**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Resposta comportamental de *Scaptotrigona depilis* (Apidae:
Meliponini) aos estoques de pólen**

Roberto Gaioski Júnior

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Ciências. Área de concentração:
Entomologia

**Piracicaba
2017**

Roberto Gaioski Júnior
Licenciado em Ciências Biológicas

Resposta comportamental de *Scaptotrigona depilis* (Apidae: Meliponini) aos estoques de pólen

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientadora:
Prof. Dra. **DENISE DE ARAUJO ALVES**

Dissertação apresentada para obtenção do título
de Mestre em Ciências. Área de concentração:
Entomologia

Piracicaba
2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP

Gaioski Júnior, Roberto

Resposta comportamental de *Scaptotrigona depilis* (Apidae: Meliponini) aos estoques de pólen / Roberto Gaioski Júnior. versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. -- Piracicaba, 2017.

47p.

Dissertação (Mestrado) -- USP / Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. Forrageamento 2. Produção de células de cria 3. Agricultura 4. Abelhas sem ferrão I. Título

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar ao CNPq e à A.B.E.L.H.A. pela concessão da bolsa que possibilitou esta incrível jornada de aprendizagem. À Dra. Denise A. Alves por aceitar me orientar como aluno no curso de Mestrado e também por todo seu auxílio e conselhos no desenvolvimento deste trabalho. Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia do Departamento de Entomologia e Acarologia, ESALQ-USP e, em especial, aos Profs. Drs. José Maurício S. Bento Wesley Augusto C. Godoy pela receptividade e possibilidade de uso de equipamentos de seus laboratórios durante o desenvolvimento deste trabalho. Foi uma honra conhecê-los e trabalhar com vocês. Minha gratidão vai também aos funcionários do Departamento: Francisco Prata, Horozino Santos, João Cerignoni, José Castilho, Vitor Silva, Willian Camargo, Andrea Sintoni, Marta Colletti, Arodi Prado, Marinéia Haddad e Regina Moraes.

Em especial agradeço ao meus pais Sr. Roberto Gaioski e Sra. Maria Salete Gaioski, aos meus irmãos Monik Andressa Gaioski e João Vitor Gaioski, e à minha esposa Andressa Caroline Souza. Obrigado por serem os melhores, por acreditarem em mim, vocês são tudo na minha vida! Agradeço pela amizade que consolidei ao longo desses anos com Denise Alves, Éric Cordeiro, Carina Silva, Fernando Sujimoto, Gabriel Rugno, Marcela Barbosa e Samanta Nanzer. Vocês foram importantes nos momentos difíceis.

Por fim, agradeço à natureza por toda sua maravilha, às abelhas pelo seu doce mel e beleza que os olhos encantam, às flores por perfumarem e colorirem a primavera, agradeço à vida por sua perfeição.

EPÍGRAFE

*“Toda mente que se abre a uma nova ideia,
jamais volta ao seu tamanho original”*

Albert Einstein

SUMÁRIO

RESUMO.....	6
ABSTRACT.....	7
1. INTRODUÇÃO	9
2. MATERIAL E MÉTODOS	15
2.1. Local de estudo e ninhos experimentais	15
2.2. Parâmetros avaliados	15
2.3. Análises estatísticas	17
3. RESULTADOS	19
3.1. Atividade de forrageamento	19
3.3. Tamanho das forrageiras	27
3.4. Produção de células de cria	27
3.5. Estoques de pólen nos ninhos	28
3.6. Ninhos-tratamento vs. Ninhos-controle	29
4. DISCUSSÃO	31
4.1. Atividade de forrageamento	31
4.2. Cargas polínicas e tamanho das forrageiras	33
4.3. Produção de células de cria e Estoques de pólen nos ninhos.....	34
4.4. Uso de abelhas sem ferrão na agricultura e contribuições deste estudo.....	37
REFERÊNCIAS	43

RESUMO

Resposta comportamental de *Scaptotrigona depilis* (Apidae: Meliponini) aos estoques de pólen

Para as abelhas com organização altamente eussocial, como são as abelhas sem ferrão (Meliponini), o pólen é a principal fonte de proteína que influencia diretamente na regulação social de suas colônias, tanto nos imaturos quanto nos indivíduos em fase adulta. O sucesso das operárias em localizar e coletar esse recurso, assim como a quantidade estocada no interior do ninho, garante um abastecimento nutricional permanente, assegurando a manutenção e sobrevivência da colônia durante longos períodos, incluindo os de escassez de alimento no ambiente. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito da quantidade de pólen estocado nos ninhos de *Scaptotrigona depilis* (Moure, 1942) sobre o número de forrageiras para a coleta desse recurso, a quantidade de pólen coletado pelas forrageiras e a taxa de produção de cria. Esses parâmetros foram avaliados em ninhos com e sem estoques de pólen durante 30 dias consecutivos em dois períodos, de março a abril e de setembro a outubro de 2016. Quando os ninhos sofreram reduções drásticas de suas reservas de pólen, as operárias de *S. depilis* ajustaram suas atividades e responderam comportamentalmente, de forma que houve: (a) alocação de maior número de forrageiras para coleta de pólen; (b) alocação de forrageiras mais pesadas para coleta de pólen; (c) transporte de cargas polínicas mais pesadas pelas forrageiras; (d) maior produção de células de cria. Em suma, nossos resultados mostram a importância de estudos sobre biologia básica, com manipulações experimentais, que não só têm potencial para responder questões ecológicas e/ou evolutivas, como também as aplicadas, provendo subsídios para o uso de abelhas sem ferrão em programas de polinização dirigida, que podem ser aliados a ações voltadas para conservação.

Palavras-chave: Forrageamento; Produção de células de cria; Agricultura, Abelhas sem ferrão

ABSTRACT

Behavioural response of *Scaptotrigona depilis* (Apidae: Meliponini) to pollen stores

For highly eusocial bees, such as stingless bees (Meliponini), pollen is the main source of protein that directly influences the social regulation of their colonies, on both immature and adult stages. The workers' success in locating and collecting pollen, as well as the amount of pollen stored within the nest, guarantees a permanent nutritional supply, ensuring the colony maintenance and survival for long periods, including those of food shortage in the environment. The aim of this study was to evaluate the effect of the amount of pollen stored within the nests of *Scaptotrigona depilis* (Moure, 1942) on the number of pollen forages, the pollen loads collected by forages and the rate of brood cell production. These parameters were evaluated in nests with and without pollen stores during 30 consecutive days in two periods, from March to April and from September to October 2016. When the nests suffered drastic reduction of their pollen reserves, the *S. depilis* workers adjusted their tasks and responded behaviourally, because there was: (a) additional allocation of pollen foragers; (b) allocation of heavier forages for pollen collection; (c) transport of heavier pollen loads by foragers; (d) higher brood cell production. In sum, our results highlight the importance of studies on basic biology, with experimental manipulations, that have widespread potential to help us to answer ecological and/or evolutionary questions, but also the applied questions, providing useful guidelines for the use of stingless bees as crop pollinators, which can be allied to conservation efforts.

Keywords: Foraging; Brood cells production; Agriculture; Stingless bees

1. INTRODUÇÃO

As interações entre polinizadores e angiospermas representam uma das relações coevolutivas de maior sucesso nos ecossistemas terrestres, sem as quais muitas espécies de plantas não se reproduziriam e, conseqüentemente, muitas populações animais dependentes de néctar, pólen e outros recursos para alimentação, declinariam, resultando em efeitos-cascata sobre outros organismos (Kearns *et al.* 1998). Das 352 mil espécies de angiospermas, cerca de 88% dependem de animais para a transferência de pólen em quantidade suficiente para a fertilização e a conseqüente formação de frutos e sementes (Ollerton *et al.* 2011).

