, P.R., Kleinert, A.M.P. (2015). Native and Non-Native Supergeneralist Bee Species Have Different Effects on Plant-Bee Networks. *PLoS One*, doi: 10.1371/journal.pone.0137198

Heard, T.A. (1999). The Role of Stingless Bees in Crop Pollination. *Annual Review of Entomology*, 44: 183-206. doi:10.1146/annurev.ento.44.1.183

Jaffé, R., Pope, N., Carvalho, A.T., Maia, U.M., Blochtein, B., de Carvalho, C.A.L. Carvalho-zilse, G.A., Freitas, B.M., Menezes, C., Ribeiro, M.F., Venturieri, G.C., Imperatriz-Fonseca, V.L. (2015). Bees for development: Brazilian survey reveals how to optimize stingless beekeeping. *Plos One*, doi: 10.1371/ journal.pone.0121157

Koffler, S., Menezes, C., Menezes, P.R., Kleinert, A.M., Imperatriz-Fonseca, V.L., Pope, N., Jaffé, R. (2015). Temporal variation in honey production by the stingless bee *Melipona subnitida* (Hymenoptera: Apidae): long-term management reveals its potential as a commercial species in Northeastern Brazil. *Journal of Economic Entomology*, 108:858–867. doi: 10.1093/jee/tov055

- Maia-Silva, C., Hrncir, M., Silva, C.I. da, Imperatriz-Fonseca, V.L. (2015). Survival strategies of stingless bees (*Melipona subnitida*) in an unpredictable environment, the Brazilian tropical dry forest. *Apidologie*, doi: 10.1007/s13592-015-0354-1
- Malagodi-Braga, K.S., Kleinert, A. de M.P. (2004). Could *Tetragonisca angustula* Latreille (Apinae, Meliponini) be effective as strawberry pollinator in greenhouses?. *Australian Journal of Agricultural Research*, 55:771–773. doi: 10.1071/AR03240
- Michener C. D. (2013). The Meliponini. In: Vit, P., Pedro, S. R. M., Roubik, D. (eds.), *Pot-honey: A legacy of stingless bees*. Springer, New York, pp.3–17
- Michener, C. D. (1974). *The social behavior of the bees: a comparative study*. Cambridge: Belknap Press of Harvard University Press, 404 pp.
- Nogueira-Neto, P. (1997). *Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão*. São Paulo: Ed. Nogueirapis, 446 pp.
- Nunes-Silva, P., Hrncir, M., Da Silva, C.I., Roldão, Y.S., Imperatriz-Fonseca, V.L.(2013). Stingless bees, *Melipona fasciculata*, as efficient pollinators of eggplant (*Solanum melongena*) in greenhouses. *Apidologie*, 44:537–546. doi: 10.1007/s13592-013-0204-y
- Pedro, S.R.M. (2014). The Stingless Bee Fauna In Brazil (Hymenoptera: Apidae). *Sociobiology*, doi: 10.13102/sociobiology.v61i4.348-354
- Roubik, D.W. (2006). Stingless bee nesting biology. *Apidologie*, doi: 10.1051/apido:2006026 v
- Viana, B.F., Gabriel, J., Garibaldi, L.A., Gastagnino, G.L.B., Gramacho, K.P., da Silva, F.O. (2014). Stingless bees further improve apple pollination and production. *Journal of Pollination Ecology*, 14:261–269. doi: 10.26786/1920-7603%282014%2926
- Wille, A., Michener, C. D. (1973). The nest architecture of Stingless bees with special reference to those of Costa Rica (Hymenoptera, Apidae). *Revista de Biologia Tropical*. 21 (1) 9-271.

Wille, A. (1983). Biology of The Stingless Bees. *Annual Reviews Entomology*. 28, 41-64. doi: 10.1146/annurev.en.28.010183.000353

Wilson, E.O. (1971). *The Insect Societies*. Harvard University Press, Cambridge.

Witter, S., Nunes-Silva, P., Lisboa, B.B., Tirelli, F.P., Sattler, A., Both Hilgert-Moreira, S., Blochtein, B. (2015) Stingless bees as alternative pollinators of canola. *Journal of Economic Entomology*, 108:880–886. doi: 10.1093/jee/tov096

Seção I

O tamanho da população em abelhas sem ferrão



Relação entre tamanho populacional e características coloniais de abelhas sem ferrão Amazônicas (Apidae: Meliponini)

Kamila Leão Leão, Alistair John Campbell, Cristiano Menezes, Jamille Costa Veiga, Felipe A. L. Contrera

Relação entre tamanho populacional e características coloniais de abelhas sem ferrão Amazônicas (Apidae: Meliponini)

RESUMO

As abelhas sem ferrão são insetos eusociais que vivem em colônias de tamanho variável. O tamanho da colônia é uma característica importante na ecologia dos insetos sociais, pois além de está intimamente relacionado com a história de vida, influencia diversos outros traços. O objetivo deste estudo foi (i) determinar o tamanho da colônia de cinco espécies de abelhas sem ferrão amazônicas e (ii) entender como outras características da colônia se relacionam com o tamanho da população. As espécies estudadas foram: *Melipona flavolineata* Friese, 1900, *Melipona fasciculata* Smith, 1854, *Scaptotrigona aff. postica* Latreille 1807, *Frieseomelitta longipes* (Smith, 1854) e *Plebeia minima* (Gribodo, 1893), totalizando 50 colônias amostradas. O número de abelhas adultas foi utilizado neste trabalho como indicador do tamanho da colônia. E os parâmetros biológicos utilizados foram: (i) número de células de cria (abelhas imaturos), (ii) taxa de postura, (iii) atividade externa e (iv) estoque de alimento. Para avaliar o efeito dos traços biológicos na população adulta, usamos modelos lineares de efeitos mistos generalizados com distribuição de Poisson. Encontramos uma média de população adulta de 1.046,00 em *M. flavolineata*, 592,75 em *M. fasciculata*, 7.404,00 em *S. aff. postica*, 2.425,33 em *F. longipes* e 404,75 em *P. minima*. A atividade externa foi a variável que melhor explicou o tamanho da população. Determinar o tamanho das colônias e entender a relação das características biológicas com o tamanho da população das abelhas nativas sem ferrão é um passo importante que contribui para o entendimento da história de vida desses insetos e pode ajudar na criação e manejo adequado dessas abelhas.

Palavras-chave: Tamanho de colônias, Abelhas adultas, Atividade externa

Relationship between population size and colonial characteristics of Amazonian stingless bees (Apidae: Meliponini)

ABSTRACT

Stingless bees are eusocial insects that live in colonies of varying size. Colony size is an important feature of social insect ecology, as it is closely related to life history and influences a number of other traits. The objective of this study was (i) to determine the colony size of five Amazonian stingless bee species and (ii) to understand how other characteristics of the colony relate to population size. The studied species were: *Melipona flavolineata* Friese, 1900, *Melipona fasciculata* Smith, 1854, *Scaptotrigona* aff. *postica* Latreille 1807, *Frieseomelitta longipes* (Smith, 1854) and *Plebeian minima* (Gribodo, 1893), totaling 50 sampled colonies. The number of adult bees was used in this study as an indicator of colony size. And the biological parameters used were: (i) number of brood cells (immature bees), (ii) egg-laying rate, (iii) external activity and (iv) food stocks. To assess the effect of biological traits on the adult population, we used a generalized mixed effects linear models with Poisson distribution. We found an average adult population of 1046.00 in *M. flavolineata*, 592.75 in *M. fasciculata*, 7,404.00 in *S. aff. postica*, 2,425.33 in *F. longipes* and 404.75 in *P. minima*. External activity was the variable that best explained population size. Determining the size of colonies and understanding the relationship of biological characteristics to the population size of stingless native bees is an important step that contributes to understanding the life history of these insects and can help in the breeding and management of these bees.

Keywords: Colony size, Adult bees, External activity

INTRODUÇÃO

O tamanho da colônia é uma característica importante em ecologia social dos insetos (Bourke, 1999). Os himenópteros sociais (as formigas, algumas abelhas e algumas vespas) vivem em colônias de tamanho variável que são consideradas como "superorganismos" (Holldobler & Wilson, 2009). Isso significa que cada indivíduo (unidade, células) coopera para a sobrevivência e sucesso reprodutivo de uma unidade maior (a colônia, organismo). Assim, podemos esperar que o tamanho da colônia nesses animais, esteja ligado a sua história de vida e influencie diversos outros traços biológicos, incluindo muitos aspectos da organização coletiva (Gillooly et al., 2010; Dornhaus et al., 2012).

As abelhas sem ferrão ou meliponíneos são insetos eusociais (Wilson, 1971), que vivem em ninhos perenes, possuindo grande diversidade e ampla distribuição geográfica (Michener, 2013). Essas abelhas apresentam colônias compostas por, em geral, uma rainha, centenas a milhares de operárias e dezenas a centenas de machos (Roubik, 2006).

Cerca de 244 espécies dessas abelhas são conhecidas no Brasil até agora (Pedro, 2014), com estimativas de tamanhos de colônias variando de 100 a 100.000 indivíduos (Wille & Michener, 1973; Wille, 1983).

Nas abelhas sem ferrão (Tribo Meliponini) múltiplos parâmetros estão relacionados com o tamanho das colônias, incluindo: número de abelhas adultas, quantidade de cria, estoque de alimento, atividade externa da colônia, tempo de vida dos indivíduos, taxa de postura, dentre outros. Assim, é possível estimar o tamanho das colônias avaliando alguns parâmetros biológicos que apresentam relação com o número de indivíduos (DeGrandi-Hoffman et al., 1989; Malham et al., 2013; Duarte et al., 2016; Roldão-Sbordoni et al., 2018).

Os estudos antigos relacionados com a estimativa de tamanho da população para abelhas sem ferrão não deixam claro o método utilizado para obtenção dos dados (por exemplo, Lindauer & Kerr

1960; Wille & Michener, 1973; Michener, 1974; Wille, 1983; Kerr et al., 2001), por tanto apesar da importância desses estudos eles são de difícil comparação.

Além disso, os trabalhos que tentam estimar o tamanho da população dessas abelhas através de fórmulas (eg. Ihering, 1930; Aidar, 1996) nunca contaram de fato o número de abelhas presentes em uma colônia e, na maioria das vezes, foram desenvolvidos considerando parâmetros para uma única espécie.

Em uma compilação de dados da literatura, Tóth et al. (2004) apresentaram a estimativa da população de 31 espécies, onde o tamanho das colônias variou em média de 400 a 10.000 indivíduos. Ainda assim, poucas espécies têm algum dado relacionado ao tamanho da população sendo necessário novos estudos que forneçam informações sobre o tamanho das colônias de abelhas sem ferrão, em especial, para as espécies amazônicas onde poucos estudos foram realizados.

Além da importância ecológica, conhecer o tamanho da população é importante para o manejo adequado dessas abelhas, principalmente para seu uso na polinização de culturas agrícolas (Slaa et al., 2006; Venturieri et al., 2012). A criação de abelhas sem ferrão (conhecida como meliponicultura) é uma atividade que tem avançado significativamente no Brasil nos últimos anos (Jaffé et al., 2015) e apesar disso, não se conhece o número de abelhas presente nas colônias da maioria das espécies criadas. Por tanto, o objetivo deste estudo é (i) determinar o tamanho da colônia de cinco espécies de abelhas sem ferrão amazônicas e (ii) entender como outras características da colônia se relacionam com o tamanho da população.

MATERIAL E MÉTODOS

Local de estudo e espécies

O presente estudo foi realizado na área externa do laboratório de Botânica da Embrapa Amazônia Oriental (1°26'11.52"S, 48°26'35.50"W) em Belém, Pará, Brasil, durante o período de Setembro/2016 a Maio/2017. Estudamos cinco espécies de abelhas sem ferrão (Meliponini). Escolhemos as espécies *Melipona flavolineata* Friese, 1900, *Melipona fasciculata* Smith, 1854, *Scaptotrigona* aff. *postica* Latreille, 1807, *Frieseomelitta longipes* (Smith, 1854) e *Plebeia minima* (Gribodo, 1893) como modelos de estudo, por serem espécies adaptadas às condições de manejo em colmeias racionais, que apresentam resistência a manipulação e possibilidade de serem multiplicadas em larga escala para uso na polinização agrícola (Contrera et al., 2011; Jaffé et al., 2015; Leão et al., 2016). Para o experimento foram utilizadas oito colônias de *M. flavolineata*, oito colônias de *M. fasciculata*, treze colônias de *S. aff. postica*, nove colônias de *F. longipes* e doze colônias de *P. minima* que foram previamente selecionadas e ficaram durante três meses sem perturbação (sem manejo e sem alimentação complementar). As colônias estavam em caixas de madeira colocadas sobre abrigos individuais, também de madeira, a 1,20 m de altura do solo, conforme descrito por Contrera & Venturieri (2008). Para reduzir a mistura de forrageiras das colônias, as entradas das colmeias foram orientadas em direções opostas. Para detalhes do ninho de cada espécie ver Material Suplementar (Figura 1).

Parâmetros biológicos avaliados

Neste estudo, foram utilizados quatro parâmetros biológicos como indicadores do tamanho da colônia: (i) número de células de cria (abelhas imaturas), (ii) taxa de postura, (iii) atividade externa e (iv) estoque de alimento. Escolhemos esses parâmetros potenciais por causa de sua relevância para a história de vida das abelhas.

Para a contagem do número de células de cria (abelhas imaturas), nas abelhas que fazem seu ninho em forma de disco, os favos de cria foram numerados, medidos e fotografados para posterior contagem do número de células (Material Suplementar, Figura 2). Nas abelhas que fazem seu ninho em forma de cacho (e.g. *F. longipes* e *P. minima*), as células de cria foram marcadas com tinta à base d'água e conferidas no momento da contagem dos indivíduos adultos com auxílio de um contador manual (Material Suplementar, Figura 3).

Para avaliar a postura, a borda do favo mais novo foi marcada com tinta a base d'água (sem cheiro) e após 24h foi realizada a contagem das células construídas. Esse procedimento foi repetido durante três dias consecutivos. Para cada colônia foi calculada a média de células construídas em três dias. Nas espécies que constroem o favo em forma de cacho, marcamos todas as células novas após 24h realizamos a contagem das células construídas.

Para avaliar a taxa de atividade externa foi contabilizado o número de operárias que entram no ninho durante um período de cinco minutos, na fase de pico de atividade diária, entre às 9:00 e 11:00 da manhã durante cinco dias consecutivos. Desse período, foi calculada a média para representar o fluxo de entrada de operárias.

Para avaliar o peso do alimento estocado no ninho, o conjunto de potes de alimento contendo mel e pólen foi pesado em uma balança (marca Toledo, modelo Prix 3). Com exceção da espécie *P. minima*, cujos potes foram pesados em uma balança de precisão (marca Master, com carga mínima de 0,02g).

Determinando o tamanho das colônias

O número de abelhas adultas foi utilizado neste trabalho como indicador do tamanho da colônia (Dornhaus et al., 2012). Para contabilizar o número de abelhas, as caixas que abrigavam as colônias foram fechadas no período da noite com tela de metal para facilitar a entrada de ar. No dia seguinte, as colônias foram levadas para o interior do laboratório para a contagem das abelhas.

Para a contagem de abelhas adultas estas foram aspiradas com auxílio de sugadores acoplados à boca e conferidas com o auxílio de um contador manual. Para as espécies muito populosas (eg. *S. aff. postica* e *F. longipes*), usamos dióxido de carbono para anestesiá-las algumas vezes. Operárias e machos não foram diferenciados no momento da contagem. A rainha fisogástrica e as rainhas virgens foram separadas das abelhas adultas e também contabilizadas.

Após o término da amostragem, as colônias foram remontadas (com seus favos de cria, abelhas e pouca reserva de alimento) e levadas para seus locais de origem, onde ficaram sob cuidados (alimentação suplementar e proteção contra parasitas e predadores) para se recuperarem da manipulação.

Análise dos dados

Para melhor visualizar a distribuição dos dados de tamanho de colônias nas diferentes espécies estudadas apresentamos um gráfico de densidade de Kernel (Figura 1). Para avaliar o efeito dos traços biológicos na população adulta, usamos modelos lineares de efeitos mistos generalizados com distribuição de Poisson (GLMMs de Poisson) utilizando o pacote R "lme4" (Bates et al., 2015). Antes de testar os modelos, os dados de cada espécie foram padronizados usando Z-scores para permitir comparações entre as diferentes espécies de abelhas sem ferrão. Ao contrário de outras padronizações, como logaritmos, o Z-scores não modifica a relação entre resposta e previsão de variáveis. Além disso, o Z-scores permite a comparação direta dos valores dos coeficientes de regressão parcial e, portanto, é útil para entender os efeitos relativos da previsão de variáveis.

Para os GLMMs de Poisson, incluímos um efeito aleatório de nível de observação para corrigir a superdispersão na variável resposta. Utilizamos apenas modelos simples (efeito fixo simples), e fizemos modelos COM (Material Suplementar, Tabela S1) e SEM (Tabela 2), usando o número de células de cria (imaturos) como um efeito fixo. Em todas as análises, esse fator foi o melhor preditor do tamanho da população de abelhas adultas, contudo é um dado difícil de se obter

e que obviamente apresenta uma grande relação com o número de abelhas adultas, visto que será a próxima geração. Por isso, optamos por remover essa variável, e testar os modelos com apenas três preditores: taxa de postura, atividade externa e estoque de alimento.

Os modelos foram selecionados usando a função *dredge* no pacote R “MuMIn” (valores AICc) (Barton, 2019).

Utilizamos uma regressão simples para testar separadamente (para cada espécie) a relação do tamanho das colônias com cada um dos preditores. Para isso usamos a função *lm* no pacote R “car” (Fox & Weisberg, 2011).

Todas as análises dos dados foram realizadas por meio de pacotes citados acima no programa R (R Core Team, 2018) e, quando aplicável, os resultados foram visualizados usando o pacote R “ggplot2” (Wickham, 2016).

RESULTADOS

Tamanho das colônias

Nossos resultados mostraram o tamanho de colônias para cinco espécies de abelhas sem ferrão amazônicas (Tabela 1). Encontramos colônias com tamanho pequeno (<1.000 abelhas adultas; *P. minima*, *M. fasciculata* e *M. flavolineata*), colônias com tamanho médio (entre 1.000 e 5.000 abelhas adultas; *F. longipes*) e colônias com tamanho grande (> 5.000 abelhas adultas; *S. aff. postica*) (Figura 1).

Ao longo da amostragem foi observada mortalidade de imaturos na espécie *S. aff. postica*, caracterizada pela presença de favos contendo falhas e larvas ressecadas na cor preta sobre os opérculos de células ainda fechadas (Material suplementar, Figura 4).

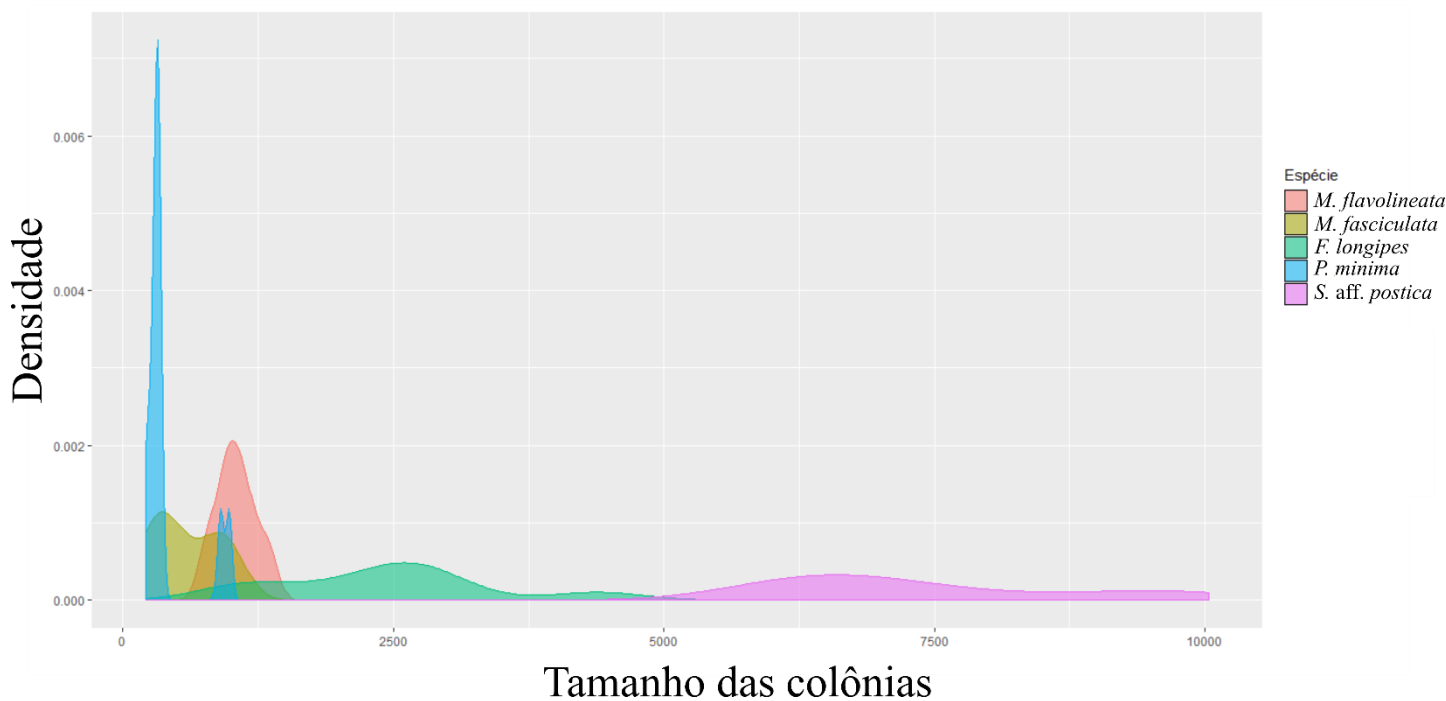


Figura 1. Distribuição do tamanho de colônias (abelhas adultas) das abelhas sem ferrão estudadas (*Melipona flavolineata*, *Melipona fasciculata*, *Scaptotrigona aff. postica*, *Frieseomelitta longipes*, *Plebeia minima*).