Este serviço de polinização tem um valor inestimável, já que a produção de frutos está na base da cadeia alimentar, sendo responsável pela manutenção das comunidades biológicas e, conseqüentemente, pelo equilíbrio dos ecossistemas (Faegri & van der Pijl 1979; Bawa 1990). Além disso, estimativas indicam que cerca de um terço da dieta humana, derivada de culturas agrícolas, depende da polinização mediada por animais (Klein *et al.* 2007), demonstrando o alto valor econômico desse serviço (Gallai *et al.* 2009).

Entre esses animais, as abelhas são, por excelência, o grupo mais importante (Faegri & van der Pijl 1979; Kearns *et al.* 1998), uma vez que suas características morfofuncionais permitem que elas visitem uma ampla variedade de flores e as polinizem eficientemente. Atualmente, são descritas mais de 20 mil espécies (Ascher & Pickering 2017) e esse alto número reflete a diversidade de tamanhos corporais, colorações, preferências florais, hábitos de nidificação e modos de vida, que vão desde a vida solitária até a eussocial (Michener 1974). Mas independente das diferenças interespecíficas, as abelhas são insetos herbívoros especializados que dependem inteiramente dos recursos florais para a nutrição de larvas e adultos. O néctar é a principal fonte energética, enquanto o pólen é um recurso extremamente importante, pois constitui a única fonte natural de proteína, crucial para o desenvolvimento larval, além dos lipídeos, vitaminas e sais minerais que ele contém (Haydak 1970).

Para as abelhas com organização altamente eussocial [as do gênero *Apis* (Apini) e as abelhas sem ferrão (Meliponini)], o néctar e o pólen são recursos que atuam diretamente no crescimento e manutenção de suas colônias, já que são responsáveis pela quantidade de prole produzida, pela longevidade e pela saúde dos indivíduos adultos (Brodschneider & Crailsheim 2010). Dessa forma, o sucesso das operárias em localizar e coletar esses recursos, assim como a quantidade estocada no interior do ninho, garante um abastecimento nutricional permanente, assegurando a sobrevivência da colônia durante

períodos de escassez de alimento no ambiente (Michener 1974; Biesmeijer *et al.* 1999; Maia-Silva *et al.* 2016).

As colônias das abelhas sem ferrão são perenes, assim como são as de *Apis* spp., e compostas por uma rainha e algumas centenas a vários milhares de operárias (Michener 1974), que coordenam suas atividades de trabalho, de forma dinâmica e temporal, variando basicamente com a idade (Sakagami 1982). Nesse sistema, as operárias recém-emergidas realizam atividades de construção de favos de cria e de potes de alimento e, conforme envelhecem, passam a executar outras tarefas, de maneira sucessiva, como desidratar néctar, receber recursos das forrageiras, realizar a limpeza do ninho. O forrageamento é realizado por último, pois é o estágio final da vida de uma operária (Sakagami 1982).

A atividade de forrageamento é influenciada pela integração de informações internas, basicamente a memória das operárias, e externas, que são os estímulos obtidos diretamente do ambiente dentro e fora do ninho (Biesmeijer *et al.* 1998). Dentre as informações externas estão às condições climáticas, que podem indicar sobre a oferta de recursos pelas plantas (e.g., Hilário *et al.* 2001), o tamanho da colônia e a quantidade de alimento estocado (Kleinert *et al.* 2009). Assim, embora não haja um controle central (Gordon 1996), as decisões sobre coleta de alimento pelas forrageiras envolvem interações sociais no interior dos ninhos, fazendo com que as operárias ajustem com flexibilidade suas atividades de coleta em resposta às necessidades nutricionais e à oferta de alimento no ambiente (Eltz *et al.* 2001; Hofstede & Sommeijer 2006; Kleinert *et al.* 2009).

O pólen é o principal recurso proteico coletada pelas forrageiras, que manipulam as anteras das flores de forma a transferir e acumular os grãos de pólen em suas corbículas – expansões côncavas das tíbias dos seus últimos pares de pernas (Michener 1974) –, usando néctar e secreções salivares para aglutiná-los. Quando as forrageiras de abelhas sem ferrão retornam aos seus ninhos, elas depositam as cargas de pólen em potes de alimento construídos por cerume. Ao preencherem quase todo o volume desses potes, as operárias os fecham, e esse armazenamento pode durar de dias a meses antes de ser consumido (Michener 1974). Durante o período em que o pólen permanece estocado nesses potes especiais, ele sofre modificações químicas por micro-organismos que secretam antibióticos, enzimas que quebram carboidratos, lipídeos e proteínas, e ácidos que controlam microrganismos competidores que podem deteriorar o pólen (Vit *et al.* 2013).

Esse recurso protéico influencia diretamente a regulação social nas colônias de abelhas sem ferrão, tanto nos imaturos quanto nos indivíduos em fase adulta. A cria recebe sua fonte proteica de forma massal, ou seja, as operárias depositam na célula de cria todo o alimento que a larva necessita para seu desenvolvimento e crescimento (Michener 1974). Seguindo sequências comportamentais complexas e ritualizadas (Zucchi *et al.* 1999), as células de cria são construídas pelas operárias, aprovisionadas por elas com alimento larval

líquido regurgitado, rico em proteínas, aminoácidos livres, carboidratos e água. Além desses compostos, as operárias podem adicionar micro-organismos benéficos, que são responsáveis pela conversão de moléculas complexas em moléculas mais simples, fermentação e conservação desse alimento larval (Gilliam *et al.* 1985). Sobre ele a rainha coloca seu ovo e as operárias fecham a célula. Assim, dentro dessa célula ocorre todo o desenvolvimento da cria, que terá contato com as operárias adultas apenas quando emerge. Dessa forma, as variações da quantidade e qualidade (i.e., valor nutricional do pólen) dos recursos disponíveis no alimento oferecido às larvas estão diretamente relacionadas ao tamanho do corpo desses indivíduos quando adultos. Colônias com pouco estoque de pólen, ou pólen com teores muito baixos de proteína, produzem operárias (Ramalho *et al.* 1998; Quezada-Euán *et al.* 2011) e machos (Pech-May *et al.* 2012) menores, o que pode afetar muitas características associadas com a sobrevivência das colônias. Durante épocas de escassez de florada, operárias menores não são capazes de voar distâncias maiores, coletar mais alimentos e explorar eficientemente as áreas vizinhas aos seus ninhos, como operárias maiores da mesma espécie fariam. Quanto aos machos, as condições alimentares em que foram criados são importantes para seu desenvolvimento bem-sucedido, uma vez que a espermatogênese ocorre durante a fase pupal (Pereira-Lima *et al.* 2006). Em contrapartida, o alimento polínico para os indivíduos adultos promove o desenvolvimento de glândulas endócrinas, determinando suas tarefas. Operárias com poucos dias de vida produzem alimento larval em suas glândulas hipofaríngeas e são responsáveis pelo provisionamento das células de cria. Já operárias com idade um pouco mais avançada apresentam desenvolvimento ovariano, para a produção de ovos tróficos e reprodutivos que darão origem a machos, graças ao consumo de pólen (Sakagami 1982). Como a rainha realiza postura de ovos continuamente, ela precisa de grande quantidade de proteínas, que pode ser obtida via trofaláxis, ingestão de ovos tróficos colocados pelas operárias e ingestão de alimento larval depositado nas células de cria (Kleinert *et al.* 2009).

Aliado à complexidade da organização social, com regras de auto-organização entre os indivíduos que compõem as colônias de abelhas sem ferrão, o sucesso desse grupo, com cerca de 500 espécies (Ascher & Pickering 2017), também se dá pelo fato que a aquisição de recursos tróficos ocorre durante todo o ano. Isso porque essas abelhas são generalistas florais (poliléticas), forrageando em amplo espectro de tipos florais, e têm distribuição em regiões tropicais do mundo, onde o número de espécies de plantas com flores é significativo (Bawa 1990).

Portanto, as características biológicas (eussocialidade, perenidade e polilectia) das abelhas sem ferrão as tornam ecologicamente dominantes em relação aos visitantes florais Neotropicais (Bawa 1990; Roubik 1989), evidenciando sua importância ecológica e

econômica. Esta última se refere à polinização de inúmeras culturas agrícolas, tanto em ambiente aberto quanto em estufas (Heard 1999; Slaa *et al.* 2006), contribuindo anualmente com bilhões de dólares na economia da região tropical (Klein *et al.* 2007).

Questões práticas aliadas às biológicas, também tornam as abelhas sem ferrão candidatas mais do que adequadas para uso em programas de polinização. Uma delas é que muitas espécies podem ser criadas em caixas racionais, já que a grande maioria nidifica em ocos (Nogueira-Neto 1997). A segunda é que o ferrão é vestigial e, portanto, são menos agressivas e não oferecem risco de acidentes a humanos e a animais de criações. A terceira é que se adaptam e forrageiam em ambientes fechados, como são as casas de vegetação (Slaa *et al.* 2006). A quarta, e muito importante, é que aparentemente são mais resistentes a doenças e parasitas, quando comparadas à *A. mellifera* (Nogueira-Neto 1997), o que facilita bastante o manejo.

A diversidade de espécies também reflete muitas diferenças interespecíficas como, por exemplo, o número de operárias que compõem as colônias (de poucas centenas a dezenas de milhares), o tamanho do corpo, as estratégias de forrageamento (algumas espécies recrutam companheiras de ninho para fontes de alimentos, enquanto outras forrageiam individualmente) (Michener 1974; Vit *et al.* 2013). Dessa forma, tanto as similaridades, quanto essas diferenças interespecíficas, permitem que a(s) melhor(es) espécie(s) seja(m) escolhida(s) para uma dada cultura agrícola (Slaa *et al.* 2006).

Embora esteja bem-establishado que as abelhas sem ferrão sejam polinizadoras por excelência, ainda não conhecemos suficientemente as respostas desses insetos frente a diferentes condições de estoque de pólen (Biesmeijer *et al.* 1999; Maia-Silva *et al.* 2016), como sabemos para *Apis mellifera* (e.g., Camazine 1993; Dreller *et al.* 1999; Fewell & Winston 1992; Pernal & Currie 2001). Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito da quantidade de pólen estocado nos ninhos de *Scaptotrigona depilis* sobre o número de forrageiras para a coleta desse recurso, a quantidade de pólen coletado pelas forrageiras e a taxa de produção de cria. Mais especificamente, nossas previsões foram que os baixos estoques de pólen levariam à(ao): 1) alocação de maior número de forrageiras para coleta de pólen; 2) transporte de maiores cargas polínicas pelas forrageiras; 3) taxa de produção de células de cria similar aos ninhos com maior quantidade de alimento estocado.

Modelo de estudo: *Scaptotrigona depilis* (Moure, 1942)

Embora o Brasil seja um centro de biodiversidade de abelhas sem ferrão, com cerca de 250 espécies descritas (Pedro 2014), o conhecimento sobre a biologia básica do grupo é restrito a poucas espécies. Entre elas está a *Scaptotrigona depilis*, com estudos sobre biologia reprodutiva (Paxton *et al.* 2003; Vollet-Neto *et al.* 2015b), termorregulação (Vollet-Neto *et al.* 2015a), comunicação de fontes de alimento (Jarau *et al.* 2003; Schmidt *et al.*

2003), atividade de forrageamento (Figueiredo-Mecca *et al.* 2013), preferências florais (Faria *et al.* 2012; Aleixo *et al.* 2017), produção de mel (Yamamoto *et al.* 2007), propriedades físico-químicas e biológicas do mel (Moura Oliveira *et al.* 2013), polinização de flores de plantas cultivadas e silvestres (Santos *et al.* 2008; Roselino *et al.* 2009; Aleixo *et al.* 2017) e multiplicação de ninhos (Menezes *et al.* 2013).

Scaptotrigona depilis tem uma distribuição geográfica relativamente ampla, abrangendo os Estados do Sul, Sudeste e Centro-Oeste do Brasil, e também regiões da Argentina, Bolívia e Paraguai (Camargo & Pedro 2007). Assim como a grande maioria das espécies de abelhas sem ferrão, ela depende de ocos de árvores para a construir seus ninhos (Nogueira-Neto 1997). Estes são compostos por um tubo de entrada, potes para estoque de mel e pólen e favos de cria horizontais compostos por células de cria de mesmas dimensões para a criação de operárias e machos e de células reais de onde emergem rainhas, envoltos por lamelas de cerume. Todas as células são construídas, aprovisionadas com alimento larval líquido e operculadas pelas operárias logo após a postura do ovo pela rainha (Zucchi *et al.* 1999). Suas colônias são perenes, se dividem pelo processo de enxameagem (Michener 1974) e consistem de uma rainha monândrica (Tóth *et al.* 2004) e cerca de 10.000 operárias (Menezes *et al.* 2013), alguns machos e rainhas virgens.

Além de sua distribuição geográfica e de sua importância ecológica, as colônias de *S. depilis* são resistentes às intensas manipulações, fáceis de manter e multiplicar (Nogueira-Neto 1997; Menezes 2010). Também é uma espécie com potencial muito alto para ser utilizada em programas de polinização dirigida (Menezes *et al.* 2013), visto que é polinizadora de culturas agrícolas de importância econômica (Giannini *et al.* 2014).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Local de estudo e ninhos experimentais

Conduzimos os experimentos em dois períodos, entre 10/03 e 08/04/2016 (A) e entre 09/09 e 07/10/2016 (B), no Meliponário do Laboratório de Insetos Úteis, localizado no Departamento de Entomologia e Acarologia da ESALQ-USP (Piracicaba, Estado de São Paulo, 47°38'00"S 22°42'30"W). Pela classificação de Köppen, o clima da região é do tipo Cwa, subtropical úmido com inverno seco e verão quente.

A partir dos ninhos de *S. depilis* mantidos no meliponário, um mês antes de cada período experimental formamos seis mini-ninhos, instalados em colmeias racionais confeccionadas com madeira de dimensões internas de 15 x 15 x 18cm. Cada um deles era composto por forrageiras, cerca de 1.200 células de cria contendo pupas e abelhas prontas para emergir e uma ou duas células reais. Dessa forma, antes do início do experimento, os seis ninhos-experimentais estavam em condições similares quanto ao número de potes de alimento e de favos de cria e quanto à idade da rainha.

Um dia antes do início dos experimentos, formávamos dois grupos experimentais com os mini-ninhos: ninhos-controle (C; n= 3) e ninhos-tratamento (T; n= 3). Para os ninhos-tratamento, removemos os estoques de pólen um dia antes do início da avaliação dos parâmetros mencionados abaixo.

2.2. Parâmetros avaliados

a. Variáveis climáticas

A cada hora, entre às 7:00 e 18:00h, anotávamos os valores de temperatura ambiente e umidade relativa registrados por termohigrômetro mantido sob local sombreado nas dependências do Laboratório de Insetos Úteis.

b. Atividade de forrageamento

Observamos diariamente as atividades de forrageamento de cada ninho durante 5 minutos por hora, entre às 7:00 e 18:00h. Nessa avaliação, contamos o número de forrageiras, com e sem cargas de pólen em suas corbículas, que retornavam do campo aos seus respectivos ninhos. Não consideramos as forrageiras que retornavam com resina em suas corbículas.

c. Cargas polínicas

A cada hora, entre 7:00 e 12:00h, período de maior atividade de forrageamento, capturávamos com aspirador entomológico, quando possível, 10 forrageiras com cargas polínicas. Para facilitar a coleta, fechávamos a entrada do ninho por 5min. Posteriormente, essas forrageiras eram anestesiadas em câmara fria por 1min e, com uma pinça, removíamos suas cargas polínicas. Estas foram armazenadas em tubos para centrifuga de 0,2ml (individualizados de acordo com o ninho de origem e o dia de coleta) a -22°C . Realizamos esse procedimento em dias alternados. Posteriormente, para determinarmos a massa seca das cargas polínicas, estas permaneciam em estufa a 100°C por 1h e, em seguida, eram pesadas em balança analítica de precisão (0,0001g).