Tabela 1. Médias e Desvio Padrão do tamanho das colônias de cinco espécies de abelhas sem ferrão (*Melipona flavolineata*, *Melipona fasciculata*, *Scaptotrigona aff. postica*, *Frieseomelitta longipes*, *Plebeia minima*). n= Número de colônias contadas, População adulta= Número de abelhas adultas contadas em cada colônia, População imatura= Número de células de cria (abelhas na fase de ovo, larva ou pupa) contados em cada colônia, População total= População adulta + População imatura, Min e Máx = População total mínima e máxima encontrada para cada espécie estudada.

Espécie	n	População adulta	População imatura	População Total	Min. – Máx.
<i>M. flavolineata</i>	8	1.046,00 ± 185,17	1.065,13 ± 244,25	2.111,13 ± 404,71	1.164 – 2.583
<i>M. fasciculata</i>	8	592,75 ± 300,06	747,63 ± 438,76	1.340,38 ± 730,39	498 – 2.245
<i>S. aff. postica</i>	13	7.404,00 ± 1.390,96	8.025,46 ± 1.582,63	15.429,46 ± 2.781,99	11.708 – 20.610
<i>F. longipes</i>	9	2.425,33 ± 1.000,16	2.990,44 ± 1.230,91	5.415,77 ± 2.167,08	2.354 – 9.338
<i>P. minima</i>	12	404,75 ± 254,42	476,0 ± 233,49	880,75 ± 471,74	464 -1.966

Relação entre os parâmetros biológicos e o tamanho das colônias

Nas Figuras 2, 3, 4, 5 e 6 mostramos a relação dos dados brutos com todos os parâmetros testados para cada espécie, em separado.

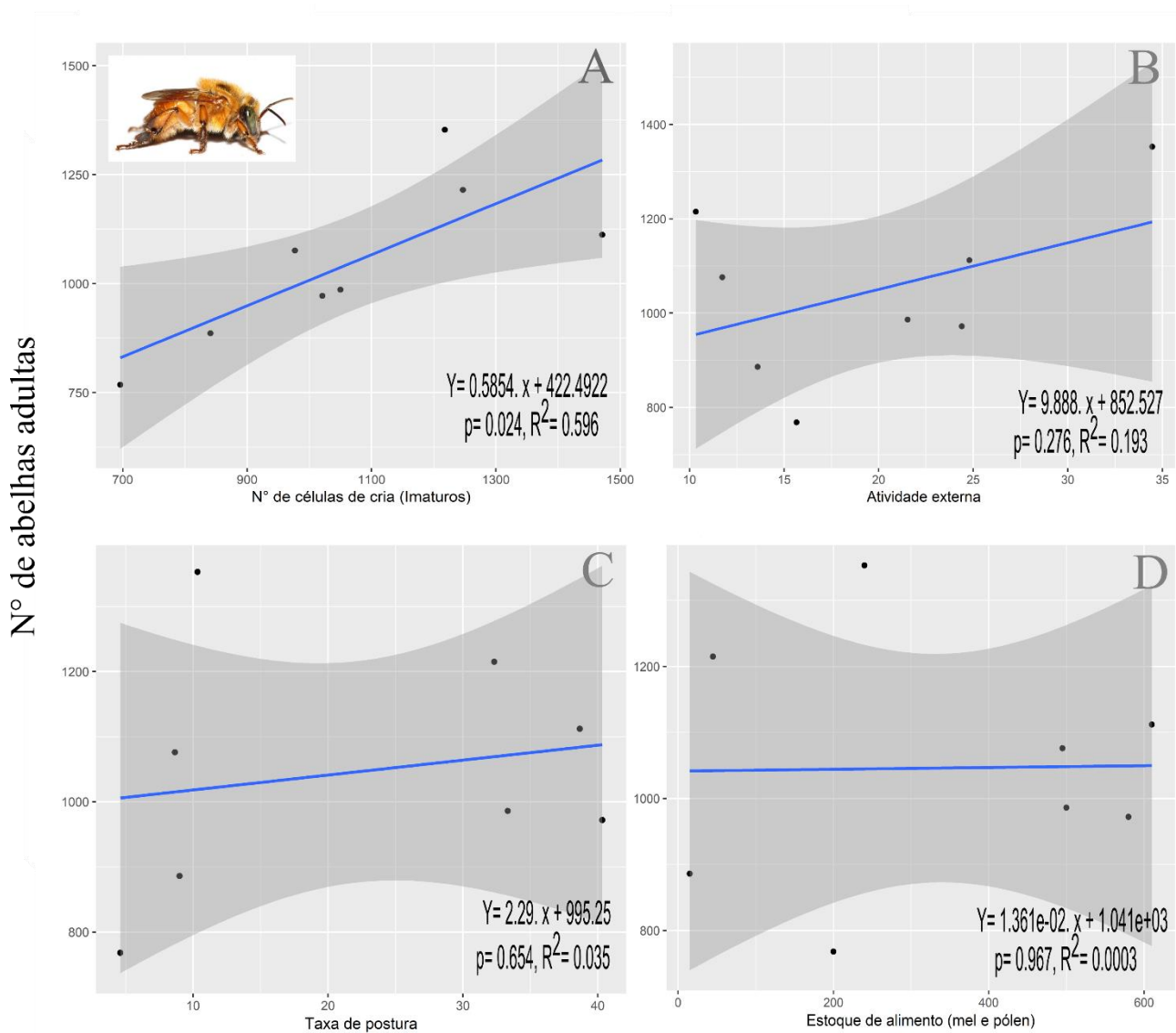


Figura 2. Regressão linear simples entre os parâmetros biológicos (A - N° de células de cria, B - Atividade externa, C - Taxa de postura, D - Estoque de alimento) e o tamanho das colônias (abelhas adultas) da espécie *Melipona flavolineata*.

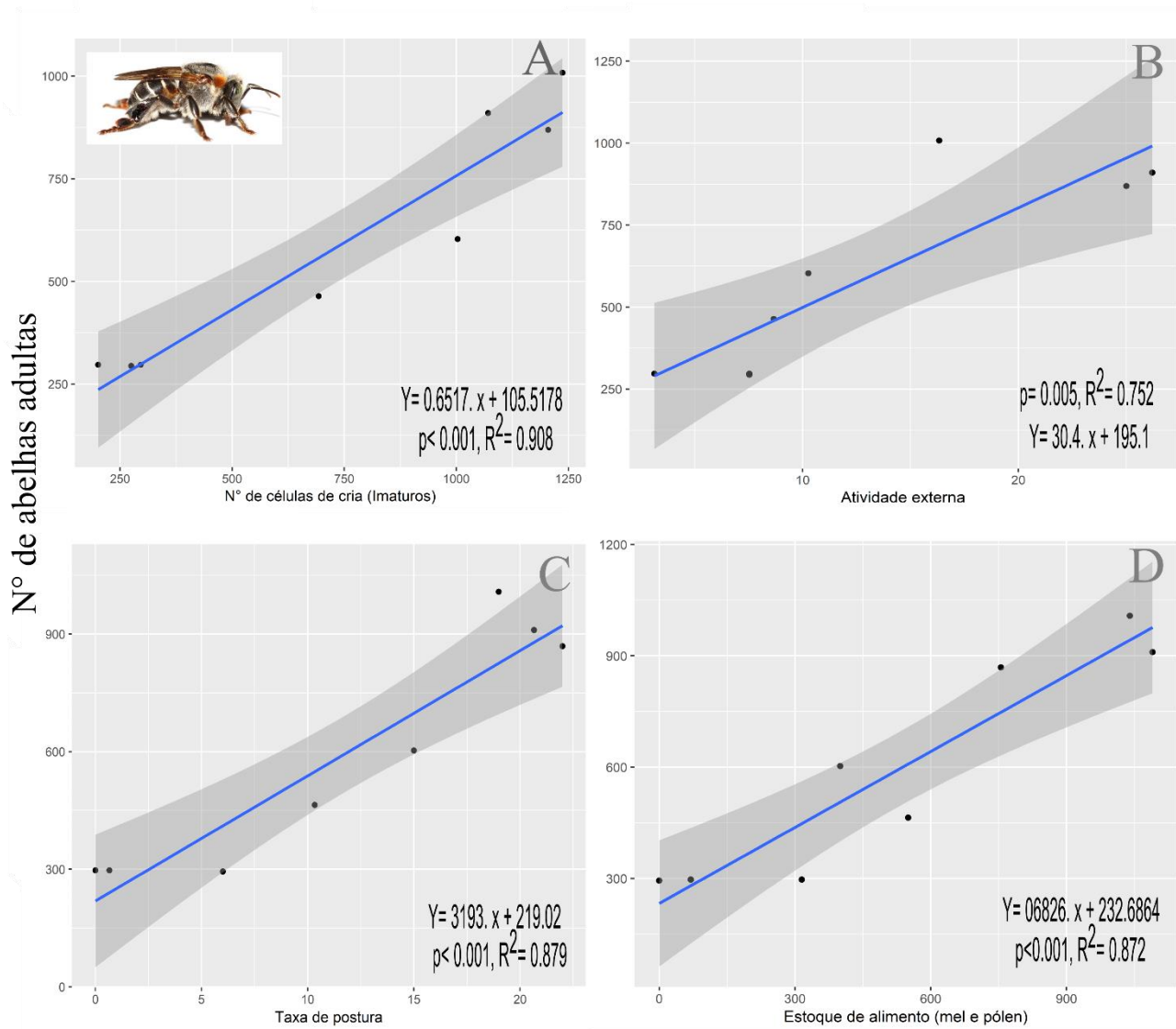


Figura 3. Regressão linear simples entre os parâmetros biológicos (A - N° de células de cria, B - Atividade externa, C - Taxa de postura, D - Estoque de alimento) e o tamanho das colônias (abelhas adultas) da espécie *Melipona fasciculata*.

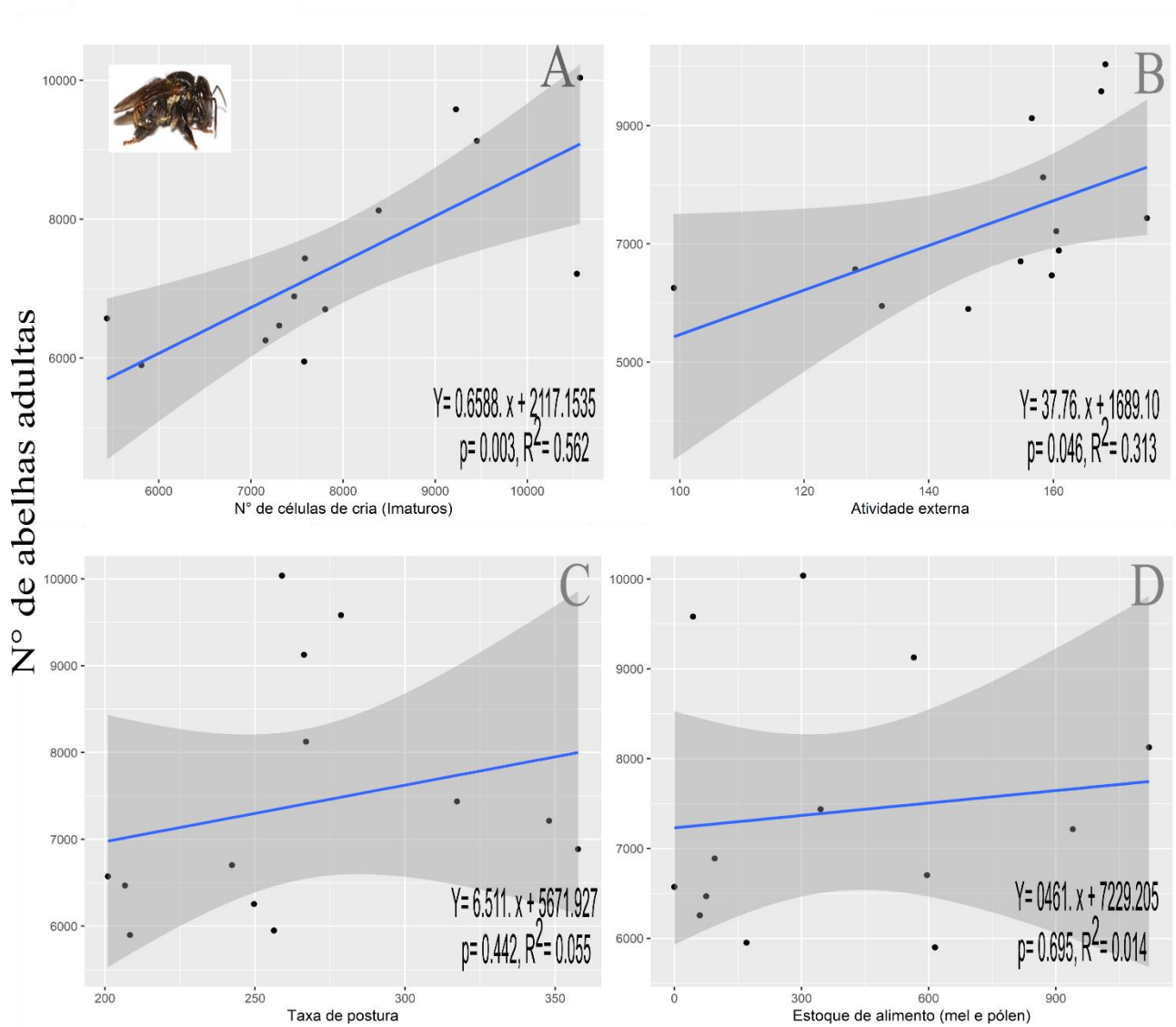


Figura 4. Regressão linear simples entre os parâmetros biológicos (A - N° de células de cria, B - Atividade externa, C - Taxa de postura, D - Estoque de alimento) e o tamanho das colônias (abelhas adultas) da espécie *Scaptotrigona aff. postica*.

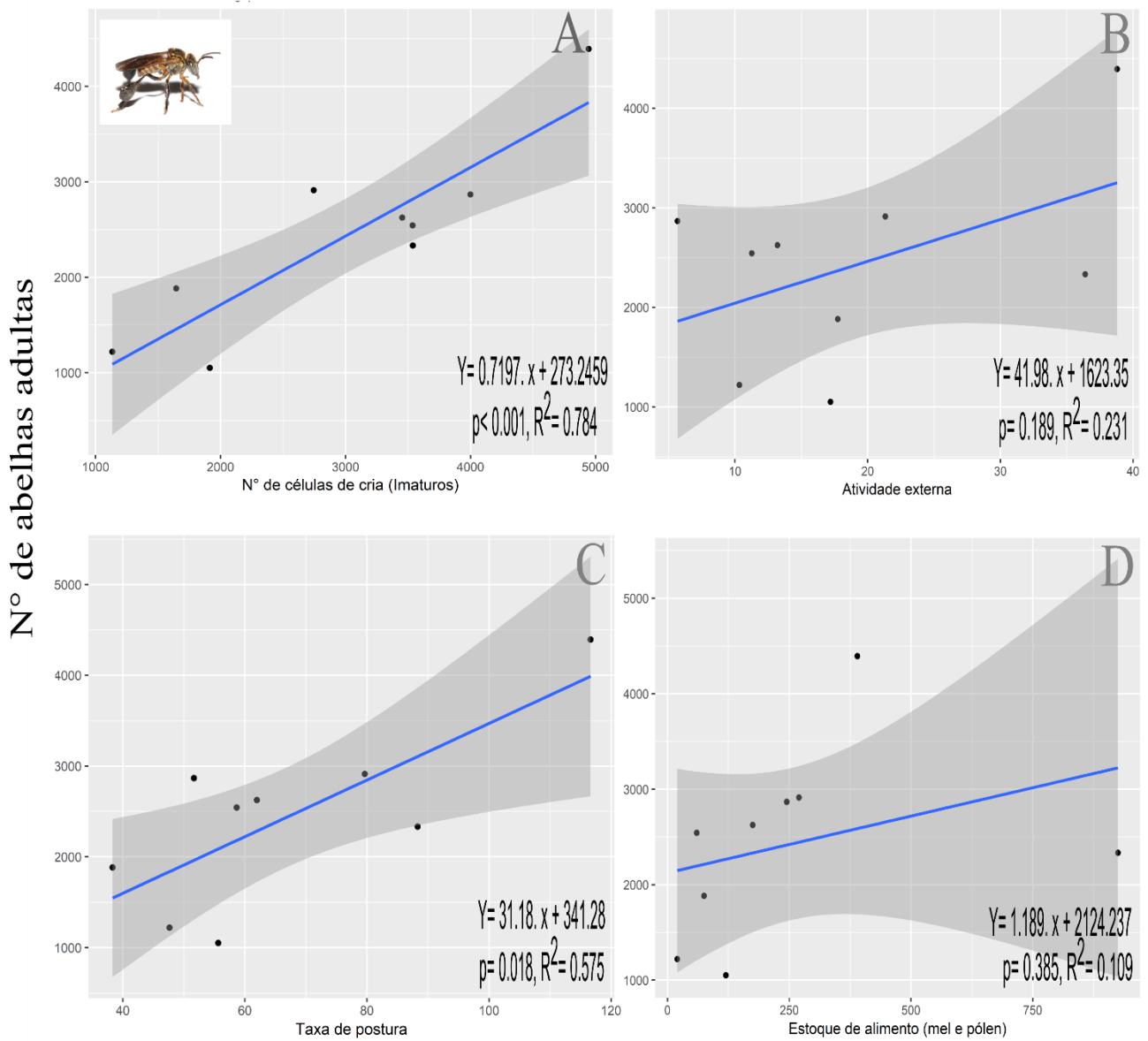


Figura 5. Regressão linear simples entre os parâmetros biológicos (A - N° de células de cria, B - Atividade externa, C - Taxa de postura, D - Estoque de alimento) e o tamanho das colônias (abelhas adultas) da espécie *Frieseomelitta longipes*.

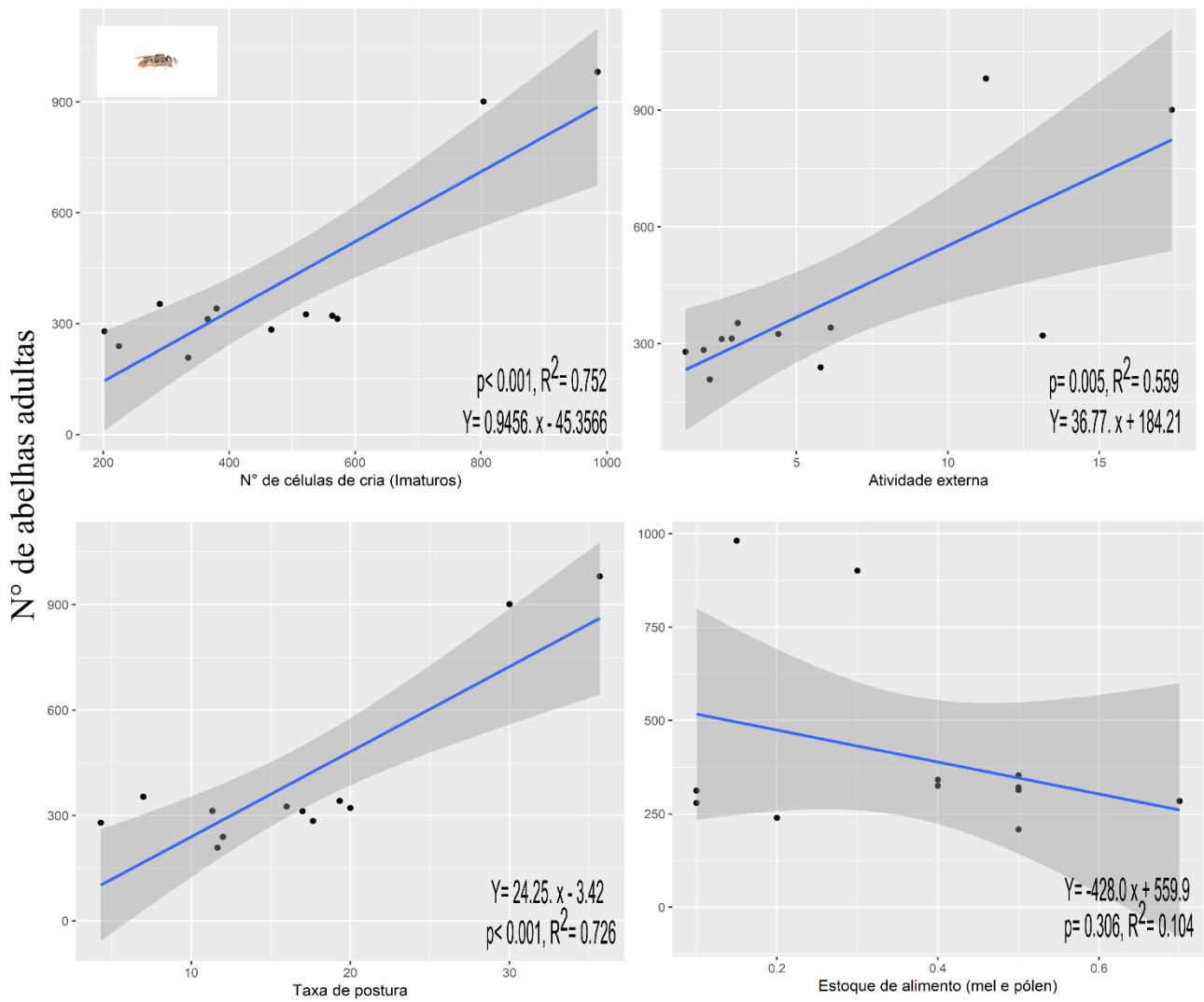


Figura 6. Regressão linear simples entre os parâmetros biológicos (A - N° de células de cria, B - Atividade externa, C - Taxa de postura, D - Estoque de alimento) e o tamanho das colônias (abelhas adultas) da espécie *Plebeia minima*.

Quando testamos a relação entre os parâmetros biológicos e o tamanho das colônias, verificamos que, entre os três parâmetros testados, a atividade externa foi a variável que melhor explicou o tamanho da população (Δ AICc < 2; Tabela 2; Fig. 3B).

Tabela 2. Resultados de GLMMs do tamanho da população de abelhas adultas (Z-escores) e três preditores: estoques de alimentos, atividade externa e taxa de postura e espécies mantidas como um efeito de grupo aleatório. A tabela mostra os coeficientes de regressão. Esta tabela exhibe todos os modelos testados. Apenas o Modelo 1 foi selecionado (AICc <2).

Fatores Fixos					
Modelos	Estoque de alimento	Atividade externa	Taxa de postura	AICc	delta (AICc)
1*		0,62		121,17	0,00
2			0,58	124,95	3,77
3 (NULO)				143,15	21,98
4	0,17			144,00	22,83

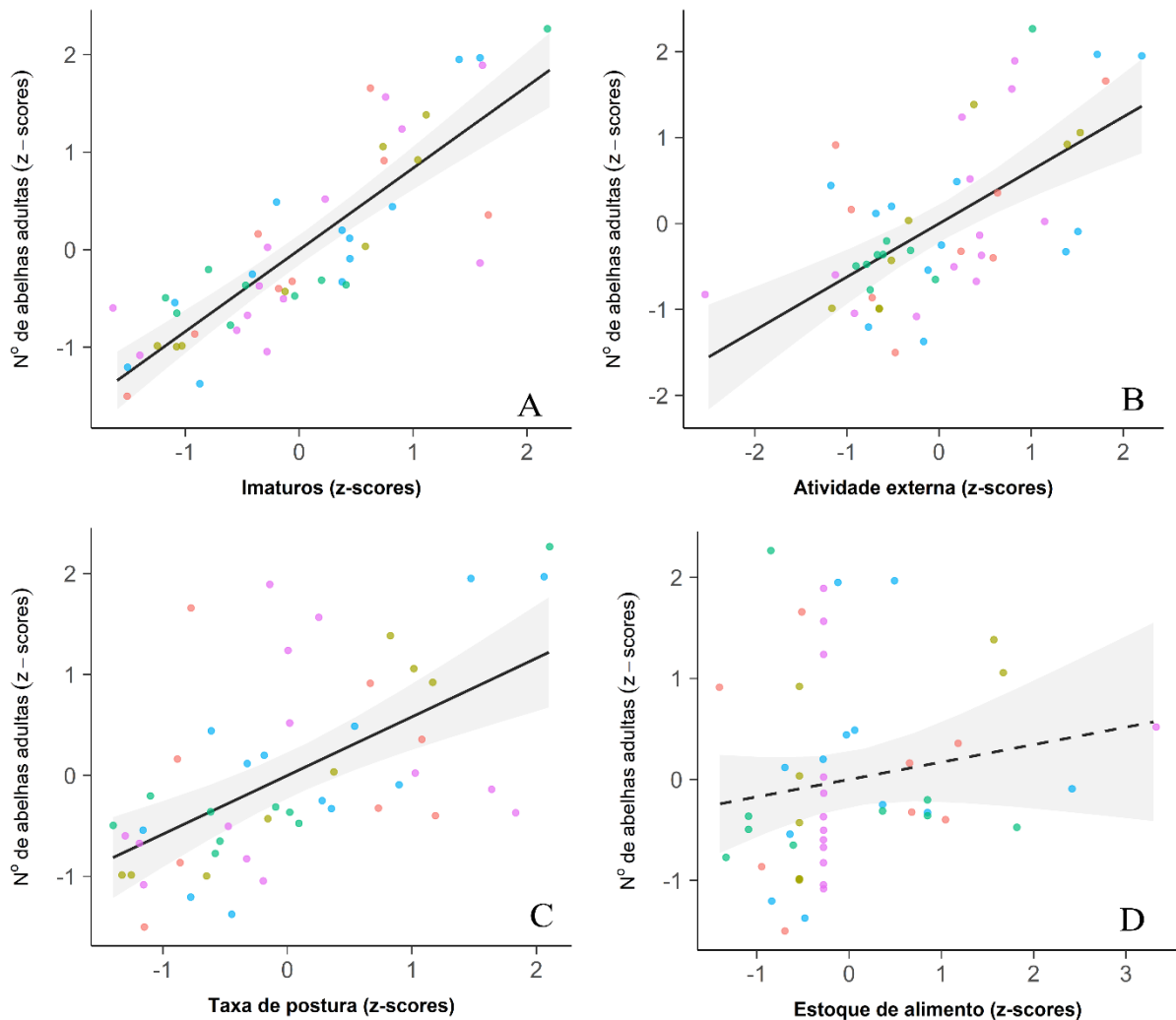


Figura 7. Efeito das características biológicas (imaturos, atividade externa, taxa de postura e estoque de alimento) no tamanho de colônias (número de abelhas adultas) considerando todas as espécies. Cada ponto é uma colônia e a linha preta é a estimativa geral do modelo. A área sombreada de cinza define os intervalos de confiança a 95% do modelo. As variáveis predictoras e de resposta para espécies individuais foram padronizadas usando Z-escores. A - Relação entre imaturos e tamanho da população adulta, B - Relação entre atividade externa e tamanho da população adulta, C - Relação entre taxa de postura e tamanho da população adulta, D - Relação entre estoque de alimento e tamanho da população adulta. Legenda para as cores dos pontos nos gráficos: rosa = *Melipona flavolineata*, ouro = *Melipona fasciculata*, verde = *Frieseomelitta longipes*, lilás = *Scaptotrigona aff. postica*, azul = *Plebeia minima*.

DISCUSSÃO

Determinar o tamanho das colônias e entender a relação das características biológicas com o tamanho da população das abelhas nativas sem ferrão é um passo importante que contribui para o entendimento da história de vida desses insetos e pode ajudar na criação e manejo adequado dessas abelhas. Analisando 50 colônias de abelhas sem ferrão de cinco espécies diferentes, mostramos que a atividade externa é o parâmetro biológico que apresenta maior relação com o número de abelhas adultas (tamanho das colônias).

A atividade externa das operárias, também conhecida como atividade de vôo, é a contagem do número de abelhas que saem e entram nas colmeias, com ou sem material aparente (Hilário, 2000). Essa atividade é uma das principais atividades realizada pelas operárias adultas nas colônias e apresenta uma alta relação com tamanho da população, provavelmente devido o fluxo de entrada de abelhas apresentar relação com o número de abelhas trabalhando como forrageiras (último serviço que uma operária exerce na divisão de trabalho de uma colônia; Wille, 1983, Sakagami, 1982, Giannini, 1997) que conseqüentemente faz parte do total de abelhas adultas presentes em uma colônia. Assim, uma maior ou menor atividade externa pode ajudar a estimar o tamanho de colônias das abelhas sem ferrão. Essa é uma métrica já utilizada em outros trabalhos para avaliação de força e tamanho das colonias e é um parâmetro que pode ser facilmente mensurável mesmo em colônias naturais, nas quais é impossível de medir alguns parâmetros, devido a dificuldade de acessar o ninho. Hilário (2007) discutiu em seu trabalho que a atividade externa fornece um indicativo fiel do tamanho das colônias.

Considerando as espécies separadamente observamos que os números mudam de uma espécie para outra, contudo a maior parte das relações se mantém. É importante destacar que o efeito do estoque de alimento no tamanho das colonias foi altamente variável (Figura 2) com apenas uma das espécies estudada (*M. fasciculata*) apresentando relação positiva. Para as outras espécies essa relação

não existe, mostrando que o estoque de alimento não tem relação com o tamanho da população, como é possível de visualizar também nos resultados do modelo (Figura 3D) quando consideramos todas as espécies em conjunto.

Além disso, a espécie *P. minima* apresentou uma relação negativa entre estoque e número de abelhas. Uma possível explicação para o efeito negativo detectado é que as abelhas podem ter usado o estoque de alimento (mel e pólen) para alimentação, tanto das abelhas adultas quanto de sua cria. Assim, quanto maior o número de abelhas menor o estoque de alimento.

É importante destacar ainda que na espécie *S. aff. postica* existiu uma grande variação na relação entre a taxa de postura e o tamanho da população, provavelmente devido a mortalidade de imaturos observada nas colônias dessa espécie, em virtude de uma provável doença que afeta a cria dessas abelhas, fazendo com que nem todos os ovos completem a metamorfose (Material suplementar, Figura 4).

O nosso estudo, diferente da maioria dos estudos existentes, não estimou o tamanho da população e sim conferiu. Contudo, o método utilizado por nós para obter esses dados é invasivo para as abelhas. Por esta razão, é imprescindível conhecer as relações existentes entre o tamanho da população e os outros parâmetros biológicos da colônia para que se possa desenvolver uma forma confiável e menos perturbadora de estimar o tamanho das colônias de abelhas sem ferrão. Apresentamos como complemento no material suplementar os gráficos e as equações da regressão simples gerada considerando os dados brutos e todas as espécies em conjunto (n=50), assim é possível calcular a estimativa do tamanho da população utilizando cada um dos parâmetros biológicos (Material suplementar, Figura 5, Tabelas 2,3,4). Contudo, essa estimativa só é válida para as espécies que estudamos, sendo necessários estudos futuros para desenvolver uma formula que utilize essas

características biológicas para estimar a população de qualquer espécie de abelhas sem ferrão, caso isso seja possível.

Entre as cinco espécies que contamos nesse trabalho, a *S. aff. postica* foi a que apresentou uma população maior, corroborando com a estimativa feita na década de 60 por Lindauer & Kerr (1960) de uma população total de 15.000 abelhas. Em contraste, a espécie *P. minima* foi a que apresentou a menor população, contudo a população que encontramos está muito acima do valor de 175 abelhas adultas encontrado por Wille & Michener (1973). Para *M. fasciculata* encontramos valores abaixo do que havia sido estimado por Keer et al. (2001) de 776 abelhas adultas. Possivelmente devido aos diferentes métodos de estimação. E para as espécies *M. flavolineata* e *F. longipes* não encontramos nenhuma estimativa anterior.

O grande número de abelhas operárias na espécie *S. aff. postica* representa uma vantagem, já que um número elevado de forrageiras determinará uma maior eficiência no forrageamento e consequentemente, isso poderia favorecer a produção de mel, coleta de pólen, ou mesmo sucesso nos serviços de polinização, embora altas populações também implique numa alta taxa de consumo colonial. Esta espécie visita flores de plantas de interesse econômico para a região, como Rambotã (*Nephelium lappaceum*) e Açaí (*Euterpe oleracea*) (Ricon-Rabanales, 2015; Campbell et al., 2018). Estudos recentes têm mostrado que as abelhas sem ferrão fornecem um serviço ecológico importante quando realizam a polinização de plantas silvestres e algumas culturas agrícolas (Slaa et al., 2006; Klein et al., 2007; Venturieri et al., 2012; Garibaldi et al., 2013; Campbell et al., 2018). Contudo, ainda não sabemos quantas colônias são necessárias para introdução dessas abelhas em plantios comerciais, como já é definido para *Apis mellifera* (Vaudo et al., 2012). Os resultados obtidos no presente estudo (número de abelhas adultas por colônia) fornece a base para a elaboração deste cálculo para as principais espécies amazônicas.

AGRADECIMENTOS

Gostaríamos de agradecer a Janete T. Gomes, Ana Carolina M. de Queiroz, Hayron K. Cordeiro, Alex Sousa, Thaliana Sousa, Alessandra do Rosário Leite, Karina Leão Nogueira, Ana Lúcia T. Seabra, Barbara Lopes, Denyse C. da Silva, Janaína de Cássia B. Ferreira e André Gomes pela ajuda na coleta dos dados. Agradecemos também a Embrapa Amazônia Oriental e aos funcionários do Laboratório de Botânica pela disponibilidade de espaço para realização deste trabalho. Agradecemos ainda aos dois árbitros anônimos pelas sugestões criteriosas. Agradecemos à CAPES / EMBRAPA (15/2014) pela bolsa de doutorado para KLL, AJC e JCV. Esta pesquisa foi financiada pelo CNPQ (400435/2014-4) através do Projeto PVE.

REFERÊNCIAS

- Aidar, D. S. (1996). A mandaçaia: biologia de abelhas, manejo e multiplicação artificial de colônias de *Melipona quadrifasciata*. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1996. 104 p. Série Monografias, n° 4
- Bates, D., Maechler, M., Bolker, B., Walker, S. (2015). Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software*, doi:10.18637/jss.v067.i01
- Barton, K. (2019). MuMIn: Multi-Model Inference. R package version 1.43.6. <https://CRAN.R-project.org/package=MuMIn>
- Bourke, A.F.G. (1999). Colony size, social complexity and reproductive conflict in social insects. *Journal of Evolutionary Biology*, doi: 10.1046/j.1420-9101.1999.00028.x

Campbell, A. J., Carvalheiro, L. G., Maués, M. M., Jaffé, R., Giannini, T. C., Freitas, M. A. B., Coelho, B. W. T., Menezes, C. (2018). Anthropogenic disturbance of tropical forests threatens pollination services to açai palm in the Amazon river delta. *Journal of Applied Ecology*, doi: 10.1111/1365-2664.13086

Contrera, F. A. L., Venturieri, G. C. (2008). Vantagens e limitações do uso de abrigos individuais e comunitários para a abelha indígena sem ferrão urucu-amarela (*Melipona flavolineata*). Belém, Embrapa Amazônia Oriental, 1-6p (Comunicado Técnico, n. 211)

Contrera, F.A.L., Menezes, C., Venturieri, G.C. (2011). New horizons on stingless beekeeping (Apidae, Meliponini). *Bras. Zootec*, 40, 48–51

DeGrandi-Hoffman, G., Roth, S. A., Loper, G. L., Erickson, E. H. Jr. (1989). BEEPOP: a honey bee population dynamics simulation model. *Ecological Modelling*, doi: doi.org/10.1016/0304-3800(89)90088-4

Dornhaus, A., Powell, S., Bengston, S. (2012). Group size and its effects on collective organization. *Annual Review of Entomology*, doi: 10. 1146/annurev-ento-120710-100604

Duarte, R.S., Souza, J., Soares, A.E.E. (2016). Nest architecture of *Tetragona clavipes* (Fabricius) (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). *Sociobiology*, 63:813-818. doi: 10. 13102/ sociobiology.v63i2.1019

Fox, J., Weisberg, S. (2011). An {R} Companion to Applied Regression, Second Edition. Thousand Oaks CA: Sage. [URL:http://socserv.socsci.mcmaster.ca/jfox/Books/Companion](http://socserv.socsci.mcmaster.ca/jfox/Books/Companion).

Garibaldi, L. A., Steffan-Dewenter, I., Winfree, R., Aizen, M.A., Bommarco, R., Cunningham, S.A., Kremen, C., Carvalheiro, L.G., Harder, L.D., et al. (2013). Wild pollinators enhance fruit set of crops regardless of honey bee abundance. *Science*, doi: 10.1126/science.1230200

Gillooly, J. F., Hou, C., Kaspari, M. (2010). Eusocial insects as superorganisms: insights from metabolic theory. *Communicative & Integrative Biology*, 3(4): 360-362. doi: 10.4161/cib.3.4.11887

Giannini, K. M. (1997). Labor division in *Melipona compressipes fasciculata* Smith (Hymenoptera: Apidae: Meliponinae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 26: 153-162. doi: 10.1590/S0301-80591997000100020

Hilário, S. D., Imperatriz-Fonseca, V. L., Kleinert, A. M. P. (2000). Flight activity and colony strength in the stingless bee *Melipona bicolor bicolor* (Apidae, Meliponinae). *Revista Brasileira de Biologia*, 60(2): 299-306

Hilário, S. D., Ribeiro, M. de F., Imperatriz-Fonseca, V. L., (2007). Efeito do vento sobre a atividade de vôo de *Plebeia remota* (Holmberg, 1903) (Apidae, Meliponini). *Biota Neotropica*, 7 (3): 225-232

Holldobler, B., Wilson, E. O. (2009). *The Superorganism: The Beauty, Elegance, and Strangeness of Insect Societies*. W.W. Norton & Company, Inc. New York

Ihering, H.V. (1930). *Biologia das abelhas mellíferas do Brasil*. *Boletim de Agricultura da Secretária da Agricultura do Estado São Paulo*, 31: 435-506

Jaffé, R., Pope, N., Carvalho, A. T., Maia, U. M., Blochtein, B., de Carvalho, C. A. L. (2015). Bees for development: Brazilian survey reveals how to optimize stingless beekeeping. *PLoS One*, doi: 10.1371/journal.pone.0121157

Keer, W. E., Petrere Jr. M., Diniz-Filho, J. A. F. (2001). Informações biológicas e estimativa do tamanho ideal de colmeia para a abelha tíuba do Maranhão (*Melipona compressipes fasciculata* Smith-Hymenoptera, Apidae). *Revista Brasileira de Zoologia*, 18 (1): 45-52

Klein, A. M., Vaissière, B. E., Cane, J. H., Steffan-Dewenter, I., Cunningham, S. A., Kremen, C., Tscharntke, T. (2007). Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the Royal Society*, doi: 10.1098/rspb.2006.3721

- Leão, K. L., Queiroz, A. C. M., Veiga, J. C., Contrera, F. A. L., Venturieri, G. C. (2016). Colony development and management of the stingless bee *Scaptotrigona aff. postica* (Apidae, Meliponini) in different hive models. *Sociobiology*, doi: 10.13102/sociobiology.v63i4.1041
- Lindauer, M., Kerr, W. E. (1960). Communication between the workers of stingless bees. *Bee World* 41: 29–71. doi: doi.org/10.1080/0005772X.1960.11096767
- Malham, J. P., Rees, J. S., Alspach, P. A., Beggs, J. R., Moller, H. (1991). Traffic rate as an index of colony size in *Vespula* wasps, *New Zealand Journal of Zoology*, 18(2):105-109. doi: 10.1080/03014223.1991.10757956
- Michener, C. D. (1974). *The social behaviour of the bees. A comparative study*. Cambridge, Belknap Press, 404 p
- Michener C. D. (2013). The Meliponini. In: Vit, P., Pedro, S. R. M., Roubik, D. (eds.), *Pot-honey: A legacy of stingless bees*. Springer, New York, 3–17p
- Pedro, S. R. M. (2014). The Stingless Bee Fauna In Brazil (Hymenoptera: Apidae). *Sociobiology*, doi: dx.doi.org/10.13102/sociobiology.v61i4.348-354
- Rincón-Rabanales, M., Roubik, D. W., Guzmán, M. A., Salvador-Figueroa, M., Adriano-Anaya, L., Ovando, I. (2015). High yields and bee pollination of hermaphroditic rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) in Chiapas, Mexico, *Fruits*, 70: 23-27. doi: 10.1051/fruits/2014039
- R Core Team (2018). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL: <https://www.R-project.org/>
- Roubik, D. W. (2006). Stingless bee nesting biology. *Apidologie*, doi: 10.1051/apido:2006026 v

- Roldão-Sbordoni, Y. S., Nascimento, F.S., Mateus. S. (2018). Estimating colonies of *Plebeia droryana* (Friese, 1900) (Hymenoptera: Apidae: Meliponini): adults, brood and nest structure. *Sociobiology*, doi: 10.13102/sociobiology.v65i2.2345
- Sakagami, S. F. (1982). Stingless bees. In: HERMANN, R. H. ed. *Social insects*. New York, Academic Press. v.3, 316-423 p
- Slaa, E. J., Sánchez-Chaves, L. A., Malagodi-Braga, K. S., Hofstede, F. E. (2006). Stingless bees in applied pollination: practice and perspectives. *Apidologie*, doi: 10.1051/apido:2006022
- Tóth, E., Queller, D.C., Dollin, A., Strassmann, J. E. (2004). Conflict over male parentage in stingless bees. *Insectes Sociaux*, doi: 10.1007/s00040-003-0707-z
- Vaudo, A. D., Ellis, J. D., Cambray, G. A., Hill, M. (2012). The effects of land use on honey bee (*Apis mellifera*) population density and colony strength parameters in the Eastern Cape, South Africa. *J Insect Conserv*, doi: 10.1007/s10841-011-9445-0
- Venturieri, G. C., Alves, D. A., Villas-Bôas, J. K., Carvalho, C. A. L., Menezes, C., Vollet-Neto, A., Contrera, F. A. L., Cortopassi-Laurino, M., Nogueira-Neto, P., Imperatriz-Fonseca, V. L. (2012). Meliponicultura no Brasil: Situação Atual e Perspectivas Futuras para o Uso na Polinização Agrícola. In: Imperatriz-Fonseca, V. L., Canhos, D. A. L., Alves, D. A., Saraiva, A. M. (Eds.), *Polinizadores no Brasil: Contribuições e Perspectivas para a Biodiversidade, Uso Sustentável, Conservação e Serviços Ambientais*. Edusp, São Paulo, 213- 236 p
- Wickham, H. (2016) *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag New York.
- Wille, A. (1983). Biology of The Stingless Bees. *Annual Reviews Entomology*, 28:41-64. doi: doi.org/10.1146/annurev.en.28.010183.000353

Wille, A., Michener, C. D. (1973). The nest architecture of Stingless bees with special reference to those of Costa Rica (hymenoptera, apidae). *Revista de Biología Tropical*, 21 (1): 9-271

Wilson, E. O. (1971). *The Insect Societies*. Harvard University Press, Cambridge.