d. Tamanho das forrageiras

Para avaliarmos o tamanho das forrageiras, a cada dez dias coletávamos dez indivíduos com cargas polínicas, que eram mantidos em tubos para centrifuga (individualizados de acordo com o ninho de origem e o dia de coleta) a -22°C . Posteriormente, a distância intertegular foi medida com auxílio do programa LAS 4.5 (*Leica Application Suite*), a partir de imagens tiradas por câmera digital acoplada a estereomicroscópio. Consideramos a distância intertegular, pois é uma das preditoras do tamanho das abelhas (espécies solitárias, Cane 1987; *Bombus* spp., Goulson *et al.* 2002; abelhas sem ferrão, Araujo *et al.* 2004). Também determinamos a massa seca das forrageiras, que permaneceram em estufa a 100°C por 1h e, em seguida, foram pesadas em balança analítica de precisão (0,0001g).

e. Armazenamento de pólen nos ninhos

A cada dez dias, contávamos o número de potes fechados com pólen. Essa contagem era efetuada após às 18:00h, para que não interferíssemos na avaliação da atividade externa.

f. Produção de células de cria

Diariamente, após às 18:00h, com intervalos de 24h, fotografávamos a região dos favos de cria. Comparando as fotos entre dias consecutivos e marcando as células de cria operculadas, determinamos o número de células produzidas por dia (Fig. 1).

Fig. 1. Comparação do número de células de cria construídas, provisionadas e operculadas de *S. depilis* no primeiro (A) e segundo (B) dias. Os círculos amarelos indicam a produção de novas células de cria em 24 horas.

2.3. Análises estatísticas

Para verificarmos se os dados obtidos apresentavam distribuição normal, utilizamos o teste de Shapiro-Wilk (W). Para as comparações entre dois grupos, quando os dados apresentaram distribuição normal ($p > 0,05$), utilizamos o teste t pareado (t) e quando os dados requeriam testes não paramétricos para a análise, optamos pelo teste de Mann-Whitney (U) (Zar 1999). O teste de correlação de Spearman foi utilizado para averiguar a possibilidade de relação entre a temperatura ambiente e a atividade de forrageamento, e também entre os parâmetros (número diário de forrageiras e número diário de células de cria construídas; número de potes de pólen e número diário de células construídas). Os testes estatísticos foram considerados significativos, quando $p < 0,05$. Para as análises, utilizamos os programas *Bioestat* 5.3 e *Statistica* 8.0.

3. RESULTADOS

3.1. Atividade de forrageamento

No total, entre março e abril, embora mais forrageiras de *S. depilis* tenham retornado aos ninhos-tratamento, não houve diferença significativa com o número de forrageiras dos ninhos-controle. Por outro lado, no segundo período, entre setembro e outubro, o número de forrageiras que retornaram aos ninhos-tratamento foi significativamente maior àquele dos ninhos-controle (Tabela 1). Quando consideramos apenas as forrageiras com cargas polínicas, o padrão se repetiu. Ou seja, o número de forrageiras coletoras de pólen não difere entre os ninhos no primeiro período de estudo, mas é significativamente mais alto para os ninhos-tratamento no segundo período (Tabela 1).

Tabela 1. Comparação da média ($\pm$ erro-padrão) de forrageiras de *S. depilis* que retornaram aos seus respectivos ninhos-controle (C; n= 3) e tratamento (T; n= 3) em março-abril (A) e setembro-outubro (B) de 2016.

atividade de forrageamento	período	ninhos	forrageiras		valor do teste	
			total	Média	U ou t	p
pólen e/ou néctar (diária)	A	C	22.454	748,5 ($\pm$ 42,10)	437,0 ^a	0,423
		T	22.987	766,2 ($\pm$ 45,80)		
	B	C	17.280	576,0 ($\pm$ 86,20)	131,0 ^a	0,010
		T	35.839	1.194,6 ($\pm$ 112,80)		
pólen (diária)	A	C	6.267	208,9 ($\pm$ 12,10)	415,5 ^a	0,305
		T	6.499	216,6 ($\pm$ 19,56)		
	B	C	2.098	69,9 ($\pm$ 12,20)	139,5 ^a	<0,010
		T	6.101	203,3 ($\pm$ 25,74)		
pólen (horária)	A	C	-	522,3 ($\pm$ 71,78)	0,210 ^b	0,417
		T	-	541,6 ($\pm$ 57,64)		
	B	C	-	174,8 ($\pm$ 29,70)	3,187 ^b	0,004
		T	-	508,4 ($\pm$ 103,30)		

^a Teste de Mann-Whitney (U)

^b Teste t pareado (t)

Na primeira etapa, as operárias já tinham iniciado suas atividades de forrageamento às 7:00h e diminuíram gradativamente até às 18:00h. Porém, os picos de atividades ocorreram às 8:00h para os ninhos-tratamento e às 9:00 para os ninhos-controle (Fig. 2A). Em média, mais forrageiras com cargas polínicas retornaram por hora aos nos ninhos-

tratamento, porém essa média não foi significativamente diferente daquela observada para os ninhos-controle (Tabela 1). Na segunda etapa, nos dois conjuntos de ninhos, poucas operárias forragearam às 7:00h. Diferentemente do período anterior, o pico de atividade nos ninhos-tratamento e controle foi às 10:00h e às 11:00h, respectivamente, reduzindo gradativamente até às 18:00h (Fig. 2B). Embora entre setembro e outubro a atividade de forrageamento tenha iniciado mais tarde, a entrada de forrageiras carregando cargas polínicas foi significativamente maior para os ninhos-tratamento do que para os ninhos-controle (Tabela 1; Fig. 2B).

Fig. 2. Número médio de forrageiras de *S. depilis* que retornaram aos seus respectivos ninhos em março-abril (A) e setembro-outubro (B) de 2016, de acordo com as horas do dia. Linha negra: ninhos-tratamento (n= 3); Linha cinza: ninhos-controle (n= 3). Barras correspondem ao erro-padrão.

Entre março e abril, a temperatura ambiente oscilou pouco (mínima (mín): 26,30°C; máxima (máx): 31,44°C; média $\pm$ desvio-padrão (d.p.): 28,51 $\pm$ 1,47°C), com maior variação entre setembro e outubro (mín: 19,45°C; máx: 29,47°C; média $\pm$ d.p.: 25,06 $\pm$ 4,66°C). O

primeiro período foi significativamente mais quente que o segundo período ($t = 7,038$; $p < 0,0001$). Observamos que a atividade de forrageamento aumenta no decorrer do dia com o aumento da temperatura ambiente. Contudo, tanto na primeira quando na segunda etapa do estudo não encontramos correlação significativa entre as variáveis ambientais (temperatura ambiente e a umidade relativa) e o número de forrageiras que retornaram diariamente aos seus ninhos (Tabela 2).

Tabela 2. Coeficientes de correlação de Spearman (r) entre o número médio de forrageiras com pólen e fatores climáticos (temperatura e umidade relativa). Dados obtidos em março-abril e setembro-outubro de 2016, em ninhos-controle (C; $n = 3$) e tratamento (T; $n = 3$) de *S. depilis*.

fatores climáticos	março-abril				setembro-outubro			
	C		T		C		T	
	r	p	r	p	r	p	r	p
temperatura média diária	0,167	0,377	-0,140	0,457	-0,124	0,514	-0,068	0,718
umidade relativa média diária	-0,248	0,184	0,148	0,432	0,048	0,800	0,107	0,572
temperatura média horária	-0,195	0,541	-0,160	0,617	0,104	0,745	0,104	0,745
umidade relativa média horária	0,307	0,330	0,258	0,416	-0,021	0,948	0,038	0,905

Entre março e abril, quando comparamos o número de forrageiras com cargas polínicas nos 15 dias iniciais do experimento, não houve diferença significativa entre os ninhos-tratamento e controle. O mesmo ocorreu nos 15 dias finais dessa primeira etapa (Tabela 3). Embora os dois grupos de ninhos tenham alocado menor número de forrageiras nos 15 dias finais, a atividade de coleta de pólen reduziu drasticamente nos ninhos-tratamento (Tabela 3). Já entre setembro e outubro, o padrão foi diferente, pois um número significativamente maior de forrageiras com pólen retornou aos ninhos-tratamento tanto nos 15 dias iniciais como nos 15 dias finais do experimento. Além disso, houve decréscimo no número de forrageiras retornando com pólen aos ninhos nos 15 dias finais, porém essa redução não foi significativa (Tabela 3).