Material Suplementar – Seção I

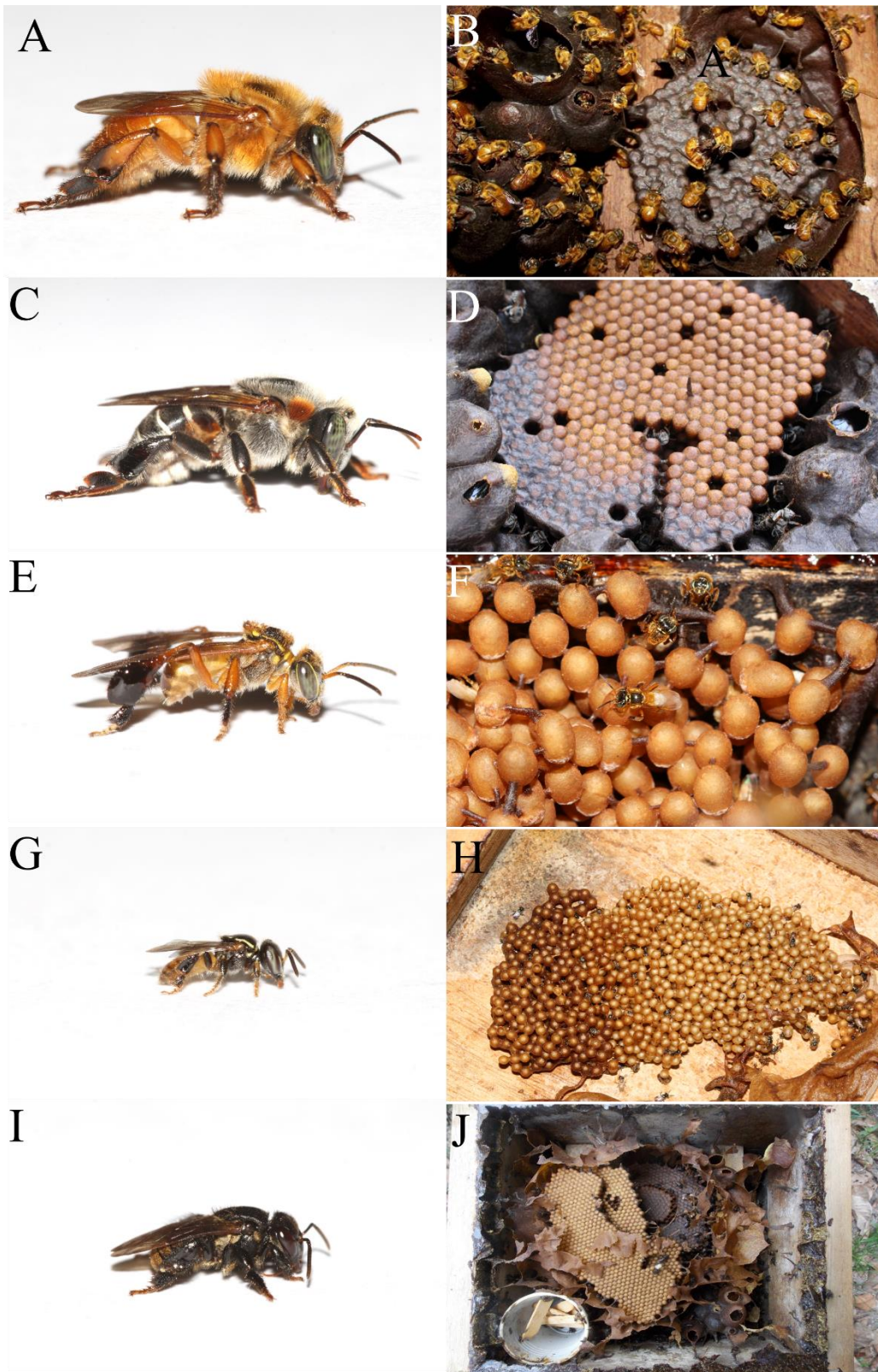


Figura 1. Espécies estudadas. A - Operária da espécie *Melipona flavolineata*, B - Detalhe do ninho da espécie *M. flavolineata*, C - Operária da espécie *Melipona fasciculata*, D - Detalhe do ninho da espécie *M. fasciculata*, E - Operária da espécie *Frieseomelitta longipes*, F - Detalhe do ninho da espécie *F. longipes*, G - Operária da espécie *Plebeia minima*, H - Detalhe do ninho da espécie *P. minima*, I - Operária da espécie *Scaptotrigona aff. postica*, J - Detalhe do ninho da espécie *S. aff. postica*.

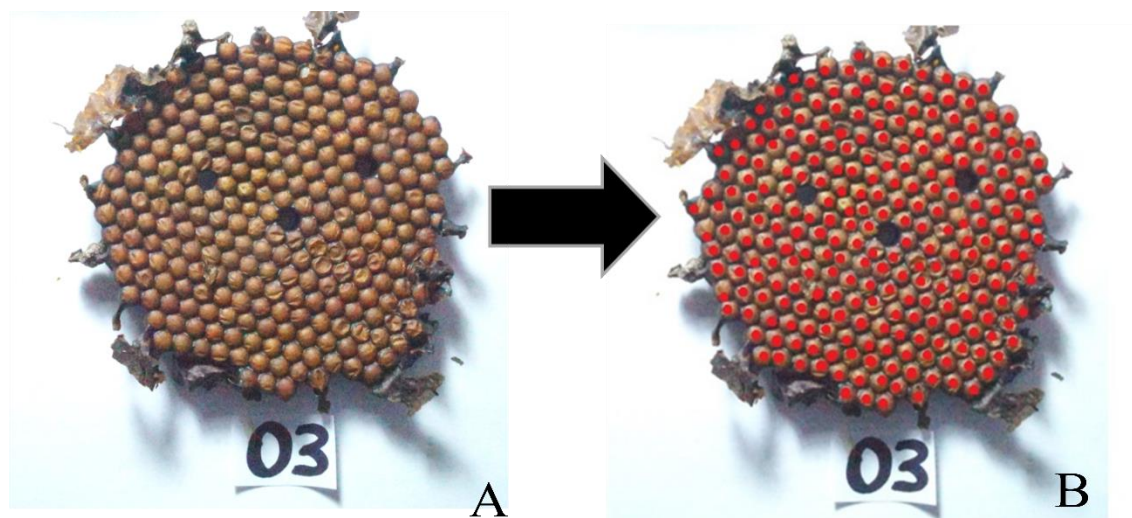


Figura 2. Favo de cria em forma de disco da espécie *Melipona flavolineata*. A. Detalhe da foto com a identificação do número do disco retirada no momento da contagem das abelhas adultas. B. Detalhe da contagem do número de células de cria realizada no computador.

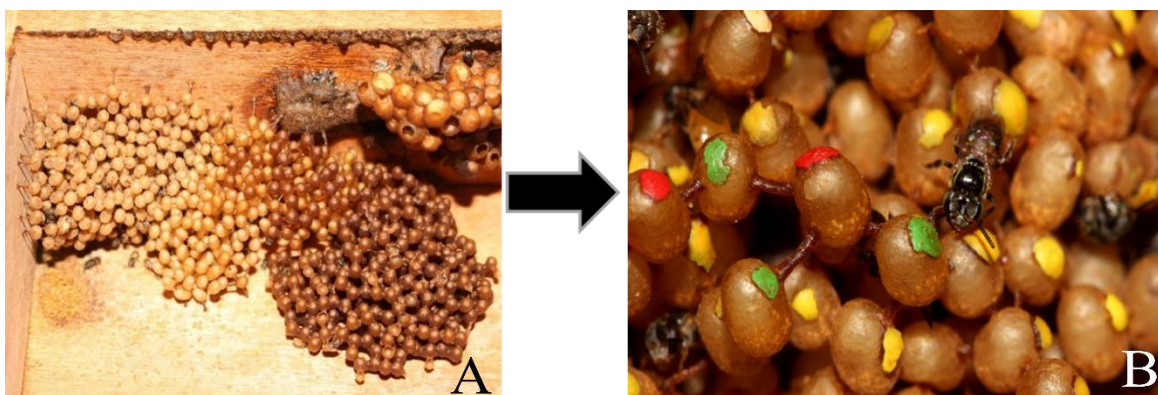


Figura 3. Favo de cria em forma de cacho da espécie *Plebeia minima*. A. Detalhe do ninho, destacando as células de cria. B. Detalhe da marcação com tinta realizada para contagem do número de células cria no momento da contagem de abelhas adultas.



Figura 4. Favo de cria da espécie *Scaptotrigona aff. postica* destacando a mortalidade das abelhas imaturas.

Tabela 1. Resultados de GLMMs do tamanho da população de abelhas adultas (Z-escores) e **quatro** preditores: estoques de alimentos, atividade externa, taxa de postura e Número de células de cria (Imaturos) e espécies mantidas como um efeito de grupo aleatório. A tabela mostra os coeficientes de regressão. Esta tabela exhibe todos os modelos testados. Apenas o Modelo 1 foi selecionado (AICc <2).

Fatores Fixos						
Modelos	Estoque de alimento	Atividade externa	Taxa de postura	Imaturos	AICc	delta (AICc)
1 *				0,84	84,99	0,00
2		0,62			121,17	36,18
3			0,58		124,95	39,95
4 (NULO)					143,15	58,15
5	0,17				144,00	59,01

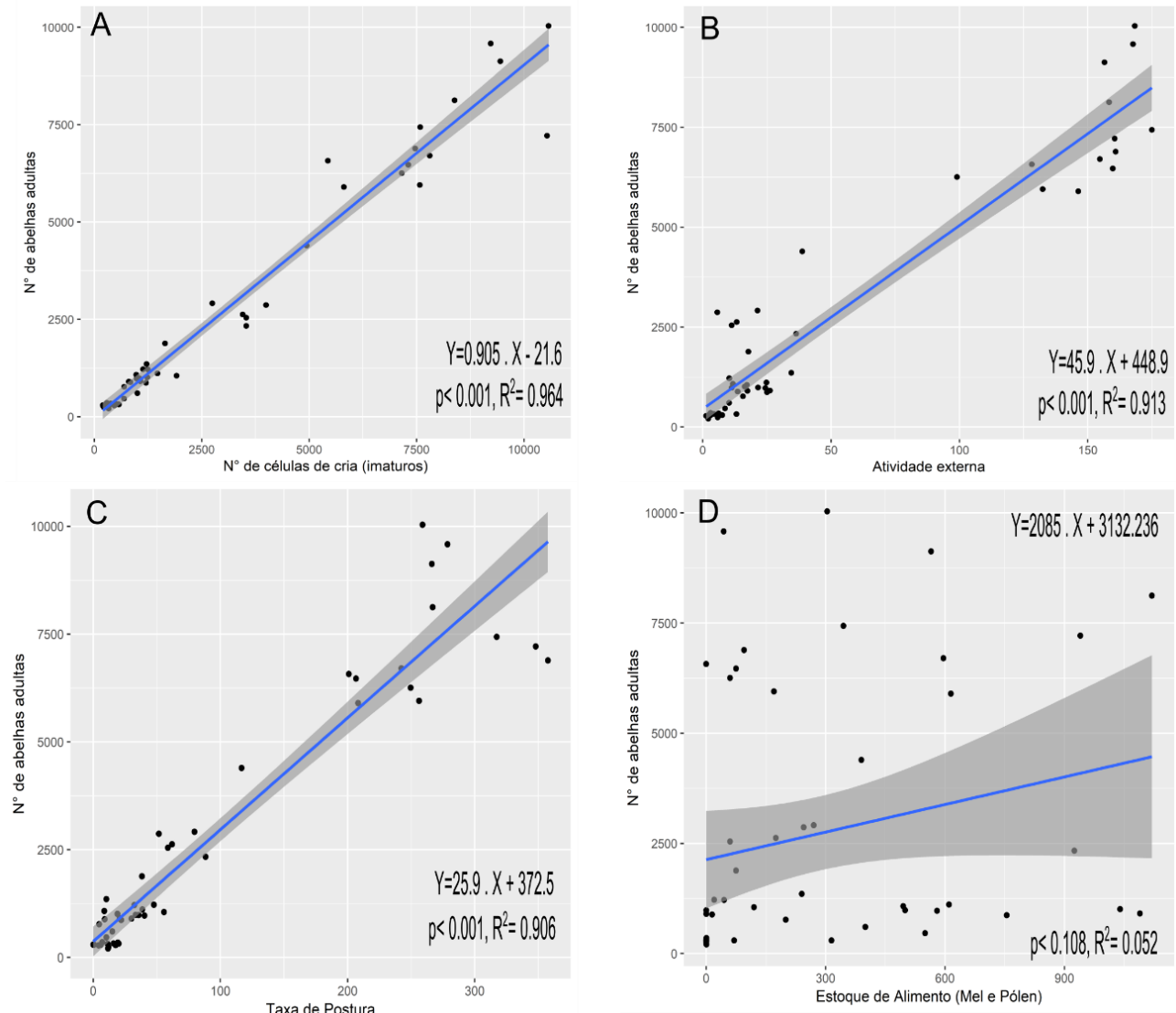


Figura 5. Regressão linear simples (com os dados brutos) entre as características biológicas das colônias e o tamanho da população (abelhas adultas) considerando todas as espécies (n=50 colônias). A - N° de células de cria (imatuross), B - Atividade externa, C- Taxa de postura e D- Estoque de alimento.

Tabela 2. Resultados da estimativa da população considerando a equação gerada na regressão simples para a característica biológica: número de célula de cria (Imaturos). A tabela mostra a média do tamanho da população encontrada na contagem para cada espécie e a estimativa.

Preditor: Número de célula de cria (Imaturos)			
n=50	y=0.905*X - 21.6		
Espécie	Média adultas	x= imaturos	Estimativa (x= imaturos)
<i>S. aff. postica</i>	7.404	8.025,461	7.241
<i>M. flavolineata</i>	1.046	1.065,125	942
<i>M. fasciculata</i>	592,75	747,625	654
<i>P. minima</i>	404,75	476	409
<i>F. longipes</i>	2.425,33	2.990,444	2.684

Tabela 3. Resultados da estimativa da população considerando a equação gerada na regressão simples para a característica biológica: atividade externa. A tabela mostra a média do tamanho da população encontrada na contagem para cada espécie e a estimativa.

Preditor: Atividade Externa			
n=50	y=45.9*X + 448.9		
Espécie	Média adultas	x= taxa de forrageio	Estimativa (x= Atividade externa)
<i>S. aff. postica</i>	7.404	128.004,75	6.324
<i>M. flavolineata</i>	1.046	18.746,20	1.309
<i>M. fasciculata</i>	592,75	6.192,67	733
<i>P. minima</i>	404,75	4.533	657
<i>F. longipes</i>	2.425,33	8.466	837,5

Tabela 4. Resultados da estimativa da população considerando a equação gerada na regressão simples para a característica biológica: taxa de postura. A tabela mostra a média do tamanho da população encontrada na contagem para cada espécie e a estimativa.

Preditor: Taxa de Postura			
n=50	y= 25.9*X + 372.5		
Espécie	Média adultas	x= taxa de postura	Estimativa (x= taxa de postura)
<i>S. aff. postica</i>	7.404	269,00	7.339
<i>M. flavolineata</i>	1.046	9,00	605,6
<i>M. fasciculata</i>	592,75	12,4	693,66
<i>P. minima</i>	404,75	17	812,8
<i>F. longipes</i>	2.425,33	62	1.978,3

Seção II

*Longevidade de operárias de abelhas sem ferrão
alimentadas com Pólen e Soja*



Stingless Bees Fed on Fermented Soybean-extract-based Diet Had Reduced Lifespan than Pollen-Fed Workers

Ana Carolina Martins de Queiroz, Kamila Leão Leão, Joyce Caroline da Silva Teixeira, Felipe Andrés Leon Contrera, Cristiano Menezes

Publicado em *Sociobiology* (An international journal on social insects),
Volume 66 (1), Pag. 107 - 112, Março 2019.

Stingless Bees Fed on Fermented Soybean-extract-based Diet Had Reduced Lifespan than Pollen-Fed Workers

RESUMO

O néctar e o pólen são os recursos alimentares básicos das abelhas sem ferrão. O avanço atual da meliponicultura levou à busca por alimentação suplementar. Apesar de pouco se saber sobre a suplementação de abelhas nativas, vários alimentos alternativos foram testados como substitutos proteicos, sendo a soja um dos mais comumente usados. Neste estudo, comparamos o efeito de uma dieta semi-artificial à base de soja versus uma dieta natural sobre a longevidade de operárias adultas de *Melipona flavolineata* Friese e *Scaptotrigona aff. postica* (Latreille). Um total de 200 operárias de cada espécie (40 de cada colônia), dos quais 100 compunham o grupo controle (consumido mel e pólen) e 100 o grupo experimental (mel e um alimento semi-artificial com base no extrato de soja). As operárias foram divididas em grupos de 20 indivíduos confinadas em caixas de MDF não fechadas completamente, sem uma rainha, e mantidas em incubadora BOD. As abelhas mortas foram contadas e removidas diariamente. As curvas de sobrevivência de Kaplan-Meier foram traçadas para cada espécie. Encontramos maior longevidade nas operárias que consumiram apenas pólen natural (71 dias para *M. flavolineata*, 78 dias para *S. aff. postica*, em média) em comparação com aquelas que consumiram a dieta à base de soja (62 dias para *M. flavolineata*, 61 dias para *S. aff. postica*, em média). Operárias de *M. flavolineata* que consumiram pólen viveram nove dias a mais (21,8%) do que aquelas alimentadas com a dieta de soja, enquanto que em *S. aff. postica* as operárias viveram sete dias a mais (12,7%). Como a longevidade foi apenas ligeiramente reduzida, podemos recomendar uma dieta à base de soja para abelhas sem ferrão durante períodos de escassez ou para suplementação alimentar de colônias recém-formadas.

Palavras-chaves: Alimentação Proteica, Pólen, Soja, Meliponini

Stingless Bees Fed on Fermented Soybean-extract-based Diet Had Reduced Lifespan than Pollen-Fed Workers

ABSTRACT

Nectar and pollen are the basic food resources of stingless bees. The current advance of meliponiculture led to the search for supplementary feeding. Despite little is known about native bees supplementation, several alternative foods have been tested as protein substitutes, with soy being one of the most commonly used. In this study, we compared the effect of a semiartificial soy-based diet versus a natural diet on the longevity of adult worker of *Melipona flavolineata* Friese and *Scaptotrigona* aff. *postica* (Latreille). A total of 200 workers of each species (40 from each colony) were used, of which 100 comprised the control group (consumed honey and pollen) and 100 the experimental group (honey and-a semiartificial food based on soybean extract). The workers were divided into groups of 20 individuals confined in MDF boxes not completely enclosed, without a queen, and kept in BOD incubators. Dead bees were counted and removed daily. Kaplan-Meier survival curves were plotted for each species. We found greater longevity in workers who consumed only natural pollen (71 days for *M. flavolineata*, 78 days for *S. aff. postica*, in average) compared to those consuming the soy-based diet (62 days for *M. flavolineata*, 61 days for *S. aff. postica*, in average). Workers of *M. flavolineata* that consumed pollen lived nine days more (21.8 %) than those fed on the soy-based diet, while *S. aff. postica* workers lived seven days more (12.7 %). As longevity was only slightly reduced, we can recommend a soy-based diet for stingless bees during dearth periods or for supplemental feeding of newly formed colonies.

Keywords: Protein feed, Pollen, Soybean, Meliponini

INTRODUCTION

Stingless bees (Apidae, Meliponini) constitute a group of eusocial insects that form perennial colonies, and comprise over 600 species. These species occur in tropical and subtropical regions, where rational breeding for honey production and, more recently, for agricultural pollination is common (Cortopassi-Laurino et al., 2006; Slaa et al., 2006; Michener, 2013). The management of stingless bees for honey production is the most traditional, but the potential for agricultural pollination has greatly increased the demand for new colonies (Cortopassi-Laurino et al., 2006; Jaffé et al., 2015). However, several obstacles must be surpassed to enable the large-scale production of meliponine colonies, including the development of an efficient artificial diet (Venturieri et al., 2012; Menezes et al., 2013).

The bees obtain the nutrients necessary for their development and activities from nectar and pollen collected from the flowers (Roubik, 1989; Brodschneider & Crailsheim, 2010). The nectar is composed basically of sugars and, therefore, is the energy source of the adult workers. Pollen is much more nutritionally complex, being the main source of proteins, lipids, vitamins and minerals. Pollen is used to feed the larvae, as well as newly emerged workers, for the development of glands (mandibular and hypopharyngeal) needed to produce larval food (Cruz-Landim & Akahira, 1966; Nogueira-Neto, 1997).

The stingless bees store the pollen in cerumen ('wax') pots (Nogueira-Neto, 1997). Within the colonies, this pollen is subjected to the action of microorganisms that change considerably its flavor, odor, color and texture transforming it into what we know as "saborá" (Camargo et al., 1992; Souza et al., 2004; Menezes et al., 2018). The quality of pollen can affect bee longevity (Schmidt et al., 1987), ovarian activation (Hoover et al., 2006; Human et al., 2007; Pirk et al., 2010) and physiological mechanisms (Alaux et al., 2011; Di Pasquale et al., 2013). The lack of pollen, therefore,

directly affects colony development by reducing larval food production, nutrient intake of egg-laying queens, and the number of offspring, consequently reducing colony health (Cruz-Landim, 2009).

Nectar has a simpler composition, and therefore has been easily replaced by beekeepers by sugar-rich artificial feed made from sugar cane (Nogueira-Neto, 1997). However, pollen is not so easily replaced because of its nutritional complexity, and fully replacing it is still a challenge (Venturieri et al., 2012). The pollen collected and processed by stingless bees is indeed very complex but very little is known about it yet. The knowledge is still limited to their general composition such as protein, carbohydrates and lipids content; nothing is known about micronutrients. This is an important gap to find better ingredients to complement their nutritional needs (Silva et al., 2006; Rebelo et al., 2016; Hartfelder & Engels, 1989; de Oliveira Alves & Carvalho, 2018; de Oliveira Alves et al., 2018). Several alternative foods have been tested as protein substitutes. Penedo et al. (1976) observed a regular hypopharyngeal glands development of *Scaptotrigona postica* (Latreille) workers fed with a mixture of yeast (25 %) and pollen (75 %). Zucoloto (1976), also studying *S. postica* workers, chose a mixture of yeast (18 %) and sucrose (82 %) as a good alternative for pollen among eight substitute compositions tested. Still for this species, a mixture of 75 % pollen from *S. postica* and 25 % pollen from *A. mellifera* was a satisfactory pollen substitute (Testa et al., 1980). A fermented mixture of yeast, pollen and sucrose solution (50 %) showed equivalent results in hypopharyngeal glands development to *Scaptotrigona depilis* (Moure) workers, compared to the natural diet (Fernandes-da-Silva & Zucoloto, 1990).

Soybean is one of the most commonly ingredient used, because of the low cost and wide availability in the market. In the genus *Melipona*, studies showed an efficient semi-artificial composition based on soybean extract, sucrose solution and pollen. Costa and Venturieri (2009) pointed out no differences in the acini and oocytes sizes of *Melipona flavolineata* Friese workers, compared to natural diet (pollen). Pires et al. (2009) recommended the use of a similar composition

(soybean extract, 30 % sucrose solution and pollen) to the *Melipona fasciculata* Smith workers, in scarcity periods.

The main parameters evaluated so far were the development of the ovaries and of the hypopharyngeal glands of the workers. However, other parameters should also be used to efficiently evaluate the nutritional value of protein diets for stingless bees, especially at the colony level (e.g., the effect on worker longevity, colony brood cell production rate and larval development), despite the importance of the aforementioned factors in evaluating an artificial protein diet (Menezes et al., 2012).

Therefore, the objective of this study were to compare the effects of a semi-artificial soybean extract diet on the longevity of workers of two stingless bee species, *M. flavolineata* and *S. aff. postica*. These species are widely kept by local beekeepers in the Brazilian state of Pará. *Melipona flavolineata* is a species of restricted distribution in Brazil, occurring in the states of Pará, Maranhão and Tocantins, while *Scaptotrigona aff. postica* has a much broader distribution (Bahia, Ceará, Goiás, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Pará, Pernambuco, Piauí, São Paulo, Tocantins), being commonly called “canudo” (Camargo & Pedro, 2013).

MATERIAL AND METHODS

Experimental design

The experiments were conducted at the Meliponiculture Laboratory, Eastern Amazon Embrapa, Belém, Pará, Brazil (1°26'11.52''S, 48°26'35.50''W), from June to October 2013. Newly emerged workers obtained from 10 nests of the scientific bee nursery (herein ‘meliponary’) of the Eastern Amazon Embrapa were used to evaluated the effect of the consumption of a semiartificial soy-based diet on the survival of workers of the species *M. flavolineata* and *S. aff. postica* (five nests

per species). A total of 200 bees were used for each species (40 per colony), of which 100 were used in the control group (natural pollen) and 100 for each experimental group (soy).

The workers were collected as soon as they emerged (first day of age) to form groups of 20 individuals from different colonies, because few workers emerge from a single comb in a single day, especially in *M. flavolineata* combs. They were placed in MDF (medium density fiberboard) boxes (8.2 x 8.2x 3.5 cm), without a queen. Boxes were kept in BOD incubators (model DL-SEDT 02) at 28 ± 1 °C and Relative Humidity between 70 % and 80 %, from emergence to death of all the bees. The number of live bees was monitored and dead bees were removed daily. In addition, the trash was removed and replaced, and water added to maintain moisture (adapted from Costa & Venturieri, 2009).

The workers were submitted to two diets, soy-based and pollen-based, according to the treatment used. Bees on the soy-based diet consumed its own honey and semi-artificial food based on soybean extract (recipe below) stored in a refrigerator at 4 °C for the experimental period, while those on the pollen-based diet consumed honey and pollen from the colonies of the species itself, stored in a freezer at – 6 °C throughout the experimental period. Bees received approximately 0.1 mL of honey and 0.15 g of soy-based food or pollen per bee per day, depending on the treatment. Food stocks were renewed daily.

Semi-artificial food used in experiments

The production of the semi-artificial food based on soybean extract followed Costa and Venturieri (2009), and Pires et al. (2009), with some modifications. The food consists on 500 g soybean extract, 500 mL sucrose syrup diluted to 50 % and 50 g fermented pollen. Pollen was collected from the colony pots of the study species and used immediately. The 500 g of soybean extract was homogenized in 500 mL of diluted syrup at about 60 °C. 50 g fermented pollen was

added when the temperature of the mixture was reduced to 28 °C. The food was kept in an oven at 28 °C for 15 days and homogenized daily to enable oxygen penetration and facilitate the fermentation process. Once ready, the food was refrigerated at 4 °C during all the experiment period.

Data analysis

Kaplan-Meier survival curves were plotted for each treatment, per species. The log-rank test was applied using the software Statistica® 8.0, to compare the survival curves of the treatments, for each species. A 5 % significance level was considered for all analyses.

RESULTS

The bees used the protein food (pollen or soy) for consumption throughout the experimental period. Despite consumption was not measured, we could observe a higher consumption in the first days of bee life. In some boxes food pots were built by bees, in these cases, they were filled of honey.

The effect of the semi-artificial diet on the longevity of the bee species *M. flavolineata* and *S. aff. postica* was observed, and a higher mean longevity was recorded for the control groups (pollen treatment) than for the experimental groups (soy treatment) (Table 1).

Table 1. Longevity in days (mean \pm standard error) for bees of the species *Melipona flavolineata* and *Scaptotrigona aff. postica* confined in group of 20 individuals and submitted to dietary treatments. Pollen (control) -bees fed honey and its own pollen, Soybean: bees fed honey and an artificial food based on soybean extract. It was applied a Log rank test using 5 % significance level

Species/Treatment	n	Pollen (days)	Soybean (days)	p
<i>Scaptotrigona aff. postica</i>	200	78 \pm 22.5	61 \pm 11.9	<0.001
<i>Melipona flavolineata</i>	200	71 \pm 43.56	62 \pm 30.07	<0.001

The *S. aff. postica* individuals that consumed pollen exhibited a greater longevity, surviving on average 17 days more than individuals on the soy treatments. Similarly, individuals of the species *M. flavolineata* survived on average 9 days more than individuals on the soy treatment (Table 1). The maximum longevity of *S. aff. postica* was recorded in an individual submitted to pollen treatment (control) (121 days), while the maximum in the soy treatment was 83 days. Bee mortality occurred from the 9th day for the soy treatment, and from the 19th day for the control. Comparison of survival curves showed that a highly significant difference in results (log-rank test, $p < 0.01$; Fig. 1).

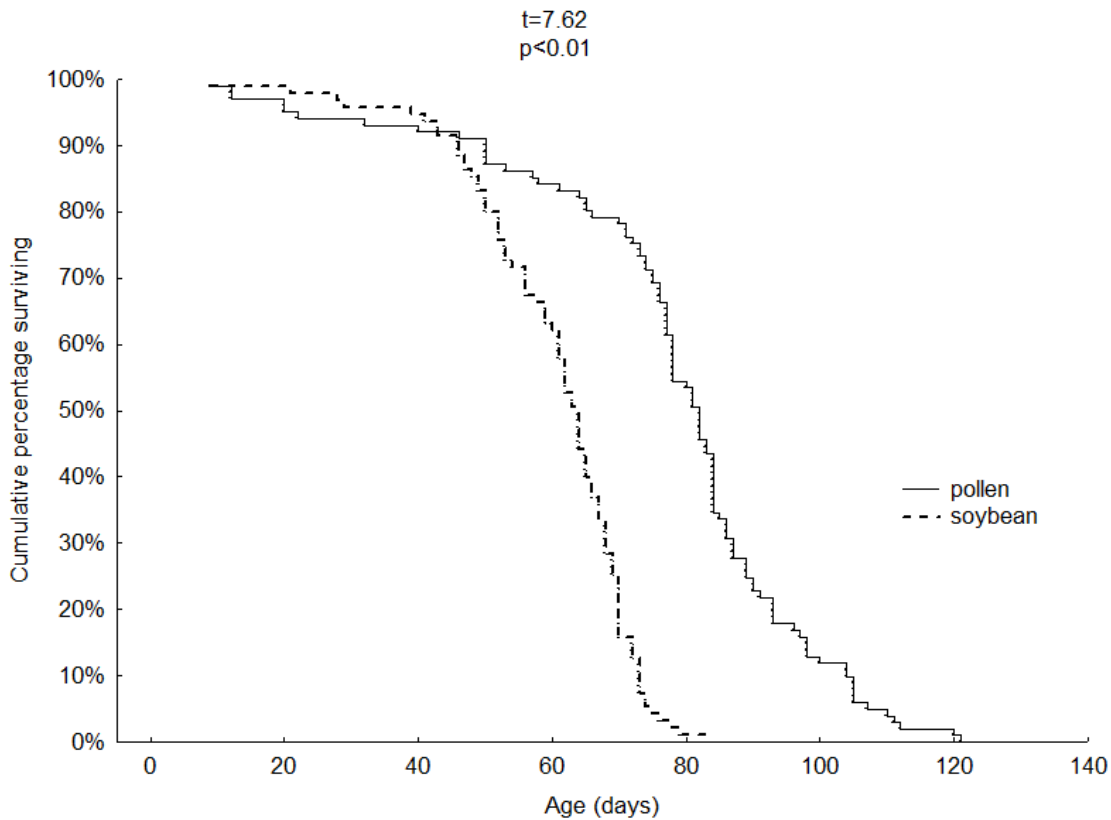


Fig 1. Survival curves for *Scaptotrigona* aff. *postica* confined in group of 20 individuals and submitted to dietary treatments. Pollen (control) -bees fed honey and its own pollen, Soybean: bees fed honey and an artificial food based on soybean extract. The value t refers to log rank test using 5 % significance level (p)

The longest that *M. flavolineata* lived in the control treatment was 141 days compared to 138 days in the soy treatment, Bee mortality began on the 5th day in the pollen (control) treatment, and on the 6th day in the soy treatment. The difference among survival curves of each treatment was highly significant (log-rank test, p <0.01; Fig. 2).

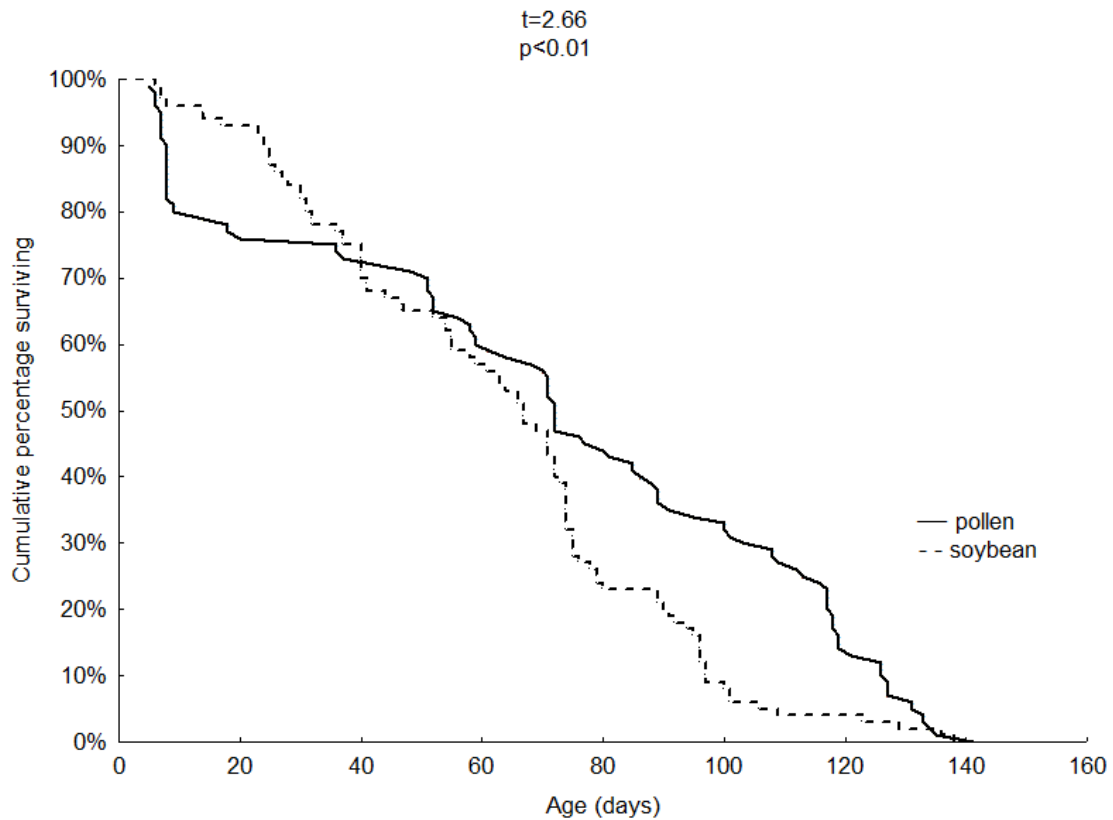


Fig 2. Survival curves for *Melipona flavolineata* confined in group of 20 individuals and submitted to dietary treatments. Pollen (control) -bees fed honey and its own pollen, Soybean: bees fed honey and an artificial food based on soybean extract. The value t refers to log rank test using 5 % significance level

DISCUSSION

In this study, the longevity of workers that consumed exclusively natural pollen was greater than of those that consumed the soy-based diet. The *M. flavolineata* workers fed on pollen lived 22 % more than those that consumed soy-based diet, while the *S. aff. postica* workers lived 13 % more. On the one hand, it is a positive result as it shows that the soy-based diet did not drastically affect the longevity of adult bees (Camargo, 1982; Gomes et al., 2015), and therefore it is a good basis for the elaboration of an artificial diet. However, it is also evidence that the diet still requires enhancements to fully meet the nutritional needs of stingless bees.

Improvement of artificial diets is essential in the breeding activity of these bees, to assist the growth of newly formed colonies and to strengthen them during periods of food shortage. Pollen availability is essential for the development of the colony and to increase population size. Pollen availability also plays a key role in bee's morphology and physiology and may affect longevity if it is not suitable (Ramalho et al., 1998). As in other social insects, an altered longevity of the workers will affect the growth rate and final size of the colony, which can increase both by a higher birth rate workers and/or by a decreased mortality rate of workers (Carey, 2001).

Bees require basic nutrients such as carbohydrates and lipids (non-essential nutrients), amino acids, vitamins and minerals throughout their life stages. Pollen is the main protein source (Souza et al., 2004; Menezes et al., 2018), and acts directly on offspring production, larval development and longevity of adult individuals (Sagili & Pankiw, 2007; Brodschneider & Crailsheim, 2010; Alaux, 2011; Frias et al., 2016). In this study, differences in the nutrient concentration in the food offered to the bees could justify the increased longevity found for bees fed on natural food (pollen). The higher protein concentration in natural food may be one of the causes of the differences in longevity found between treatments.

Little is known about chemical composition of pollen collected by stingless bees (Rebelo et al., 2016), included these species studied. Bee pollen usually has a high protein content. Three Amazonian species of *Melipona* showed protein content between 15.7 and 23.8 (mean 19.5 %) (Souza et al., 2004). Rebelo et al. (2016) obtained the protein percentage mean values of 24 (for *M. interrupta*) and 37.63 (*M. seminigra*).

Costa and Venturieri (2009) verified different results due to protein content in diets. Using a semi-artificial food soy-based (25 g of soybean extract, 25 g of sucrose, 50 mL of water, 2.4 g of processed pollen from *M. flavolineata*) similar to the one used in this study, they reported a protein content of 12 %, lower than protein bees requirement of 20 % (Souza et al., 2004; Somerville, 2005).

M. flavolineata workers fed with this diet had smaller acini than workers fed with natural pollen, however no differences were reported in oocytes development (Costa & Venturieri, 2009). On the other hand, *M. flavolineata* workers fed with a different composition soy-based diet (43 g soybean extract, 14 g of sucrose, 43 mL of water, 2.4 g of pollen) that reach a protein content of 18 %, presented greater development of the hypopharyngeal glands and oocytes, being even superior to the control treatment (pollen). Probably it is due to the higher energetic value of soybean compared to pollen.

The higher protein concentration in natural food may be one of the causes of the differences in longevity found between treatments. Somerville (2000) observed that higher protein levels in the body of *A. mellifera* workers resulted in greater longevity. In another important species for beekeeping in the states of Pará and Maranhão, *M. fasciculata*, a higher longevity has been reported in workers submitted to an semi-artificial diet (a mixture of soybean extract, sucrose syrup diluted to 30 % and pollen) compared to bees that consumed natural pollen (Pires et al., 2009). These authors present a formula that can be offered during periods of flower shortage with no apparent damage to colonies.

Semi-artificial food based on soybean extract has proven to be a viable option for critical periods of scarcity of natural resources, or even to be used in large-scale colony production despite the reduction in longevity. Teixeira (personal communication, April 02, 2018) compared the size of individuals submitted to the aforementioned treatments and reached the conclusion that individuals fed on soy were larger than those that consumed natural food (pollen) and reported no differences in the survival or size of immature *M. flavolineata* individuals when compared to those that consumed natural food (pollen).

Similar longevity-reduction results were obtained for *S. aff. postica* individuals that consumed soy-based food compared to natural food consumption (pollen), although precise data

for the species are lacking. The physical and chemical compositions of the food tested possibly resemble those found for *M. flavolineata* (Costa & Venturieri, 2009).

Besides the concern of ensuring a minimum percentage of components (e.g., proteins), an excess of elements must also be considered. The minerals sodium, sodium chloride and calcium, for example, may be toxic to honey bees (*A. mellifera*), affecting the production of offspring (Somerville, 2005). Therefore, the addition of new ingredients to the artificial diet needs to be done with caution. Future studies are important in trying to match the components to the nutritional needs of bees.

Until this optimal composition is reached, the results obtained in this study contribute by reinforcing the recommendation to use semi-artificial food based on soybean extract for stingless bees in periods of scarcity of natural resources or for newly formed colonies.

ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to thank Janete Teixeira Gomes, Lorival Juracy Lucas for their valuable contributions. We also thank Alistair Campbell for linguistic advice and two anonymous referees for insightful suggestions. We thank CAPES/EMBRAPA (15/2014) for providing grants to KLL. This research was funded by CNPQ (479710/2011-2) through the Project Universal 14/2011. We dedicate this work to the memory of Prof. Warwick E. Kerr (1922 - 2018), a pioneer on studies of stingless bees.

REFERENCES

- Alaux, C., Dantec, C., Parrinelo, H. & Le Conte, Y. (2011). Nutrigenomics in honey bees: digital gene expression analysis of pollen's nutritive effects on healthy and varroa-parasitized bees. *BMC Genomics*, 12:496. doi: 10.1186/1471-2164-12-496
- Brodschneider, R. & Crailsheim, K. (2010). Nutrition and health in honey bees. *Apidologie*, 41: 278-294. doi:10.1051/apido/2010012
- Camargo, C. A. de (1982). Longevity of diploid males, haploid males, and workers of the social bee *Melipona quadrifasciata* Lep. (Hymenoptera: Apidae). *Journal of the Kansas Entomological Society*, 55: 8-12.
- Camargo, J. M. F., Garcia, M. V. B., Junior, E. R. Q. & Castrillon, A. (1992). Notas previas sobre a bionomia *Ptilotrigona lurida* (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae): Associação de leveduras em pólen de estocado. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi*, 8:391-395.
- Camargo, J. M. F. & Pedro, S. R. M. (2013). Meliponini Lepageletier, 1836. In: Moure, J. S., Urban, D. & Melo, G. A. R. (Eds.). *Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region - online version*. <http://www.moure.cria.org.br/catalogue>. (accessed date: 23 September, 2018)
- Carey, J. R. (2001). Demographic mechanisms for the evolution of long life in social insects. *Experimental Gerontology*, 36:713-722. doi:10.1016/S0531-5565(00)00237-0
- Cortopassi-Laurino, M., Imperatriz-Fonseca, V. L., Roubik, D. W., Dollin, A., Heard, T., Aguilar, I., Venturieri, G. C., Eardley, C. & Nogueira-Neto, P. (2006). Global meliponiculture: Challenges and opportunities. *Apidologie*, 37:275-292. doi: 10.1051/apido:2006027
- Costa, L. & Venturieri, G. C. (2009). Diet impacts on *Melipona flavolineata* workers (Apidae, Meliponini). *Journal of Apicultural Research*, 48:38-45. doi: 10.3896/IBRA.1.48.1.09

Cruz-Landim, C. (2009). *Abelha - morfologia e função dos sistemas*. São Paulo: Unesp, 408 p

Cruz-Landim, C. & Akahira, Y. (1966). Influência da alimentação no desenvolvimento de algumas glândulas de *Trigona (Scaptotrigona) postica* Latreille (Hymenoptera: Apoidea). *Papéis Avulsos de Zoologia*, 19: 63-78.

de Oliveira Alves, R. M., da Silva Sodré, G. & Carvalho, C. A. L. (2018). Chemical, microbiological, and palynological composition of the “Samburá” *Melipona scutellaris* pot-pollen. In: Vit, P., Pedro, S. & Roubik, D. (Eds.), *Pot-Pollen in Stingless Bee Melittology* (pp. 349-360). Springer, Cham. doi:10.1007/978-3-319-61839-5_25

de Oliveira Alves, R. M. & Carvalho C. A. L. (2018). Pot-Pollen ‘Samburá’ marketing in Brazil and suggested legislation. In: Vit, P., Pedro, S. & Roubik, D. (Eds.), *Pot-Pollen in Stingless Bee Melittology* (pp.435-443). Springer, Cham. doi: 10.1007/978-3-319-61839-5_31

Di Pasquale, G., Salignon, M., Le Conte, Y., Belzunces, L. P., Decourtye, A. Kretzschmar, A., Suchail, S., Brunet, J., & Alaux, C. (2013). Influence of pollen nutrition on honey bee health: do pollen quality and diversity matter? *Plos One*, 8 (8). doi: 10.1371/journal.pone.0072016

Fernandes-da-Silva, P. G. & Zucoloto, F. S. (1990). A semi-artificial diet for *Scaptotrigona depilis*. *Journal of Apicultural Research*, 29:233-235. doi: 10.1080/00218839.1990.11101225

Frias, B. E. D., Barbosa, C. D. & Lourenço, A. P. (2016). Pollen nutrition in honey bees (*Apis mellifera*): Impact on adult health. *Apidologie*, 47:15-25. doi: 10.1007/s13592-015-0373-y

Gomes, R. L. C., Menezes, C. & Contrera, F. A. L. (2015). Worker longevity in an Amazonian *Melipona* (Apidae, Meliponini) species: effects of season and age at foraging onset. *Apidologie*, 46:133-143. doi: 10.1007/s13592-014-0309-y

Hartfelder, K. & Engels, W. (1989). The composition of larval food in stingless bees: evaluating nutritional balance by chemosystematic methods. *Insectes Sociaux*, 36:1-14.