Tabela 3. Valores do teste de Mann-Whitney (U) referentes às comparações das médias ($\pm$ erro-padrão) do número de forrageiras de *S. depilis* que retornaram com cargas polínicas aos ninhos-controle (C; n= 3) e tratamento (T; n= 3) em março-abril (A) e setembro-outubro (B) de 2016. i: 1° ao 15° dia de experimento; f: 16° ao 30° dia de experimento.

ninhos e período	número de forrageiras		comparação	valor do teste	
	total	média		U	p
CAi	3.505	233,7 (± 21,1)	CAi vs.TAi	98,50	0,2800
TAi	4.024	268,3 (± 31,2)	CAf vs.TAf	78,50	0,0790
CAf	2.762	184,1 (± 8,6)	CBi vs.TBi	35,00	< 0,001
TAf	2.475	165,0 (± 15,2)	CBf vs.TBf	33,50	< 0,001
CBi	1.162	77,5 (± 21,4)	CAi vs. CAf	77,00	0,0704
TBi	3.661	244,1 (± 44,4)	TAi vs. T Af	47,50	0,0035
CBf	936	62,4 (± 11,6)	CBi vs. CBf	109,50	0,4505
TBf	2.440	162,7 (± 23,1)	TBi vs. TBf	83,00	0,1106

3.2. Cargas polínicas

Durante a primeira etapa, amostramos 2.897 forrageiras com cargas polínicas, sendo que 56,30% delas retornaram aos ninhos-tratamento. No total, as 1.631 forrageiras trouxeram 0,1647g de pólen para os ninhos-tratamento, o que correspondeu a 0,000101g de pólen/forrageira. Para os ninhos-controle, essa relação foi de 0,000097g de pólen/forrageira, já que 1.266 forrageiras carregavam 0,1234g de pólen. Embora não tenha havido diferença significativa nessa relação entre os grupos de ninhos ($t= 0,178$; $p= 0,859$), em média as forrageiras dos ninhos-tratamento coletaram significativamente mais pólen que as dos ninhos-controle (Tabela 4). Nessa mesma etapa, as forrageiras retornaram com cargas polínicas mais pesadas aos ninhos-controle às 10:00h (média $\pm$ erro-padrão (e.p.): $0,0097 \pm 0,0017$ g) e aos ninhos-tratamento às 11:00h (média $\pm$ e.p.: $0,0129 \pm 0,0016$ g; Fig. 3). Contudo, individualmente as forrageiras trouxeram cargas mais pesadas aos ninhos-tratamento às 11:00h e aos ninhos-controle às 12:00h (Fig. 4), não havendo diferença significativa entre os grupos de ninhos ($t= 0,1941$; $p= 0,425$).

Tabela 4. Valores do teste t pareado (t) referentes às comparações entre as cargas polínicas, expressa em massa seca (g), coletadas por forrageiras de *S. depilis* que retornaram aos seus respectivos ninhos-controle (C; n= 3) e tratamento (T; n= 3), em março-abril (A) e setembro-outubro (B) de 2016. $\pm$: erro-padrão.

	período	ninhos	massa seca de pólen (g)		valor do teste	
			total	média	t	p
diária	A	C	0,1234	0,0082 ($\pm$ 0,0009)	1,836	0,038
		T	0,1647	0,0110 ($\pm$ 0,0012)		
	B	C	0,6983	0,0466 ($\pm$ 0,0082)	3,774	<0,001
		T	1,7740	0,1183 ($\pm$ 0,0172)		
horária	A	C	-	0,0206 ($\pm$ 0,0037)	1,211	0,126
		T	-	0,0275 ($\pm$ 0,0043)		
	B	C	-	0,1164 ($\pm$ 0,0286)	2,203	0,026
		T	-	0,2957 ($\pm$ 0,0761)		

Entre setembro e outubro, coletamos 1.772 forrageiras com cargas polínicas. Dessas, 602 forrageiras transportaram para os ninhos-controle 0,6983g de pólen, o que correspondeu a 0,00116g de pólen/forrageira. Para os ninhos-tratamento, 1.170 forrageiras carregaram 1,7740g de pólen, o que equivaleu a 0,00152g de pólen/forrageira, relação significativamente maior que a encontrada para os ninhos-controle ($t= 1,802$; $p= 0,04$). Devido a essa maior relação entre carga polínica e número de forrageiras e também à atividade de forrageamento por pólen mais intensa, mais pólen foi coletado pelas forrageiras dos ninhos-tratamento no segundo período do experimento (Tabela 4). Como a atividade externa foi baixa às 7:00h, o que dificultou a captura de forrageiras e de suas cargas polínicas, este horário foi removido da análise. Quando consideramos o horário, as forrageiras dos ninhos-tratamento coletaram significativamente mais pólen por hora ($0,0014 \pm 0,0002$ g/forrageira) do que as dos ninhos-controle ($0,0011 \pm 0,0001$ g/forrageira; $t= 1,7558$, $p= 0,05$) (Tabela 4). As forrageiras retornaram com cargas polínicas mais pesadas aos ninhos-tratamento às 10:00h (média $\pm$ e.p.: $0,1513 \pm 0,0262$ g) e aos ninhos-controle às 11:00h (média $\pm$ e.p.: $0,0622 \pm 0,0372$ g; Fig. 3). Contudo, individualmente as forrageiras dos ninhos-tratamento carregaram cargas mais pesadas às 9:00h ($0,00194$ g/forrageira), enquanto às dos ninhos-controle às 11:00h ($0,00144$ g/forrageira; Fig. 4), mas não houve diferença significativa entre os grupos de ninhos ($t=0,814$; $p= 0,217$).

Fig. 3. Carga polínica média, expressa em massa seca (g), coletada por forrageiras de *S. depilis* de ninhos-controle (C; n= 3) e tratamento (T; n= 3) em março-abril (A) e setembro-outubro (B) de 2016, de acordo com as horas do dia. Barras correspondem aos erros-padrão.

Fig. 4. Razão entre massa de carga polínica (g) e número de forrageiras de *S. depilis* de ninhos-controle (C; n= 3) e tratamento (T; n= 3) em março-abril (A) e setembro-outubro (B) de 2016, de acordo com as horas do dia.

Em ambos os períodos do estudo, houve correlação positiva e significativa entre a temperatura ambiente e a massa da carga polínica coletada pelas forrageiras dos ninhos-tratamento (Tabela 5). Já a umidade relativa correlacionou-se negativa e significativamente com a massa da carga de pólen das forrageiras dos dois grupos de ninhos apenas na primeira etapa do estudo (Tabela 5).

Tabela 5. Coeficiente correlação de Spearman (r) entre as cargas polínicas, expressa em massa seca (g), e fatores climáticos (temperatura e umidade relativa). Dados obtidos em março-abril e setembro-outubro de 2016, em ninhos-controle (C; $n=3$) e tratamento (T; $n=3$) de *S. depilis*.

fatores climáticos	março-abril				setembro-outubro			
	C		T		C		T	
	r	p	r	p	r	p	r	p
temperatura média diária	0,284	0,303	0,509	0,052	0,496	0,059	0,778	0,0001
umidade relativa média diária	-0,725	0,002	-0,622	0,013	-0,434	0,105	-0,439	0,101
temperatura média horária	0,828	0,041	0,942	0,004	0,600	0,207	0,600	0,207
umidade relativa média horária	-0,657	0,156	-0,771	0,072	-0,542	0,265	-0,542	0,265

Entre março e abril, quando comparamos as cargas de pólen nos 15 dias iniciais do experimento, não houve diferença significativa entre os ninhos-tratamento e controle. O contrário ocorreu com os 15 dias finais dessa primeira etapa, sendo que as forrageiras coletaram cargas polínicas significativamente mais pesadas (Tabela 6). As forrageiras dos ninhos-tratamento continuaram a coletar cargas de pólen significativamente maiores às dos ninhos-controle na segunda etapa do experimento, independentemente se no início ou fim do experimento (Tabela 6).

Quando comparamos as cargas polínicas carregadas pelas forrageiras nos 15 primeiros dias com os 15 dias finais de cada etapa experimental, houve diferença significativa apenas para os ninhos-tratamento entre setembro e outubro. Nesta etapa, as forrageiras dos ninhos-tratamento coletaram significativamente cargas de pólen mais pesadas nos 15 primeiros dias do que nos dias finais (Tabela 6).

Tabela 6. Valores do teste de Mann-Whitney (U) referentes às comparações das médias ($\pm$ erro-padrão) das cargas polínicas, expressa em massa seca (g), coletadas por forrageiras de *S. depilis* que retornaram aos ninhos-controle (C; n= 3) e tratamento (T; n= 3) em março-abril (A) e setembro-outubro (B) de 2016. i: 1° ao 15° dia de experimento; f: 16° ao 30° dia de experimento.

ninhos e período	carga polínica (g)		comparação	valor do teste	
	total	média		U	p
CAi	0,0624	0,0089 ($\pm$ 0,00120)	CAi vs. TAI	16,00	0,138
TAi	0,0756	0,0108 ($\pm$ 0,00170)	CAf vs. T Af	6,00	0,009
CAf	0,0611	0,0087 ($\pm$ 0,00100)	CBi vs. T Bi	5,00	0,006
TAf	0,0892	0,0127 ($\pm$ 0,00090)	CBf vs. T Bf	3,00	0,003
CBi	0,4038	0,0577 ($\pm$ 0,01420)	CAi vs. CAf	22,50	0,399
T Bi	1,0914	0,1559 ($\pm$ 0,02570)	TAi vs. T Af	18,50	0,766
CBf	0,2948	0,0421 ($\pm$ 0,00740)	CBi vs. CBf	19,00	0,241
T Bf	0,6827	0,0975 ($\pm$ 0,01310)	T Bi vs. T Bf	9,00	0,023

A razão entre carga de pólen e o número de forrageiras também não diferiu significativamente entre os grupos de ninhos, tanto nos primeiros 15 dias quanto nos 15 dias finais da primeira etapa experimental (Tabela 7). Por outro lado, nos 15 dias iniciais da segunda etapa, as forrageiras dos ninhos-tratamento transportavam significativamente cargas de pólen mais pesadas, por indivíduo, do que as dos ninhos-controle (Tabela 7). Mesmo comparando as cargas polínicas individuais no mesmo conjunto de ninhos, não houve diferenças significativas entre o início e o fim do período experimental para os ninhos-tratamento (Tabela 7).

Tabela 7. Valores do teste t pareado (t) referentes às comparações das médias ($\pm$ erro-padrão) da razão entre massa de carga polínica (g) e número de forrageiras de *S. depilis* que retornaram aos ninhos-controle (C; n= 3) e tratamento (T; n= 3) em março-abril (A) e setembro-outubro (B) de 2016. i: 1° ao 15° dia de experimento; f: 16° ao 30° dia de experimento.

ninhos e período	massa seca de pólen (g) [CP]	número de forrageiras [F]	média [(CP/F) $\times$ 10 ³]	comparação	valor do teste	
					t	p
CAi	0,062	636	0,101 ($\pm$ 0,013)	CAi vs. TAI	-0,483	0,318
TAi	0,075	807	0,092 ($\pm$ 0,013)	CAf vs. T Af	1,097	0,147
CAf	0,061	630	0,097 ($\pm$ 0,009)	CBi vs. T Bi	1,949	0,037
TAf	0,089	824	0,112 ($\pm$ 0,009)	CBf vs. T Bf	1,453	0,085
CBi	0,404	334	1,198 ($\pm$ 0,183)	CAi vs. CAf	0,214	0,417
T Bi	1,091	682	1,598 ($\pm$ 0,094)	TAi vs. T Af	-1,235	0,120
CBf	0,294	268	1,085 ($\pm$ 0,157)	CBi vs. CBf	0,472	0,323
T Bf	0,682	488	1,405 ($\pm$ 0,155)	T Bi vs. T Bf	1,066	0,154

3.3. Tamanho das forrageiras

Entre março e abril, embora as forrageiras coletoras de pólen dos ninhos-controle fossem maiores, em relação à distância intertegular, elas não diferiram significativamente em tamanho das dos ninhos-tratamento, mas diferiram significativamente em relação à sua massa seca (Tabela 8). Todavia, as forrageiras dos ninho-tratamento amostradas entre setembro e outubro foram significativamente maiores e mais pesadas que as operárias dos ninhos-controle (Tabela 8).

Tabela 8. Comparações das médias ($\pm$ erro-padrão) dos tamanhos corporais de forrageiras de *S. depilis* coletoras de pólen, avaliados pelas distâncias intertegulares e massas secas, e dos números de células de cria produzidas. Ninhos-controle (C; n= 3) e tratamento (T; n= 3) avaliados em março-abril (A) e setembro-outubro (B) de 2016.

		período	ninhos	total	média	valor do teste	
						U ou t	p
forrageiras	distância intertegular (mm)	A	C	150 *	1,789 (± 0,025)	-1,208 ^b	0,113
			T	148 *	1,780 (± 0,005)		
		B	C	120 *	1,789 (± 0,022)	4,500 ^b	<0,001
			T	120 *	1,818 (± 0,011)		
	massa seca (g)	A	C	150 *	0,0066 (± 0,0004)	8242,5 ^a	<0,001
			T	148 *	0,0061 (± 0,0002)		
		B	C	120 *	0,0060 (± 0,0003)	4812,5 ^a	<0,01
			T	120 *	0,0064 (± 0,0001)		
células de cria	A	C	6.170	205,60 (± 18,56)	313,5 ^a	0,021	
		T	4.694	156,40 (± 9,23)			
	B	C	5.121	176,50 (± 19,40)	295,5 ^a	0,026	
		T	6.789	234,10 (± 24,51)			

^a Teste de Mann-Whitney (U)

^b Teste t pareado (t)

* Número de forrageiras validadas quanto ao seu tamanho corporal (distância intertegular e massa seca)

3.4. Produção de células de cria

Entre março e abril, ocorreu significativamente maior produção de células de cria produzidas nos ninhos-controle do que nos ninhos-tratamento (Tabela 8). Entretanto, nos 15 dias iniciais os grupos não diferiram significativamente quanto ao número de células de cria produzidas, e sim nos quinze dias finais (Tabela 9). Na segunda etapa o inverso ocorreu, já que nos ninhos-tratamento diferiu significativamente dos ninhos-controle quanto à produção de células de cria (Tabela 8). Essa diferença foi significativa apenas na primeira metade do segundo período (Tabela 9).