Hoover, S. E. R., Higo, H. A. & Winston, M. L. (2006). Worker honey bee ovary development: seasonal variation and the influence of larval and adult nutrition. *Journal of Comparative Physiology B*, 176:55-63. doi: 10.1007/s00360-005-0032-0

Human, H., Nicolson, S. W., Strauss, K., Pirk, C. W. W. & Diemman, V. (2007). Influence of pollen quality on ovarian development in honey bee workers (*Apis mellifera scutellata*). *Journal of Insect Physiology*, 53: 649-655. doi:10.1016/j.jinsphys.2007.04.002

Jaffé, R., Pope, N., Carvalho, A. T., Maia, U. M., Blochtein, B. & de Carvalho, C. A. L. (2015). Bees for development: Brazilian survey reveals how to optimize stingless beekeeping. *Plos One*. doi: 10.1371/ journal.pone.0121157

Menezes, C., Paludo, C. R. & Pupo, M. T. (2018). A review of the artificial diets used as pot-pollen substitutes. In: Vit, P., Pedro, S. R. M. & Roubik, D. W. (Eds.), *Pot-Pollen in Stingless Bee Melittology* (pp. 253-262). Springer. doi: 10.1007/978-3-319-61839-5

Menezes, C., Vollet-Neto, A., Contrera, F. A. L., Venturieri, G. C. & Imperatriz-Fonseca, V. L. (2013). The role of useful microorganisms to stingless bees and stingless beekeeping. In: Vit, P., Pedro, S. R. M. & Roubik, D. W. (Eds.), *Pot-Honey A legacy of Stingless Bees* (pp. 253-263). Springer. doi: 10.1007/978-1-4614-4960-7

Menezes, C., Vollet-Neto, A. & Imperatriz-Fonseca, V. L. (2012). A method for harvesting unfermented pollen from stingless bees (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). *Journal of Apicultural Research*, 51 (3). doi: [10.3896/IBRA.1.51.3.04](https://doi.org/10.3896/IBRA.1.51.3.04)

Michener, C. D. (2013). The Meliponini. In: Vit P., Pedro S. R. M. & Roubik D. W. (Eds.), *Pot-honey: A legacy of Stingless Bees* (pp.3-17). Springer. doi: 10.1007/978-1-4614-4960-7_1

Nogueira-Neto, P. (1997). *Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão*. São Paulo: Ed. Nogueirapis, 446p

Penedo, M. C. T., Testa, P. R. & Zucoloto, F. S. (1976). Valor nutritivo do geval e do levedo de cerveja em diferentes misturas com pólen para *Scaptotrigona (Scaptotrigona) postica* (Hymenoptera, Apidae). *Ciência e Cultura*, 28: 536-538.

Pires, N. V. C. R., Venturieri, G. C. & Contrera, F. A. L. (2009). Elaboração de uma dieta artificial protéica para *Melipona fasciculata*. Documentos/Embrapa Amazônia Oriental; Belém, PA, Brasil. 363 p

Pirk, C. W. W., Boodhoo, C., Human, H. & Nicolson, S. W. (2010). The importance of protein type and protein to carbohydrate ratio for survival and ovarian activation of caged honeybees (*Apis mellifera scutellata*). *Apidologie*, 4:62-72. doi: 10.1051/apido/2009055

Ramalho, M., Imperatriz-Fonseca, V. L. & Giannini, T. C. (1998). Within-colony size variation of foragers and pollen load capacity in the stingless bee *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lepeletier (Apidae, Hymenoptera). *Apidologie*, 29: 221-228. doi: 10.1051/apido:19980302

Rebelo, K. S., Ferreira, A. G. & Carvalho-Zilse, G. A. (2016). Physicochemical characteristics of pollen collected by Amazonian stingless bees. *Ciência Rural*, 46: 927-932. doi: 10.1590/0103-8478cr20150999

Roubik, D.W. (1989). Ecology and natural history of tropical bees. New York: Cambridge University Press, 514 p

Sagili, R. R. & Pankiw, T. (2007). Effects of protein-constrained brood food on honey bee (*Apis mellifera* L.) pollen foraging and colony growth. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 61:1471-1478. doi: 10.1007/s00265-007-0379-1

Schmidt, J. O., Thoenes, S. C., & Levin, M. D. (1987). Survival of honeybees *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) fed with various pollen sources. *Annals of the Entomological Society of America*, 80:176-183. doi: 10.1093/aesa/80.2.176

- Slaa, E. J., Sánchez-Chaves, L. A., Malagodi-Braga, K. S. & Hofstede, F. E. (2006). Stingless bees in applied pollination: practice and perspectives. *Apidologie*, 37: 293-315. doi: 10.1051/apido:2006022
- Somerville, D. (2000). Honey bee nutrition and supplementary feeding, Agnote DAI/178, NSW. Agriculture
- Somerville, D. (2005). Fat bees skinny bees - a manual on honey bee nutrition for beekeepers. Australian Government. Rural Industries Research and Development Corporation. 150 p
- Souza, R. C. S., Yuyama, L. K. O., Aguiar, J. P. L. & Oliveira, F. P. M. (2004). Valor nutricional do mel e pólen de abelhas sem ferrão da região amazônica. *Acta Amazonica*, 34:333-336. doi: 10.1590/S0044-59672004000200021
- Silva, T. M. S., Camara, C. A., Lins, A. C. da S., Barbosa-Filho, J. M., da Silva, E. M. S., Freitas, B. M. & Santos, F. de A. R. dos (2006). Chemical composition and free radical scavenging activity of pollen loads from stingless bee *Melipona subnitida* Ducke. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19: 507-511. doi: 10.1016/j.jfca.2005.12.011
- Testa, P. R., Silva, A. N. & Zucoloto, F. S. (1980). Nutritional value of different pollen mixtures for *Nannotrigona (Scaptotrigona) postica*. *Journal of Apicultural Research*, 20:94-96. doi: <https://doi.org/10.1080/00218839.1981.111100479>
- Venturieri, G. C., Alves, D. A., Villas-Boas, J. K., Carvalho, C. A. L., Menezes, C., Vollet-Neto, A., Contrera, F. A. L., Cortopassi-Laurino, M., Nogueira-Neto, P., & Imperatriz-Fonseca, V. L. (2012). Meliponicultura no Brasil: situação atual e perspectivas futuras para uso na polinização agrícola. In: Imperatriz-Fonseca, V. L., Canhos, D. A. L., Alves, D. A. & Saraiva, A. M. (Eds.), *Contribuição e perspectivas para a biodiversidade, uso sustentável, conservação e serviços ambientais* (pp.213-236). São Paulo: EDUSP

Zucoloto, F. S. (1976). Valor nutritivo de alguns carboidratos para *Nannotrigona (Scaptotrigona) postica* (Hymenoptera, Apoidea). *Ciência e Cultura*, 28:193-194.

AUTHORS CONTRIBUTIONS

ACMQ, KLL, JCST and CM conceived the experimental design; ACMQ, KLL and JCST collected and analyzed data; FALC assisted with data analyses; ACMQ and KLL wrote initial draft of the manuscript and all authors contributed to subsequent revisions and gave final approval for publication.

Seção III

Alocação fenotípica em abelhas sem ferrão



**Alocação fenotípica na abelha sem ferrão Uruçu Cinzenta
(Apidae: Meliponini) em resposta a variação climática e ambiental**

Kamila Leão Leão, Jamille Costa Veiga, Felipe Andrés Leon Contrera, Cristiano Menezes

Alocação fenotípica na abelha sem ferrão Uruçu Cinzenta (Apidae, Meliponini) em resposta à variação climática e ambiental

RESUMO

Nas abelhas sem ferrão a alocação fenotípica pode ser influenciadas por diversos fatores internos e externos às colônias. O objetivo deste estudo foi investigar a alocação fenotípica como resposta a variações climáticas e ambientais, usando como modelo de estudo a abelha sem ferrão *Melipona fasciculata* Smith, 1854. Para isso, foram utilizadas 20 colônias de *M. fasciculata*, sendo dez localizadas no Meliponário de Tracuateua (área de floresta), e outras dez no Meliponário IRATAMA em Belém (área urbana). Calculamos a porcentagem de operárias, machos e rainhas virgens produzidos em cada favo amostrado e usamos modelos lineares de efeitos mistos generalizados (GLMMs) para testar se a estação (seca e chuvosa) afeta a porcentagem de operárias, machos e rainhas virgens produzidas na área de floresta e posteriormente avaliamos se o ambiente (área de floresta e área urbana) exerce influência sobre a porcentagem desses indivíduos. Um total de 7.800 indivíduos foi coletado das colônias localizadas na área de floresta ao longo de um período de 24 meses. Destes, 19,24% eram machos, 9.65% eram rainhas e 70.87% eram operárias. Nas duas coletas realizadas nas abelhas localizadas na área urbana foram coletados 2.000 indivíduos. Destes 10.1% eram machos, 9.4% eram rainhas e 80.5% eram operárias. Nossos resultados revelam que a alocação fenotípica em *M. fasciculata* está fortemente associada a variação climática (estação) e não a qualidade do ambiente (local). Mostramos nesse trabalho que na estação seca, em seu ambiente natural, as colônias de *M. fasciculata* apresentam uma maior produção de rainhas e uma menor produção de operárias.

Palavras-chave: Castas, Sexo, *Melipona fasciculata*

Phenotypic allocation in the stingless bee “Uruçu cinzenta” (Apidae, Meliponini) in response to climate and environmental variation

ABSTRACT

Phenotypic allocation in stingless bees can be influenced by several internal and external factors to the colonies. The aim of this study was to investigate phenotypic allocation as a response to climatic and environmental variation, using the stingless bee *Melipona fasciculata* Smith, 1854, as a study model. Twenty colonies of *M. fasciculata* were used, ten of which were located in the Meliponary of Tracuateua (forest area), and ten others at Meliponário IRATAMA in Belém (urban area). We calculated the percentage of workers, males and queens produced in each brood comb sampled and used generalized mixed effects linear models (GLMMs) to test effects of season (dry and rainy) and environment (forest and urban area) affected the percentage of virgin workers, males and queens produced. A total of 7800 individuals were collected from colonies located in the forest area over a period of 24 months. Of these 19.24% were males, 9.65% were queens and 70.87% were workers. In the two collections performed on bees located in the urban area, 2000 individuals were collected. Of these 10.1% were males, 9.4% were queens and 80.5% were workers. Our results reveal that phenotypic allocation in *M. fasciculata* is strongly associated with seasonal variation rather than local environment quality. We show in this work that in the dry season, in their natural environment, the colonies of *M. fasciculata* have a higher production of queens and a lower production of workers.

Keyword: Castes, Sex, *Melipona fasciculata*

INTRODUÇÃO

Nos insetos eusociais a estratégia de alocação de recursos é caracterizada por um período de crescimento, seguido por um único período de produção de sexuais (Macevicz & Oster, 1976). Contudo, existem espécies, onde a estratégias de investimento se caracteriza por uma produção simultânea de trabalhadores e sexuais em resposta a flutuações ambientais ou a disponibilidade de alimentos (Mitesser et al., 2007).

Nos Hymenopteras sociais, a casta é determinada de forma irreversível no estágio imaturo (Bourke & Ratnieks, 1999; Luna-Lucena et al., 2019). Assim, a alocação de recursos para a produção de trabalhadores ou reprodutores (novas rainhas e machos) durante a oviposição é crucial para manutenção, crescimento e reprodução da colônia (Mitesser et al., 2007).

As abelhas sem ferrão (tribo Meliponini), ao contrário de outras espécies de abelhas, vivem em colônias permanentes, compostas geralmente por uma rainha, centenas a milhares de operárias e dezenas a centenas de machos (Roubik, 2006; Michener, 2013). Nessas abelhas a determinação sexual é genética e está relacionado à haplodiploidia, isso significa que, um óvulo não fertilizado se torna um macho, enquanto o ovo fertilizado se torna uma fêmea (Hamilton, 1964). Dependendo da época do ano, até 15% dos indivíduos em uma colônia podem ser machos (Francini et al., 2012). E a diferenciação de castas é, na maioria dos casos, o resultado de uma nutrição diferente, ou seja a quantidade de alimento é o fator que determina o fenótipo feminino de uma rainha ou de uma operária (Wilde & Beetsma, 1982; Wheeler, 1986). Assim, as fêmeas aparecem em duas castas, operárias e rainhas.

Na maioria dos gêneros da tribo Meliponini, as larvas que originarão operárias e machos são criadas em células do mesmo tamanho, e as rainhas são produzidas em uma célula de cria maior que contém mais comida (Darchen & Delage-Darchen, 1971). Contudo, alguns gêneros desenvolveram mecanismos alternativos. No gênero *Melipona*, as rainhas são produzidas em células

do mesmo tamanho das células de operárias e machos. Nesse grupo, o sistema de determinação de castas é mais complexo e envolve tanto elementos genéticos quanto ambientais (para mais detalhes ver Kerr et al., 1966; Engels & Imperatriz-Fonseca 1990; Ratnieks, 2001; Wenseleers et al., 2003; Nogueira-Neto, 1997; Roubik, 2006; Menezes et al., 2007). E embora a alimentação não seja o gatilho inicial para determinação de castas em *Melipona*, estudos mostram que a alimentação interfere na expressão do fenótipo (Jarau et al., 2010; Brito et al., 2013).

O pólen e o néctar são as principais fontes de alimento das abelhas sem ferrão, portanto as condições climáticas que afetam a floração ao longo do ano influenciam o ciclo de vida e a alocação de castas nestas abelhas (Santos et al., 2014; Maia-Silva et al., 2015). Além disso, modificações na paisagem, causadas pelo desmatamento, urbanização e crescimento das áreas de cultivo agrícola também podem afetar o fornecimento de recursos alimentares (Martins et al., 2004; Brosi et al., 2008; Benjamin et al., 2014; Wratten et al., 2012).

Estudos mostram que a produção de machos pode dobrar ou triplicar durante as estações com maior oferta de recursos alimentares, a exemplo de *Melipona favosa* (Fabricius 1798), *Melipona subnitida* Ducke 1910 e *Melipona beecheii* Bennett, 1831 (Koedam et al., 1999; Moo-Valle et al., 2001; Sommeijer et al., 2003).

Na região amazônica, a pluviosidade é a variável ecológica que apresenta maior importância (Amanajás & Braga, 2012). A disponibilidade de recursos alimentares é fortemente influenciada por essa variável, resultando em duas estações para as abelhas, uma com muitos recursos florais (estação seca) e outra com poucos (estação chuvosa).

Estudos realizados na região amazônica mostram que as abelhas do gênero *Melipona*, por exemplo, apresentaram diferenças em termos de longevidade (Gomes et al., 2015), tamanho corporal e estoques de alimento (Veiga et al., 2013). Durante a estação seca, a longevidade das operárias é menor do que na estação de chuvosa (para *Melipona fasciculata* Smith, 1854; Gomes et

al., 2015), ocorrendo o contrário com seu tamanho corporal (para *Melipona flavolineata* Friese, 1900; Veiga et al., 2013). Isso indica que embora a disponibilidade sazonal de recursos afete a expectativa de vida dos indivíduos, as abelhas respondem a essa variação ambiental modificando seu raio de voo e, conseqüentemente, sua área de forrageamento.

Em um estudo sobre a influência de fatores ambientais na alocação de castas em duas espécies de *Melipona*, Brito et al. (2013) descobriram que a alocação de castas entre as espécies responde de maneira diferente às restrições ambientais. Em *Melipona interrupta* Latreille, 1811, a alocação de castas foi negativamente correlacionada com a precipitação acumulada. Contudo, em *Melipona seminigra* Friese, 1903, a alocação de castas não foi afetada por fatores ambientais (precipitação acumulada, temperatura, horas do dia, umidade).

Neste contexto, o presente estudo investigou a alocação fenotípica como resposta a variações climáticas e ambientais, usando como modelo de estudo a abelha sem ferrão *Melipona fasciculata* Smith, 1854. Testamos a hipótese de que a qualidade do ambiente (local) e a estação determinam os padrões de alocação fenotípica (sexo e castas) em *M. fasciculata*. Considerando que a disponibilidade de recursos alimentares varia temporal e espacialmente, testamos as seguintes predições: a produção de machos será maior na estação seca, bem como na área de ocorrência natural dessas abelhas. Esperamos que a proporção de rainhas virgens se mantenha, independente da variação climática e ambiental.

MATERIAL E MÉTODOS

Espécie estudada

Melipona fasciculata Smith, 1854, é uma espécie criada por centenas de criadores tradicionais no estado do Pará e Maranhão (Kerr, 1996; Venturieri et al., 2003). É conhecida popularmente como Uruçu-Cinzenta, e é considerada uma excelente produtora de mel (Venturieri et al., 2003; Jaffé et al., 2015), além de ser importante para a polinização de plantas como tomate, berinjela e pimentão, uma vez que possuem a capacidade de acessar o pólen armazenado em anteras poricidas através da intensa vibração do corpo, realizando portanto a polinização por vibração (Venturieri et al., 2012; Nunes-Silva et al., 2013).

Áreas de estudo

O estudo foi realizado em duas localidades: (i) Local 1: Área de ocorrência natural da espécie: meliponário localizado na casa de meliponicultor na região de Tracuateua (comunidades da Fleixeira), Pará, Brasil, (0°57'30"S, 46°50'0"W) que vamos categorizar a partir daqui como área com maior cobertura florestal (área de floresta) e (ii) Local 2: Área de criação no meliponário IRATAMA localizado dentro da Embrapa Amazônia Oriental (1°26'11.52"S, 48°26'35.50"W) em Belém, Pará, Brasil, que vamos categorizar a partir deste ponto como área com menor cobertura florestal (área urbana).

O município de Tracuateua localiza-se na microrregião Bragantina a 188 km da capital Belém. A região é constituída principalmente de vegetação secundária de baixo porte, conhecidas regionalmente como capoeiras. A vegetação natural compreende florestas de mangue, várzea, igapós e de matas ciliares de igarapés. Parte do município encontra-se numa área de Reserva Extrativista Marinha – RESEX, cujo objetivo é a preservação da área costeira. Tanto a vegetação

secundária como as de matas inundáveis, favorecem a produção de mel (Venturieri et al., 2003; Fernandes et al., 2012).

O clima da região é quente e úmido, com uma estação seca entre Julho e Novembro (com precipitação inferior a 60 mm), período em que ocorre a produção de mel na região e uma chuvosa, entre Dezembro e Junho. A precipitação pluviométrica média anual é de 3.543 mm, temperatura média de 27,7°C, e umidade relativa do ar em torno de 84% (Oliveira-Jr. et al., 1999), sendo o clima classificado de acordo com Köppen como Af (Peel et al., 2007).

A Embrapa está localizada na região metropolitana de Belém, em uma área de preservação ambiental, onde podem ser encontradas diversas espécies tropicais, nativas e introduzidas. A precipitação média anual é de 2.537 mm e a temperatura média é de 26.8 °C. O tipo climático de Belém obedece ao padrão Afi, de acordo com a escala de Köppen (Peel et al., 2007).

Considerando um raio de voo estimado em 2 km para *M. fasciculata* (Araújo, 2004), as colônias mantidas no meliponário em Tracuateua tiveram acesso a uma maior cobertura florestal que aquelas localizadas em Belém, devido a área urbana no seu entorno.

Colônias de abelhas

Para este estudo foram utilizadas 20 colônias de *M. fasciculata*, sendo 10 localizadas no Meliponário de Tracuateua (área de floresta), e outras 10 no Meliponário IRATAMA em Belém (área urbana). Todas as colônias estavam acomodadas em caixas de criação de madeira (modelo Embrapa; Venturieri, 2008).

As colônias foram previamente selecionadas com base na observação direta dos componentes do ninho (favos, população e estoque de alimento), e no início da amostragem apresentavam condições de desenvolvimento equivalentes (fortes).

Durante a realização do estudo, as colônias estavam dispostas em abrigos coletivos, e não foram alimentadas de forma artificial.

Amostragem dos favos

Um único favo de cria contendo pupas foi removido de cada colônia e levado para o laboratório, onde as tampas (invólucro) de 100 células por favo (Fig. 1A) foram removidas para permitir a identificação dos indivíduos através da morfologia da cabeça, segundo a metodologia apresentada em Koedam (2003) (Fig.1B). Na área de floresta, esse procedimento ocorreu a cada três meses, entre os anos de 2016 e 2018, totalizando oito amostragens por colônia (quatro no período seco, e quatro no período chuvoso); enquanto que na área urbana, as amostragens ocorreram apenas no ano de 2016, com o intervalo de seis meses, totalizando duas amostragens por colônia (uma no período seco e uma no período chuvoso) (Tabela 1).

Foram analisados 78 favos de cria nas colônias localizadas na área de floresta (pois duas colônias não apresentaram favos de cria na fase de pupa no período da coleta) e 20 favos de cria nas colônias da área urbana.

Para avaliar a influência do ano na amostragem da área de floresta categorizamos as coletas em dois anos, sendo o Ano 1 com maior influência da estação seca e o Ano 2 com maior influência da estação chuvosa.