Tabela 9. Valores do teste t pareado (t) referentes às comparações das médias ($\pm$ erro-padrão) do número células de cria construídas nos ninhos-controle (C; n= 3) e tratamento (T; n= 3) de *S. depilis*, em março-abril (A) e setembro-outubro (B) de 2016. i: 1° ao 15° dia de experimento; f: 16° ao 30° dia de experimento.

ninhos e período	número de células de cria		comparação	valor do teste	
	total	média		t	p
CAi	2.113	140,9 ($\pm 15,1$)	CAi vs.TAi	0,372	0,356
TAi	2.227	148,5 ($\pm 13,8$)	CAf vs.TAf	-3,857	<0,001
CAf	4.057	270,5 ($\pm 24,5$)	CBi vs.TBi	1,934	0,031
TAf	2.467	164,5 ($\pm 12,4$)	CBf vs.TBf	1,223	0,115
CBi	3.474	231,6 ($\pm 30,3$)	CAi vs. CAf	-4,502	<0,001
TBi	4.784	318,9 ($\pm 33,5$)	TAi vs. T Af	-0,862	0,197
CBf	1.647	109,8 ($\pm 12,4$)	CBi vs. CBf	3,724	<0,001
TBf	2.005	133,7 ($\pm 15,1$)	TBi vs. TBf	5,042	<0,001

3.5. Estoques de pólen nos ninhos

No início da primeira etapa experimental, os ninhos-controle tinham 40 potes de pólen. No 30° dia, os ninhos-controle e tratamento continham 41 e 12 potes, respectivamente. Durante esse período, as operárias dos ninhos-tratamento adicionaram $5,25 \pm 3,19$ potes e as dos ninhos-controle adicionaram $5,00 \pm 2,88$ potes, não havendo diferença significativa no acréscimo de potes entre os grupos de ninhos ($U = 8,0$; $p > 0,05$). Quanto à utilização dos estoques de pólen, considerada como a redução de potes, nos ninhos-controle as operárias usaram mais potes de pólen ($4,75 \pm 2,75$ potes) do que as dos ninhos-tratamento ($2,25 \pm 1,43$ potes), não havendo diferença significativa entre os grupos de ninhos ($U = 6,00$; $p = 0,281$). No primeiro dia da segunda etapa experimental, os ninhos-controle continham 11 potes de alimento. No final do experimento, nos ninhos-controle e tratamento havia 10 e 6 potes, respectivamente. Nessa etapa, os ninhos-tratamento continham em média mais potes ($11,8 \pm 3,92$ potes) que os ninhos-controle ($11,0 \pm 0,31$ potes), porém os grupos de ninhos não diferiram significativamente ($t = 0,202$; $p = 0,424$). Observamos pouca variação no número nos potes de pólen durante a segunda etapa do estudo. Embora nos ninhos-controle e tratamento tenham sido acrescentados $0,25 \pm 0,25$ pote e $5,0 \pm 3,13$ potes, respectivamente, essa diferença no acréscimo de potes de pólen não foi significativa ($U = 5,00$; $p = 0,193$). O uso de pólen também não diferiu entre os ninhos-tratamento ($3,5 \pm 3,5$ potes) e controle ($0,5 \pm 0,2$ potes) ($U = 7,00$; $p = 0,386$).

Apenas para os ninhos-tratamento no segundo período experimental houve correlação significativa entre o número de potes de pólen e a quantidade de cria produzida ($r = 1,00$; $p > 0,0001$). Para os ninhos-controle essa relação foi positiva tanto para o primeiro ($r = 0,105$; $p >$

0,894) quanto o segundo período ($r = 0,500$; $p > 0,666$) e, para os ninhos-tratamento, ela foi negativa ($r = -0,400$; $p = 0,600$).

3.6. Ninhos-tratamento vs. Ninhos-controle

Combinando os dados obtidos nos dois períodos, eles mostraram que nos ninhos sem estoque de pólen houve maior número de forrageiras que coletaram maior quantidade desse recurso protéico, diferindo significativamente dos ninhos com reservas de pólen (Tabela 10). Embora não tenha havido diferenças significativas, as forrageiras que coletavam pólen e o número de células de cria dos ninhos-tratamento foram maiores em relação aos ninhos-controle (Tabela 10).

Tabela 10. Valores do teste de Mann-Whitney (U) referentes às comparações das médias ($\pm$ erro-padrão) do número de forrageiras com pólen, da massa da carga polínica coletada e do número de células de cria construídas em ninhos-controle (C; $n = 3$) e tratamento (T; $n = 3$) de *S. depilis*.

parâmetro avaliado	ninhos	média	valor do teste	
			U	p
número de forrageiras com pólen	C	139,42 ($\pm 12,380$)	1220,0	0,0012
	T	210,00 ($\pm 16,050$)		
distância intertegular das forrageiras (mm)	C	1,7846 ($\pm 0,0057$)	24,0	0,2004
	T	1,7962 ($\pm 0,0086$)		
massa seca das forrageiras (g)	C	0,0063 ($\pm 0,0002$)	29,0	0,3764
	T	0,0062 ($\pm 0,0002$)		
massa seca das cargas polínicas (g)	C	0,0274 ($\pm 0,0054$)	307,0	0,0173
	T	0,0646 ($\pm 0,0131$)		
número de células de cria	C	191,38 ($\pm 13,94$)	1695,5	0,4043
	T	194,62 ($\pm 13,79$)		

4. DISCUSSÃO

4.1. Atividade de forrageamento

A atividade de forrageamento de abelhas eussociais é influenciada pela integração de informações internas, basicamente a memória das operárias, e externas, que são os estímulos obtidos diretamente do ambiente dentro e fora do ninho (Biesmeijer *et al.* 1998). Dentre as informações externas estão as condições climáticas, que podem indicar a oferta de recursos tróficos pelas plantas (e.g. Hilário *et al.* 2001).

Forrageiras de *S. depilis* iniciam suas atividades quando a temperatura ambiente é superior a 15°C e em maior intensidade em épocas chuvosas (Figueiredo-Mecca *et al.* 2013), já que durante esse período há uma relação positiva entre a disponibilidade de fontes florais no ambiente e a quantidade de alimento armazenado em seus ninhos (Aleixo *et al.* 2017). Embora não tenha havido correlação significativa entre a temperatura ambiente e o número de forrageiras retornando com pólen para os ninhos-controle e tratamento, durante o primeiro período a atividade de forrageamento foi maior e o pico de atividade ocorreu mais cedo do que no segundo período, que teve temperaturas relativamente mais amenas.

Observamos que a maior atividade de coleta de pólen pelas forrageiras de *S. depilis* ocorreu de manhã, e as forrageiras dos ninhos-tratamento iniciaram suas atividades uma hora antes que as dos ninhos-controle. A atividade das forrageiras de abelhas sem ferrão na coleta de pólen ocorre com maior intensidade no período da manhã, visto que a disponibilidade desse recurso protéico é mais abundante nas primeiras horas do dia e escasso à tarde (Hilário *et al.* 2003).

Como fatores para o início da atividade de forrageamento em abelhas sem ferrão, destacamos as variáveis climáticas (Hilário *et al.* 2001), a estação do ano (Maia-Silva *et al.* 2016), o sucesso das forrageiras em coletas anteriores (Biesmeijer *et al.* 1998), o ritmo circadiano (Bellusci & Marques 2001), número de operárias adultas e cria nos ninhos (Hilário *et al.* 2003) e o status reprodutivo da colônia (Nunes-Silva *et al.* 2010). Em *Melipona subnitida*, o início da atividade de coleta de pólen difere entre as estações seca e chuvosa e também em relação à quantidade de pólen estocado no ninho (Maia-Silva *et al.* 2016).

O pico de atividade de forrageamento de *S. depilis* não correspondeu com o horário no qual se observou cargas polínicas individuais mais pesadas durante a primeira fase, bem como com o horário no qual obtivemos cargas de pólen mais pesadas. Interessante notar que nas primeiras horas da manhã, maior número de forrageiras coletaram pólen, mas o total das cargas de pólen coletado se manteve baixo. Contudo, horas depois houve incremento na massa de pólen transportado por forrageira e conjuntamente menos

forrageiras retornavam com pólen aos seus ninhos. Esse fenômeno pode estar associado a uma estratégia da colônia em obter maior número de informações sobre a disponibilidade de recursos no ambiente (Biesmeijer *et al.* 1998), e com isso reorganizar as tarefas, alocando menor quantidade de indivíduos para coleta de recursos nas fontes consideradas mais rentáveis (Faria *et al.* 2012). Assim, a colônia consegue coletar grande quantidade de recursos mais rapidamente e pode economizar energia para períodos de escassez de alimento.