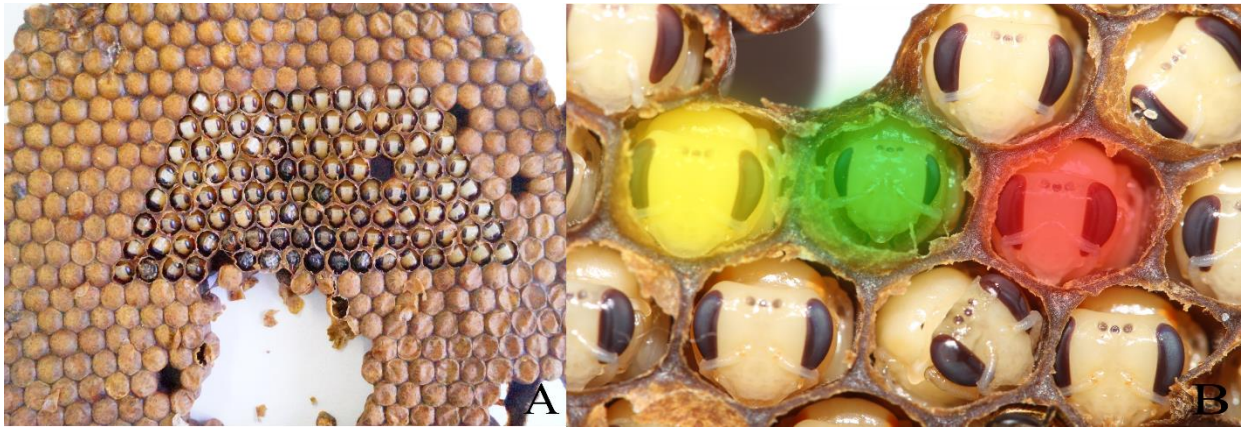


Figura 1. A - Favo de cria de *Melipona fasciculata* com 100 células desoperculadas. B – Detalhe do favo de cria, destacando uma abelha operária (amarelo), uma rainha virgem (verde) e um macho (vermelho), todos em estágio de pupa com olhos pigmentados.

Análises de dados

Calculamos a porcentagem de operárias, machos e rainhas produzidos em cada favo amostrado e usamos modelos lineares de efeitos mistos generalizados (GLMMs) para testar se a estação (seca e chuvosa) afeta a porcentagem de operárias, machos e rainhas virgens produzidas na área de floresta. Incluímos o ano de coleta como um preditor para considerar a influência do ano nas análises e um efeito aleatório para a colônia de origem. Utilizamos um modelo com distribuição binomial para operárias e rainhas virgens e para os machos foi utilizado um modelo com distribuição de Poisson. Para isso utilizamos o pacote R "*GLMMadaptive*" (Rizopoulos, 2019).

O teste de correlação de Spearman foi realizado para observar a relação entre a porcentagem de operárias, machos e rainhas virgens. Além disso, utilizamos modelos mistos lineares generalizados (GLMMs) para avaliar o efeito do local e da estação na porcentagem de operárias, machos e rainhas virgens produzidas nas duas áreas (floresta e urbana), utilizando as mesmas características dos modelos descritos acima.

Nas duas análises, construímos dois modelos com dois preditores (avaliando a interação entre eles) e dois modelos simples. Utilizamos o teste de "likelihood ratio tests" para avaliar a

qualidade de ajuste do melhor modelo em relação a um modelo nulo estatístico contendo apenas o intercepto (Johnson & Omland, 2004). Os modelos foram selecionados usando a função *dredge* no pacote R “MuMIn” (valores AICc) (Barton, 2019). Todas as análises foram realizadas por meio de pacotes, citados acima, no programa R (R Core Team, 2018) e, quando aplicável, os resultados foram visualizados usando o pacote R “*ggplot2*” (Wickham, 2016).

RESULTADOS

Um total de 7.800 indivíduos foi coletado nas colônias localizadas na área de floresta ao longo de um período de 24 meses. Destes 19,24% eram machos, 9,65% eram rainhas e 70,87% eram operárias. Nas duas coletas realizadas nas abelhas localizadas na área urbana foram coletados 2.000 indivíduos. Destes 10,1% eram machos, 9,4% eram rainhas e 80,5% eram operárias. As médias e desvios padrão para cada mês de amostragem estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Número de indivíduos por fenótipo (Operárias, Machos e Rainhas virgens) encontrados em colônias (n=10) da abelha sem ferrão *Melipona fasciculata*. Média e Desvio padrão.

Mês	Local 1: área de floresta (n=78)			Local 2: área urbana (n=20)		
	Operárias Média \pm DV	Rainhas virgens Média \pm DV	Machos Média \pm DV	Operárias Média \pm DV	Rainhas virgens Média \pm DV	Machos Média \pm DV
Jan/2016	55,6 \pm 10,74	12,3 \pm 5,37	32,1 \pm 13,60	--	--	--
Mai/2016	71,1 \pm 14,32	7 \pm 2,21	21,9 \pm 15,57	75,3 \pm 19,47	8,9 \pm 4,20	15,8 \pm 22,04
Set/2016	69,7 \pm 13,47	13 \pm 2,54	17,3 \pm 14,27	--	--	--
Dez/2016	67,7 \pm 16,52	11,5 \pm 3,63	20,8 \pm 15,45	85,7 \pm 6,98	11,3 \pm 4,52	3 \pm 6,18
Abril/2017 *	64,88 \pm 15,28	10,33 \pm 5,24	24,77 \pm 13,30	--	--	--
Julho/2017	78,5 \pm 18,60	8,6 \pm 4,48	12,9 \pm 14,79	--	--	--
Nov/2017*	67,22 \pm 20,39	8,7 \pm 4,71	24 \pm 19,75	--	--	--
Fev/2018	91,3 \pm 6,60	7,5 \pm 5,02	1,2 \pm 3,79	--	--	--

*A média nesses meses foi feita considerando n=9 pois em uma das colônias do experimento não existia disco maduro para coleta.

Na população da área de floresta o número máximo de operárias foi 98 e o mínimo foi 40, e na população da área urbana o número máximo encontrado foi 98 e o mínimo foi 37. Foram encontrados favos de crias sem machos nos dois locais. Na área de floresta 26,9% dos favos não tinham machos e na área urbana 45% dos favos amostrados não tinham machos. Na área de floresta o número máximo de machos por favo foi 52 e na área urbana, o número máximo encontrado foi 62. Foram encontradas rainhas virgens em todos os favos de cria amostrados. Na população da área de floresta o número máximo de rainhas por favo foi 22 e o mínimo foi dois, e na população da área urbana, o número máximo encontrado foi 18 e o mínimo foi um.

Na área de floresta, a porcentagem de machos é correlacionada negativamente com a porcentagem de operárias ($R = -0,963$, $p < 0,001$), mas não se correlacionou significativamente com

a porcentagem de rainhas virgens ($R=0,147$ $p=0,199$). E a porcentagem de operárias e rainhas virgens apresentou uma correlação significativa e negativa ($R= - 0,373$, $p= 0,0008$).

Influência da variação climática na alocação fenotípica

A porcentagem de operárias e rainhas virgens produzidas na área de floresta foi melhor explicada pela variável ano, enquanto que a porcentagem de machos produzidos foi melhor predito pela estação (Tabela 2). As rainhas virgens foram produzidas mais no ano 1 (com maior influência do período seco; Fig. 2A) e as operárias no ano 2 (com maior influência do período chuvoso; Fig. 2B) os machos não apresentaram diferença entre as estações ($p=0.3919$; Tabela 3). Dessa maneira, não temos acesso aos parâmetros estatísticos do possível efeito da estação sobre a porcentagem de machos produzidos na área de floresta.

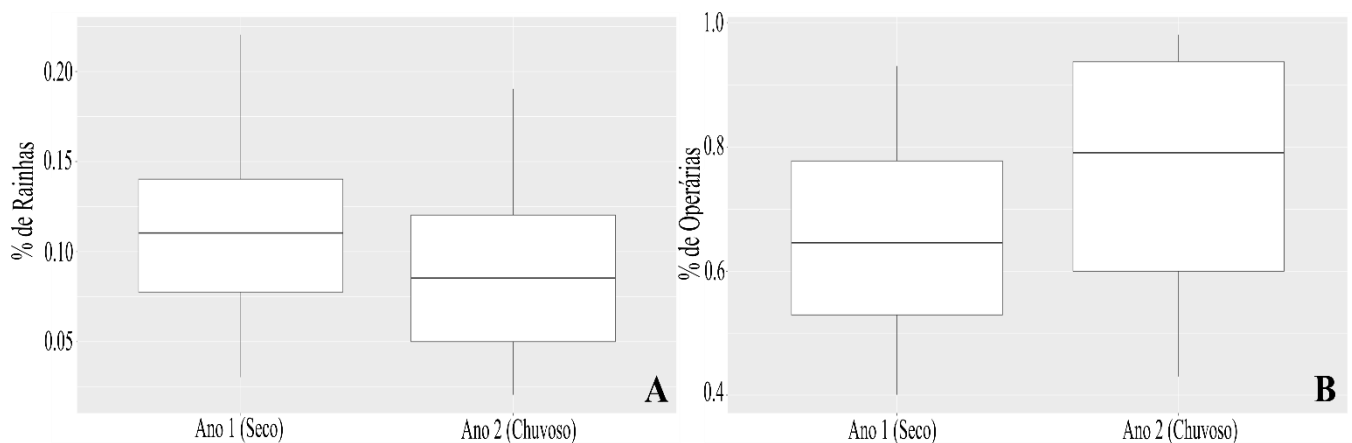


Figura 2. Efeito do ano sobre a porcentagem de rainhas virgens e operárias produzidas na área de floresta. A - Diferença na porcentagem de rainhas virgens produzidas entre os anos de coleta. B - Diferença na porcentagem de operárias produzidas entre os anos de coleta. A linha que divide a caixa em duas partes representa a mediana dos dados.

Influência do ambiente na alocação fenotípica

Quando avaliamos se existe influência do local na alocação fenotípica, encontramos que apenas a porcentagem de machos sofre influência do local (Tabela 2). No entanto, a diferença na porcentagem de machos produzidos entre locais não foi significativa ($p= 0.3518$; Tabela 3). A porcentagem de operarias e rainhas virgens foi melhor predito pela estação (Tabela 2). A porcentagem de rainhas virgens produzidas na estação seca foi maior que na estação chuvosa (Fig. 3). Contudo, a porcentagem de operarias não apresentou diferença significativa entre as estações. Assim, não temos acesso aos parâmetros estatísticos do possível efeito da estação sobre a porcentagem de operarias produzidas em cada local.

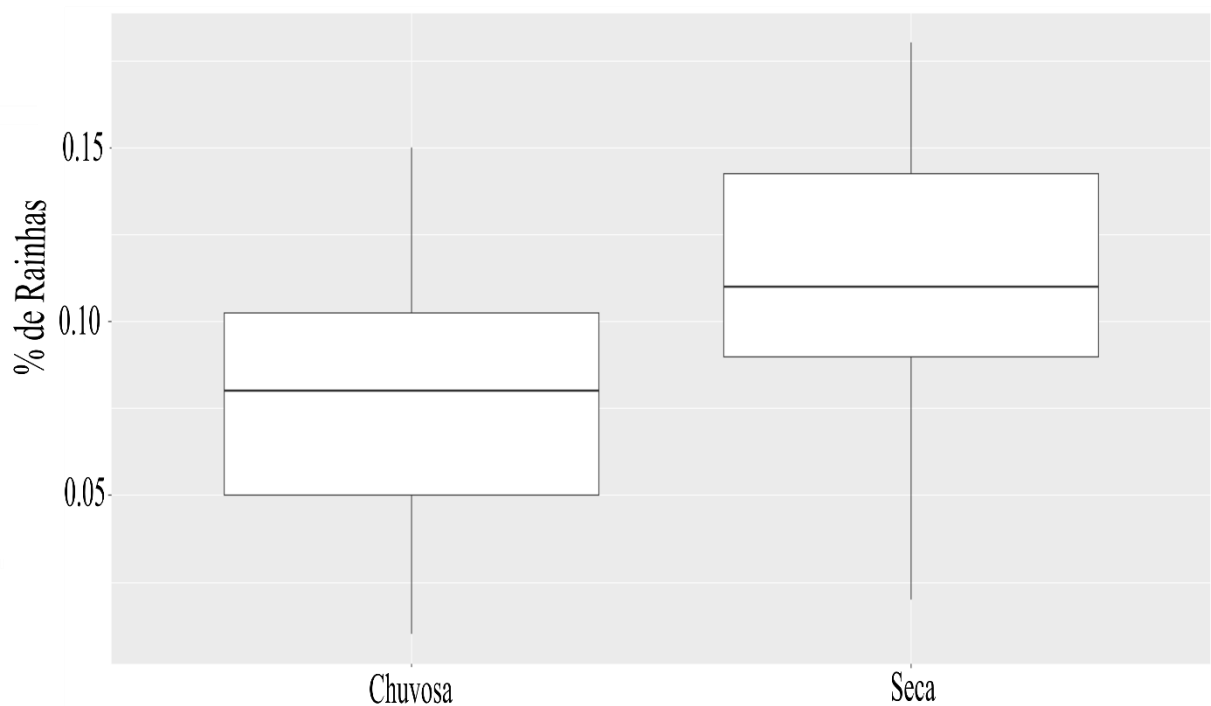


Figura 3. Efeito da estação sobre a porcentagem de rainhas virgens produzidas nos dois locais (área de floresta e área urbana). A linha que divide a caixa em duas partes representa a mediana dos dados.

Tabela 2. Tabela de seleção de modelos. Todos os modelos e os valores de importância de todos os preditores são apresentados. O modelo selecionado ($\Delta AICc < 2$) é destacado em negrito. Para cada modelo são apresentados o AICc, a diferença em AICc entre o melhor modelo e os modelos seguintes ($\Delta AICc$), o peso das evidências (weight) e a probabilidade (p).

Episodio	Resposta	Modelos	Preditores	df	logLik	AICc	Δ AIC	Weight
Área de floresta	Operárias	Modelo 3	Ano	4	27,335	-38,7	0,00	0,974
		Modelo 2	Estação + Ano	5	28,119	-31,2	7,43	0,024
		Modelo 4	Estação	4	21,277	-26,6	12,11	0,002
		Modelo 1	Estação * Ano	6	28,203	-16,4	22,26	0,000
	Machos	Modelo 4	Estação	3	-34,244	78,5	0,00	0,499
		Modelo 3	Ano	3	-34,298	78,6	0,11	0,473
		Modelo 2	Estação + Ano	4	-34,162	84,3	5,84	0,027
		Modelo 1	Estação * Ano	5	-34,034	93,1	14,58	0,000
	Rainhas	Modelo 3	Ano	4	126,955	-237,0	0,00	0,776
		Modelo 4	Estação	4	125,060	-234,1	3,79	0,117
		Modelo 2	Estação + Ano	5	129,468	-233,0	3,97	0,106
		Modelo 1	Estação*Ano	6	132,253	-224,5	13,40	0,001
Área de floresta x Área urbana	Operárias	Modelo 4	Estação	4	22,143	-28,3	0,00	0,708
		Modelo 3	Local	4	21,252	-26,5	1,78	0,290
		Modelo 2	Estação + Local	5	20,881	-16,8	11,52	0,002
		Modelo 1	Estação*Local	6	19,257	1,5	29,77	0,000
	Machos	Modelo 3	Local	3	-15,115	40,2	0,00	0,558
		Modelo 4	Estação	3	-15,428	40,9	0,63	0,408

	Modelo 2	Estação + Local	4	-14,949	45,9	5,67	0,033
	Modelo 1	Estação*Local	5	-14,633	54,3	14,03	0,001
Rainhas	Modelo 4	Estação	4	68,612	-121,2	0,00	0,979
	Modelo 3	Local	4	64,091	-112,2	9,04	0,011
	Modelo 2	Estação + Local	5	68,571	-112,1	9,08	0,010
	Modelo 1	Estação*Local	6	68,506	-97,0	24,21	0,000

Tabela 3. Teste de hipótese para cada modelo selecionado e os valores de p do Likelihood Ratio Teste (LRT).

Episódio	Resposta	Modelo Selecionado	Estimate	SE	p-value	LRT
Área de floresta	Operárias	Modelo 3	0,9904	0,1816	< 0,001	<0,001
	Machos	Modelo 4	0,4533	0,5295	0,3919	0,3956
	Rainhas	Modelo 3	0,4252	0,1167	0,0003	<0,001
Área de floresta	Operárias	Modelo 4	0,1961	0,2425	0,4186	0,8382
x						
Área urbana						
	Machos	Modelo 3	0,8140	0,8742	0,3518	0,3347
	Rainhas	Modelo 4	0,5392	0,1414	0,0001	0,0034

Os valores de LRT refere-se ao likelihood ratio tests, nos quais o modelo selecionado foi comparado com um modelo nulo.

DISCUSSÃO

Com este estudo procuramos compreender como a variação climática (estações seca e chuvosa) e o ambiente (área de floresta e área urbana) tem influenciado a alocação fenotípica na espécie *M. fasciculata*. Uma das principais espécies produtoras de mel no estado do Pará e com potencial para ser utilizada na polinização de cultivos protegidos (Venturieri et al., 2003; Nunes-Silva et al., 2013). Nossos resultados revelam que a alocação fenotípica em *Melipona fasciculata* está fortemente associada à variação climática (estação) e não a qualidade do ambiente (local).

Nossas descobertas sugerem que a produção de rainhas virgens é influenciada pela estação e ano (sendo maior na estação seca), mas não pelo local. A produção de machos foi explicada pelas variáveis estação e local, contudo, sem apresentar diferença significativa. E a estação e o ano de coleta exerceram influência sobre a porcentagem de operárias produzidas, apresentando diferença entre anos.

Considerando que, na região amazônica existem duas estações para as abelhas: uma com muitos recursos florais (estação seca) e outra com poucos (estação chuvosa) e que essas estações

distintas influenciam os estoques de alimento nas colônias, acreditamos que durante a estação seca a quantidade de alimento armazenado nos ninhos eram maiores do que durante a estação chuvosa (Veiga et al., 2013).

Em relação à porcentagem de rainhas produzidas, nossos resultados corroboram com outros estudos realizados com espécies do gênero *Melipona*, onde a variação sazonal ou a disponibilidade de comida também influencia a produção de rainhas (van Veen et al., 1999; Moo-Valle et al., 2001; Morais et al., 2006). Uma possível explicação é que embora a nutrição não seja o principal fator para determinação de castas no gênero *Melipona*, estudos mostraram que a alimentação pode interferir na expressão do fenótipo desde que as larvas sejam geneticamente predispostas a esse caminho (Jarau et al., 2010) ou seja, é necessário uma certa quantidade de alimento para a diferenciação de rainhas (Kerr et al., 1966), e uma restrição nessa dieta (estação chuvosa) pode diminuir a produção de rainhas nas colônias.

Estudos mostram que em épocas do ano com maior disponibilidade de recursos tróficos (estação seca em nosso estudo), a quantidade de alimento larval depositado nas células de cria é maior em relação às épocas menos favoráveis em algumas espécies de abelhas sem ferrão (Ramalho et al., 1998, Castilho-Hyodo, 2001; Ribeiro et al., 2003; Menezes, 2010).

Por outro lado, a porcentagem de machos produzidos em área de floresta não diferiu entre as estações e nem entre locais (área de floresta e área urbana), refutando a nossa hipótese inicial de que a produção de machos seria maior na estação seca, bem como na área de ocorrência natural das abelhas (Sommeijer et al., 2003; Moo-Valle et al. 2001; Morais et al., 2006). A produção masculina nas colônias de abelhas sem ferrão é influenciada por fatores externos relacionados às condições climáticas e fatores intrínsecos às colônias, como estoque de alimento (em especial pólen) e tamanho da população (Engels & Imperatriz-Fonseca, 1990; Koedam, 1999; Velthuis et al., 2005; Morais et al., 2006, Moo-Valle et al., 2001, Lacerda et al., 2010). Assim, é possível que a

produção masculina das colônias avaliadas nesse estudo tenha sido influenciada mais pelas condições internas dos ninhos do que pelas condições externas avaliadas por nos nesse estudo, de acordo com os resultados encontrados por Morais et al. (2006).

A maior porcentagem de operárias encontrada na estação chuvosa neste estudo, pode ser explicada pelo menor investimento das colônias na produção de sexuais nesse período (já que elas investem menos na produção de rainhas nessa estação) e maior investimento em crescimento e na manutenção do ninho (Oster & Wilson, 1978). Haja vista que são as operárias que desempenham as atividades fundamentais para o funcionamento da colônia (Wille, 1983).

Nos ninhos de *M. fasciculata* localizados em área de floresta, encontramos um *trade-off* entre a porcentagem de machos e a porcentagem de operárias, e também entre a porcentagem de rainhas e operárias. Contudo, não encontramos uma relação significativa entre a porcentagem de machos e rainhas, corroborando com o estudo de Moo-Valle et al. (2001), porém diferente do estudo realizado em Ribeirão Preto por Morais et al. (2006) com *Melipona compressipes fasciculata*.

Nossos resultados corroboram com o trabalho de Brito et al. (2013) que mostrou que existe influência de fatores ambientais (precipitação pluviométrica) na alocação de castas na espécie *Melipona interrupta*.

O conhecimento sobre quais fatores afetam a alocação de indivíduos na espécie *M. fasciculata* ajuda a entender a história de vida dessas abelhas e também fornece importantes informações para sua manutenção e criação racional. Com nosso estudo, mostramos que na estação seca, em seu ambiente natural, as colônias de *M. fasciculata* apresentam uma maior produção de rainhas e uma menor produção de operárias.

REFERÊNCIAS

- Amanajás, J. C., Braga, C. C. (2012). Padrões Espaço-Temporal Pluviométricos na Amazônia Oriental utilizando Análise Multivariada. *Revista Brasileira de Meteorologia*, 27 (4): 423-434
- Araujo, E. D., Costa, M., Chaud-Netto, J., Fowle, H. G. (2004). Body size and flight distance in stingless bees (Hymenoptera: Meliponini): Inference of flight range and possible ecological implications, *Braz. J. Biol*, 64: 563–568
- Barton, K. (2019). MuMIn: Multi-Model Inference. R package version 1.43.6. <https://CRAN.R-project.org/package=MuMIn>
- Benjamin, F. E., Reilly, J. R., Winfree, R. (2014). Pollinator body size mediates the scale at which land use drives crop pollination services. *Journal of Applied Ecology*, 51 (2):440-449. doi: 10.1111/1365-2664.12198
- Bourke, A. F. G., Ratnieks, F. L. W. (1999). Kin conflict over caste determination in social Hymenoptera. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 46:287–297. doi: 10.1007/s002650050622
- Brito, D. V., Nunes, R. A., Pequeno, P. A. C. L., Nunes-Silva, C. G., Carvalho-Zilse, G. A. (2013). Differential environmental effects on caste allocation in two Amazonian *Melipona* bees. *Apidologie*, 44(6):666–672. doi: 10.1007/s13592-013-0215-8
- Brosi, B. J., Daily, G. C., Shih, T. M., Oviedo, F., Durán, G. (2008). The effects of forest fragmentation on bee communities in tropical countryside. *J Appl Ecol.*, 45(3):773–783. doi: 10.1111/j.1365-2664.2007.01412
- Castilho-Hyodo, V. C. C. (2001). Rainha ou operária? Um ensaio sobre a determinação de castas em *Schwarziana quadripunctata* (Lepeletier, 1836) (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). *Tese de Doutorado*, USP, São Paulo, 133p

- Darchen, R., Delage-Darchen, B. (1971). Le déterminisme des castes chez les Trigones (Hyménoptères, Apidés). *Insectes Sociaux*, 18: 121-134. doi: 10.1007/BF02223117
- Engels, W., Imperatriz-Fonseca, V. L. (1990). 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* Springer-Verlag, Berlin. 167–230 p doi: 10.1007/978-3-642-74490-7_9
- Fernandes, M. M., Venturieri, G. C., Jardim, M. A. G. (2012). Biologia, visitantes florais e potencial melífero de *Tapirira Guianensis* (Anacardiaceae) na Amazônia Oriental. *Revista de Ciências Agrárias*, 55: 167–175. doi: 10.4322/rca.2012.058
- Francini, I. B, Nunes-Silva, C. G, Carvalho-Zilse, G. A. (2012). Diploid male production of two Amazonian *Melipona* bees (Hymenoptera: Apidae). *Psyche* 1:1–7. doi: 10.1155/2012/484618
- Gomes, R. L. C., Menezes, C., Contrera, F. A. L. (2015). Worker longevity in an Amazonian *Melipona* (Apidae, Meliponini) species: effects of season and age at foraging onset. *Apidologie*, doi: 10.1007/s13592-014-0309-y
- Hamilton, W. D. (1964). The genetical evolution of social behaviour. II. *J. Theor. Biol.* 7: 17-52. doi: 10.1016/0022-5193(64)90039-6
- Jaffé, R., Pope, N., Carvalho, A. T., Maia, U. M., Blochtein, B., de Carvalho, C.A.L. (2015). Bees for development: Brazilian survey reveals how to optimize stingless beekeeping. *PLoS One*, doi: 10.1371/ journal.pone.0121157
- Jarau, S., van Veen, J. W., Twele, R., Reichle, C., Gonzales, E.H., Aguilar, I., Francke, W., Ayasse, M. (2010). Workers make the queens in *melipona* bees: identification of geraniol as a caste determining compound from labial glands of nurse bees. *J. Chem. Ecol.*, 36(6):565–569. doi: 10.1007/s10886-010-9793-3

- Johnson, J. B., Omland, K. S. (2004). Model selection in ecology and Evolution. *Trends in Ecology and Evolution*, 19 (2). doi: 10.1016/j.tree.2003.10.013
- Kerr, W. E. (1996). *Biologia e Manejo da Tiúba, a Abelha do Maranhão*, EDUFMA: São Luís.
- Kerr, W.E., Stort, A.C., Montenegro, M.J. (1966). Importância de alguns fatores ambientais na determinação das castas do gênero *Melipona*. *An. Acad. Bras. Cienc*, 38(1): 149–168
- Koedam, D. (2003). 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*, UNESCO, 153–156 p
- Koedam, D., Contrera, F. A. L., Imperatriz-Fonseca, V. L. (1999). Clustered male production by workers in the stingless bee *Melipona subnitida* Ducke (Apidae, Meliponinae). *Insectes Sociaux*, 46: 387-391. doi: 10.1007/s000400050161
- Lacerda, L. M., Simões, Z. L. P., Velthuis, H. H. W. (2010). The sharing of male production among workers and queens in *Scaptotrigona depilis* (Moure, 1942) (Apidae, Meliponini). *Insect Soc.*, 57:185–192
- Luna-Lucena, D., Rabico, F., Simões, Z. L.P. (2019). Reproductive capacity and castes in eusocial stingless bees (Hymenoptera: Apidae) *Current Opinion in Insect Science*, 31:20–28. doi: 10.1016/j.cois.2018.06.006
- Macevicz, S., Oster, G. (1976). Modeling Social Insect Populations II: Optimal Reproductive Strategies in Annual Eusocial Insect Colonies. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 1,265-282. doi: 10.1007/BF00300068
- Maia-Silva, C., Hrncir, M., Silva, C. I. da, Imperatriz-Fonseca, V.L. (2015). Survival strategies of stingless bees (*Melipona subnitida*) in an unpredictable environment, the Brazilian tropical dry forest. *Apidologie*, doi: 10.1007/s13592-015-0354-1

- Martins, C. F., Laurino, M. C., Koedam, D., Imperatriz-Fonseca, V. L. (2004). Tree species used for nidification by stingless bees in the Brazilian Caatinga (Seridó, PB; João Câmara, RN). *Biota Neotropica*, 4 (2): 1-8. doi: 10.1590/S1676-06032004000200003
- Menezes, C. (2010). A produção de rainhas e a multiplicação de colônias em *Scaptotrigona* aff. *depilis* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). Tese de Doutorado. USP, São Paulo. 97p
- Menezes, C., Bonetti, A. M., Amaral, I. M. R., Kerr, W. E. (2007). Alimentação larval de *Melipona* (Hymenoptera, Apidae): estudo individual das células de cria. *Bioscience Journal*, 23(1): 70-75.
- Michener, C. D. (2013). The Meliponini. In: Vit P., Pedro S. R. M., Roubik D. (eds), *Pot-honey: A legacy of stingless bees*. Springer, New York, 3–17p. doi:10.1007/978-1-4614-4960-7_1
- Mitesser, O., Weissel, N., Strohm, E., Hans-Joachim, P. (2007). Adaptive dynamic resource allocation in annual eusocial insects: environmental variation will not necessarily promote graded control. *BMC Ecology*, 7:16p. doi:10.1186/1472-6785-7-16
- Moo-Valle H., Quezada-Euán J. J. G., Wenseleers T. (2001). The effect of food reserves on the production of sexual offspring in the stingless bee *Melipona beecheii* (Apidae, Meliponini). *Insectes Sociaux*, doi: 10.1007/PL00001797
- Morais, M. M., Nascimento, F. S., Pereira, R. A., Bego, L. R. (2006). Colony internal conditions related to caste production in *Melipona compressipes fasciculata* (Apidae, Meliponini). *Insectes Sociaux*, doi: 10.1007/s00040-006-0867-8
- Nogueira-Neto, P. (1997). *Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão*. Editora Nogueirapis, São Paulo, 447p
- Nunes-Silva, P., Hrnčir, M., Silva, C. I. da., Roldão, Y. S. O., Imperatriz-Fonseca, V. L. (2013). Stingless bees, *Melipona fasciculata*, as efficient pollinators of eggplant (*Solanum melongena*) in greenhouses. *Apidologie*, 44 (5): 537-546. doi: 10.1007/s13592-013-0204-y

- Oliveira-Junior, R. C. de., Santos, P. L. dos., Rodrigues, T. E., Valente, M. A. (1999). Zoneamento agroecológico do município de Tracuateua, Estado do Pará. Belém: Embrapa Amazônia Oriental. 45p (Embrapa Amazônia Oriental. Documentos, 15).
- Oster, G. F., Wilson, E. O. (1978). Caste and Ecology in the Social Insects. Princeton University Press, Princeton, 352 p
- Peel, M. C., Finlayson, B. L., McMahon, T. A. (2007). Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. *Hydr. Earth Syst. Sci.*, doi: 10.5194/hess-11-1633-2007
- R Core Team (2018) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL: <https://www.R-project.org/>
- Ramalho, M., Imperatriz-Fonseca, V. L., Giannini, T. C. (1998). Within-colony size variation of foragers and pollen load capacity in the stingless bee *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lepeletier (Apidae, Hymenoptera). *Apidologie*, 29: 221-228. doi: 10.1051/apido:19980302
- Ratnieks, F. L.W. (2001). Heirs and spares: caste conflict and excess queen production in *Melipona* bees. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 50:467-473. doi: 10.1007/s002650100388
- Ribeiro, M. de F., Santos-Filho, P.S. de, Imperatriz-Fonseca, V. L. (2003). Exceptional high queen production in the Brazilian stingless bee *Plebeia remota*. *Studies on Neotropical Fauna & Environment*, 38(2): 111-114
- Rizopoulos, D. (2019). GLMMadaptive: Generalized Linear Mixed Models using Adaptive Gaussian Quadrature. R package version 0.6-0. URL: <https://CRAN.R-project.org/package=GLMMadaptive>
- Roubik, D. W. (2006). Stingless bee nesting biology. *Apidologie*, 37: 124-143. doi: 10.1051/apido:2006026
- Santos, C. F. dos., Nunes-Silva, P., Halinski, R., Blochtein, B. (2014). Diapause in Stingless Bees (Hymenoptera: Apidae). *Sociobiology*, doi: 10.13102/sociobiology.v61i4.369-377

- Sommeijer, M. J., de Bruijn, L. L. M., Meeuwsen, F. J. A., Martens, E. P. (2003). Natural patterns of caste and sex allocation in the stingless bees *Melipona favosa* and *M. trinitarsis* related to worker behavior. *Insectes Sociaux*, 50: 38–44
- Van Veen, J.W., Sommeijer, M. J., Monge, L. A. (1999). Behavioural development and abdomen inflation of gynes and newly mated queens of *Melipona beecheii* (Apidae, Meliponinae). *Insectes Sociaux*, 46: 361-365.
- Veiga, J. C., Menezes, C., Venturieri, G. C., Contrera, F. A. L. (2013). The bigger, the smaller: relationship between body size and food stores in the stingless bee *Melipona flavolineata*. *Apidologie*, doi: 10.1007/s13592-012-0183-4
- Velthuis, H. H. W., Koedam, D., Imperatriz-Fonseca, V.L. (2005). The males of *Melipona* and other stingless bees, and their mothers. *Apidologie*, 36: 169-185. doi: 10.1051/apido:2005014
- Venturieri, G. C., Raiol, V. F. O., Pereira, C. A. B. (2003). Avaliação da introdução da criação racional de *Melipona fasciculata* (Apidae: Meliponini), entre os agricultores familiares de Bragança - PA, Brasil. *Biota Neotropica*, 3(2): 1-7. doi:10.1590/S1676-06032003000200003
- Venturieri, G. C. (2008). Caixa para a criação de Uruçu-Amarela *Melipona flavolineata* Friese, 1900. Belém: Embrapa Amazônia Oriental. p.1-8. (Comunicado Técnico, n. 212)
- Venturieri, G. C., Alves, D. A., Villas-Bôas, J. K., Carvalho, C. A. L., Menezes, C., Vollet-Neto, A., Contrera, F. A. L., Cortopassi-Laurino, M., Nogueira-Neto, P., Imperatriz-Fonseca, V. L. (2012). Meliponicultura no Brasil: Situação Atual e Perspectivas Futuras para o Uso na Polinização Agrícola. In: Imperatriz-Fonseca, V. L., Canhos, D. A. L., Alves, D. A., Saraiva, A. M. (Eds.), *Polinizadores no Brasil: Contribuições e Perspectivas para a Biodiversidade, Uso Sustentável, Conservação e Serviços Ambientais*. Edusp, São Paulo, 213- 236p

- Wenseleers, T., Ratnieks, F. L., Billen, J. (2003). Caste fate conflict in swarm-founding social hymenoptera: an inclusive fitness analysis. *J. Evol. Biol.* 16: 647-658
- Wheeler, D.E. (1986). Developmental and physiological determinants of caste in social Hymenoptera: evolutionary implications. *The American Naturalist*, 128(1): 13-34
- Wickham, H. (2016). *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag New York.
- Wilde, J., Beetsma, J. (1982). The physiology of caste development in social insects. *Journal of Insect Physiology*, 16, 167-246. doi: 10.1016/S0065-2806(08)60154-X
- Wille, A. (1983). Biology of The Stingless Bees. *Annual Reviews Entomology*. 28: 41-64. doi: 10.1146/annurev.en.28.010183.000353
- Wratten, S. D., Gillespie, M., Decourtye, A., Mader, E., Desneux, E. (2012). Pollinator habitat enhancement: benefits to other ecosystem services. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 159: 112-122. doi: 10.1016/j.agee.2012.06.0

Conclusão Geral

Conclusão Geral

As abelhas sem ferrão, ou meliponíneos, compõem o grupo mais diverso de abelhas sociais que existe (Michener, 2013). No Pará, o trabalho de Pedro (2014) aponta que as abelhas sem ferrão correspondem a 119 espécies com nomes válidos. Essas abelhas são consideradas polinizadores chave, tendo grande importância ecológica e comercial (BPBES/REBIPP, 2019).

Embora o mel ainda seja o produto mais tradicional produzido por essas abelhas, o potencial delas para polinização agrícola, tem aumentado consideravelmente a demanda por novas colônias (Cortopassi-Laurino et al., 2006; Jaffé et al., 2015). No entanto, é necessário investir em estudos sobre biologia básica e compreender o desenvolvimento colonial das abelhas sem ferrão para em médio prazo, ampliar o número de espécies criadas e métodos de produção e multiplicação de ninhos.

Nesse contexto, a presente tese vem contribuir com três estudos inéditos sobre o tamanho populacional, nutrição e alocação fenotípica nas abelhas sem ferrão Amazônicas. Considerados em conjunto nossos estudos colaboram para o maior entendimento da história natural do grupo, e através do conhecimento do desenvolvimento colonial contribuem com a base para o fortalecimento da meliponicultura (criação de abelhas sem ferrão) na região.

Na **Seção I** determinamos o tamanho da população para cinco espécies de abelhas sem ferrão amazônicas, encontrando espécies que apresentam colônias pequenas, médias e grandes. O conhecimento do número de abelhas que compõe cada colônia é um dado importante para o manejo e utilização dessas abelhas na polinização de culturas agrícolas, assim como já é realidade para as abelhas do gênero *Apis* e *Bombus* (Velthuis e van Doorn, 2006; Vaudo et al., 2012). Além disso, neste estudo avaliamos a relação entre o tamanho das colônias com outras características coloniais, mostrando que a atividade externa é o parâmetro biológico que apresenta maior relação com o tamanho das colônias (número de abelhas adultas). Essa descoberta contribui para o

desenvolvimento de uma melhor forma de estimar o número de abelhas presente em uma colônia (Delaplane et al., 2013). A produção de novos indivíduos e, conseqüentemente o crescimento das colônias estão altamente relacionados a quantidade de pólen estocado nos ninhos. E a qualidade desse pólen pode afetar a longevidade das abelhas (Schmidt et al., 1987) e a sua fisiologia (Alaux et al., 2011, Di Pasquale et al., 2013). Além disso, a escassez desse alimento nas colônias afeta diretamente o seu desenvolvimento, com a redução da produção de alimento larval, diminuição de alimento para a rainha, e conseqüentemente redução do número de crias (Ramalho et al., 1998). Por este motivo, o aprimoramento de dietas artificiais é essencial para a atividade de criação dessas abelhas, para auxiliar no crescimento de colônias recém-formadas e fortalecê-las durante os períodos de escassez de alimento. Diante disso, na **Seção II** desta tese comparamos o efeito do consumo de uma dieta semiartificial a base de soja na longevidade de operárias de duas espécies de abelhas sem ferrão. Descobrimos que as operárias que consumiram exclusivamente pólen natural apresentam uma longevidade maior em comparação com as que comeram a dieta artificial à base de soja, apesar disso, discutimos nesse estudo as vantagens da utilização desta alimentação semiartificial para reforçar o desenvolvimento das colônias em período de escassez de pólen e para suprir a necessidade de colônias recém-formadas. Por fim, na **Seção III** investigamos como a variação climática e o ambiente tem influenciado a alocação fenotípica nas abelhas sem ferrão. Considerando que, as condições climáticas afetam a floração ao longo do ano e conseqüentemente as fontes de alimento das abelhas sem ferrão e que além disso o fornecimento de recursos alimentares para as colônias também é afetado pelo aumento do desmatamento e urbanização (Brown & Albrecht, 2001; Brosi et al., 2008; Santos et al., 2014; Maia-Silva et al., 2015). Descobrimos neste estudo que a alocação fenotípica na abelha sem ferrão *Melipona fasciculata* está fortemente associada a variação climática (estação) e não a qualidade do ambiente (local). Isso indica na prática

que na estação seca existe um *trade-off* dentro das colônias com um maior número de rainhas e menor número de operárias sendo produzidas.

REFERÊNCIAS

- Alaux, C., Dantec, C., Parrinelo, H. & Le Conte, Y. (2011). Nutrigenomics in honey bees: digital gene expression analysis of pollen's nutritive effects on healthy and varroa-parasitized bees. *BMC Genomics*, 12:496. doi: 10.1186/1471-2164-12-496
- BPBES/REBIPP (2019): Relatório temático sobre Polinização, Polinizadores e Produção de Alimentos no Brasil. Marina Wolowski; Kayna Agostini; André Rodrigo Rech; Isabela Galarda Varassin; Márcia Maués; Leandro Freitas; Liedson Tavares Carneiro; Raquel de Oliveira Bueno; Hélder Consolaro; Luisa Carvalheiro; Antônio Mauro Saraiva; Cláudia Inês da Silva. Maíra C. G. Padgurschi (Org.). 1ª edição, São Carlos, SP: Editora Cubo. 184 páginas. doi: 10.4322/978-85-60064-83-0
- Brosi, B. J., Daily, G. C., Shih, T. M., Oviedo, F., Durán, G. (2008). The effects of forest fragmentation on bee communities in tropical countryside. *J Appl Ecol* 45(3):773–783. doi: 10.1111/j.1365-2664.2007.01412
- Brown, J. C. & Albrecht, C. (2001). The Effect of Tropical Deforestation on Stingless Bees of the Genus *Melipona* (Insecta: Hymenoptera: Apidae: Meliponini) in Central Rondonia, Brazil". *Journal of Biogeography*, 28(5): 623-634,
- Cortopassi-Laurino, M., Imperatriz-Fonseca, V.L., Roubik, D.W., Dollin, A., Heard, T., Aguilar, I., Venturieri, G.C., Eardley, C. & Nogueira-Neto, P. (2006). Global meliponiculture: Challenges and opportunities. *Apidologie*, 37: 275-292. doi: 10.1051/apido:2006027
- Delaplane, K.S., Steen, J. V.D & Guzman-Novoa, E. (2013) Standard methods for estimating strength parameters of *Apis mellifera* colonies. *Journal of Apicultural Research* , 52 (1). doi: 10.3896/IBRA.52.1.03

Di Pasquale, G., Salignon, M., Le Conte, Y., Belzunces, L. P., Decourtye, A. Kretzschmar, A., Suchail, S., Brunet, J., & Alaux, C. (2013). Influence of pollen nutrition on honey bee health: do pollen quality and diversity matter? *Plos One*, 8 (8). doi: 10.1371/journal.pone.0072016

Jaffé, R., Pope, N., Carvalho, A.T., Maia, U.M., Blochtein, B., de Carvalho, C.A.L. Carvalho-zilse, G.A., Freitas, B.M., Menezes, C., Ribeiro, M.F., Venturieri, G.C., Imperatriz-Fonseca, V.L. (2015). Bees for development: Brazilian survey reveals how to optimize stingless beekeeping. *Plos One*. doi: 10.1371/ journal.pone.0121157

Maia-Silva, C., Hrnčir, M., Silva, C. I. da, Imperatriz-Fonseca, V.L. (2015). Survival strategies of stingless bees (*Melipona subnitida*) in an unpredictable environment, the Brazilian tropical dry forest. *Apidologie*, doi: 10.1007/s13592-015-0354-1

Michener C. D. (2013). The Meliponini. In: Vit, P., Pedro, S. R. M., Roubik, D. (eds.), *Pot-honey: A legacy of stingless bees*. Springer, New York, pp.3–17

Pedro, S.R.M. (2014). The Stingless Bee Fauna In Brazil (Hymenoptera: Apidae). *Sociobiology*. doi: 10.13102/sociobiology.v61i4.348-354

Ramalho, M., Imperatriz-Fonseca, V. L. & Giannini, T. C. (1998). Within-colony size variation of foragers and pollen load capacity in the stingless bee *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lepeletier (Apidae, Hymenoptera). *Apidologie*, 29: 221-228. doi: 10.1051/apido:19980302

Santos, C. F. dos, Nunes-Silva, P., Halinski, R., Blochtein, B. (2014). Diapause in Stingless Bees (Hymenoptera: Apidae). *Sociobiology*. doi: 10.13102/sociobiology.v61i4.369-377

Schmidt, J. O., Thoenes, S. C., & Levin, M. D. (1987). Survival of honeybees *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) fed with various pollen sources. *Annals of the Entomological Society of America*, 80:176-183. doi: 10.1093/aesa/80.2.176

Vaudo, A. D., Ellis, J. D., Cambray, G. A., Hill, M. (2012). The effects of land use on honey bee (*Apis mellifera*) population density and colony strength parameters in the Eastern Cape, South Africa. *J Insect Conserv.* doi: 10.1007/s10841-011-9445-0

Velthuis, H. H. W. & van Doorn, A. (2006). A Century of Advances in Bumblebee Domestication and the Economic and Environmental Aspects of Its Commercialization for Pollination. *Apidologie*, 37(4): 421-451.

Wolowski, M., Agostini, K., Rech, A.R., Varassin, I.G., Maués, M.M., Freitas, L., Carneiro, L.T., Bueno, R. de O., Consolaro, H., Carvalheiro, L. Saraiva, A.M., Silva, C.I. da, Padgurschi, M.C.G. (2019). BPBES/REBIPP: Relatório temático sobre Polinização, Polinizadores e Produção de Alimentos no Brasil. 1ª edição, São Carlos, SP: Editora Cubo, 184 pp. doi: 10.4322/978-85-60064-83-0