Mesmo que de forma diferente, mas igualmente interessante, notamos no segundo período experimental que as forrageiras dos ninhos-tratamento, nas primeiras horas da manhã, transportaram individualmente cargas polínicas mais pesadas. Depois disso, ocorreu redução na quantidade de pólen carregado por forrageira, mas, houve incremento no número de forrageiras retornando com pólen. Esse padrão comportamental pode estar associado também à disponibilidade de recursos no ambiente (Aleixo *et al.* 2017). A baixa oferta de pólen no ambiente pode ocasionar competição intra- e interespecífica por esse recurso e, conseqüentemente, as forrageiras, individualmente, coletariam grande quantidade de pólen em suas viagens iniciais. Se poucas forrageiras transportando maiores cargas polínicas não forem suficientes para suprir as necessidades energéticas das colônia, mais operárias são recrutados (Jarau *et al.* 2003).

As abelhas eussociais ajustam com flexibilidade suas atividades de forrageamento por recursos tróficos também em resposta às necessidades nutricionais (Eltz *et al.* 2001; Hofstede & Sommeijer 2006; Kleinert *et al.* 2009). No primeiro período deste estudo, a remoção dos estoques de pólen nos ninhos não resultou em ajustes significativos no número de forrageiras que coletaram este recurso. Tais resultados corroboram com o que ocorre em ninhos de *M. beecheii*, na qual a redução experimental nos seus estoques de pólen não acarretou no aumento da atividade de forrageamento. Pelo contrário, nos primeiros dez dias, devido à baixa disponibilidade desse recurso no ambiente, às atividades de forrageamento quase pararam. Porém, as atividades intensificaram quando a oferta de pólen no ambiente aumentou, pois mais forrageiras bem-sucedidas retornavam ao ninho de *M. beecheii* e transferiam essa informação às suas companheiras e, desta forma, mais operárias foram alocadas para a coleta de tal recurso (Biesmeijer *et al.* 1999). Em *M. subnitida*, após remoção dos estoques de pólen, ou ainda com acréscimo destes, também não resultou em ajustes na atividade de forrageamento (Maia-Silva *et al.* 2016). Entretanto, essa espécie ocorre na Caatinga, região onde os recursos florais utilizados pelas abelhas estão disponíveis por um período curto do ano (Zanella & Martins 2003).

Entre setembro e outubro, a atividade de forrageamento de operárias dos ninhos-controle e tratamento foi diferente daquela ocorrida em março e abril de 2016. As forrageiras dos ninhos-tratamento se comportaram de forma similar à *Apis mellifera* que,

após sofrer redução nos estoques de pólen de seus ninhos, aumentou a frequência de viagens a campo para coleta deste recurso (Fewell & Winston 1992). Além disso, as forrageiras de ninhos de *A. mellifera* com baixo estoque de pólen coletam quantidade de pólen por unidade de peso corporal significativamente maior que as forrageiras de ninhos com altos estoques de pólen. Em *M. quadrifascita*, forrageiras de colônias mais ‘fracas’ são menores, contudo elas carregam maiores cargas de pólen por unidade de massa corporal do que operárias maiores de colônias ‘fortes’ [termo utilizado para designar ninhos compostos por maior número de operárias adultas, favos de cria com diâmetros maiores, grandes estoques de pólen e mel, quando comparados com colônias ‘fracas’] (Ramalho *et al.* 1998).

Embora entre março e abril não tenha havido diferenças significativas entre os grupos de ninhos quanto ao número de forrageiras que retornaram com cargas polínicas, nos primeiros quize dias mais forrageiras foram alocadas dos ninhos-tratamento para coleta de pólen em relação aos 15 dias finais. De acordo com Aleixo *et al.* (2017), de dezembro a março é o período com maior disponibilidade de recursos tróficos nas flores e, após este período, há redução na disponibilidade de pólen no ambiente. Consequentemente menor a atividade de coleta desse recurso pelas forrageiras de *S. depilis*, o que corresponde com o comportamento observado durante esta primeira etapa.

Entre setembro e outubro, registramos maior número de forrageiras com cargas polínicas retornando aos ninhos-tratamento, do que aos ninhos-controle, tanto nos 15 dias iniciais quanto nos 15 finais desse período experimental. Esse resultado pode ser devido ao início da estação chuvosa, quando inicia o aumento na disponibilidade de recursos no ambiente (Aleixo *et al.* 2017). O baixo estoque de pólen no início do experimento nos ninhos-tratamento pode ter sido recuperado com a gradual alocação de maior número de forrageiras para a coleta desse recurso, visto que nesse período há mais recursos tróficos no ambiente do que no anterior.

4.2. Cargas polínicas e tamanho das forrageiras

A capacidade de carga de forrageiras é baseada na massa de pólen carregada por unidade de massa corporal do indivíduo. Embora a quantidade de pólen que as forrageiras de espécies com menores tamanhos corporais carregam seja menor, elas possuem capacidade de carga superior à das forrageiras de espécies maiores (Ramalho *et al.* 1994). Mesmo indivíduos de uma mesma espécie, como em *M. quadrifasciata*, apresentam diferenças quanto ao tamanho e massa corporal de acordo com a população da colônia, quantidade de cria e estoques de pólen. Mesmo que colônias fracas tenham forrageiras

menores, estas têm capacidade de carga superior em relação às forrageiras maiores de colônias fortes (Ramalho *et al.* 1998).

Embora não pudéssemos calcular a massa das forrageiras com a massa das cargas polínicas coletadas por elas, por não as individualizar logo após a coleta, obtivemos a razão entre a massa das cargas polínicas e o número de forrageiras que as coletaram tanto para horários quanto para dias distintos. No primeiro período experimental, não houve diferença significativa na quantidade de pólen/forrageira. Porém, as forrageiras mais leves dos ninhos-tratamento coletaram significativamente mais pólen que as forrageiras mais pesadas dos ninhos-controle, corroborando os resultados de Ramalho *et al.* (1998). No entanto, a quantidade de pólen coletada nos NT foram associados à capacidade de carga mais elevada, visto que, as forrageiras eram menores e mais leves, além de haver maior disponibilidade de fontes polínicas nesse período do estudo (Ramalho *et al.* 1994; Aleixo *et al.* 2017). No segundo período, foi registrado maior número de forrageiras retornando com cargas polínicas e também foi coletado significativamente mais pólen nos ninhos-tratamento. Estes ninhos apresentaram, em média, uma razão de massa de pólen/forrageira significativamente maior e, com isso a coleta de pólen pelas forrageiras dos ninhos-tratamento foi bem-sucedida em relação às forrageiras dos ninhos-controle. A variação da capacidade de carga polínica entre indivíduos de uma mesma espécie em relação ao estado da colônia é muito interessante, uma vez que pode ser uma estratégia para contrabalancear os custos de produção de cria e obtenção de recursos em períodos de escassez (Ramalho *et al.* 1994; Maia-Silva *et al.* 2014).

A análise conjunta dos dois períodos demonstrou que a massa das cargas polínicas das forrageiras dos ninhos-tratamento foi, em média, significativamente maior do que as dos ninhos-controle. Nos primeiros quinze dias as forrageiras dos ninhos-controle transportaram, individualmente, cargas polínicas maiores. O inverso ocorreu nos 15 dias finais quando as forrageiras dos ninhos-tratamento transportaram uma quantidade de pólen por indivíduo em média mais pesada. Entretanto em nenhum momento desta primeira etapa houve diferença significativa na razão de pólen forrageira entre os conjuntos de ninhos.

4.3. Produção de células de cria e Estoques de pólen nos ninhos

A coleta, armazenamento e uso de pólen em quantidade e qualidade bem como a produção de cria em insetos eussociais é determinada pelas flutuações sazonais da disponibilidade de recursos (Aleixo 2013), que podem causar alterações no fitness reprodutivo dos indivíduos e da colônia (Pech-May *et al.* 2012) e na capacidade de coleta de pólen (Fewell & Winston 1992; Ramalho *et al.* 1994).

O contraste entre os Apini e os Meliponini quanto à regulação das atividades de forrageamento por pólen pode ser atribuído à forma como esses dois grupos alimentam a cria (Michener 1974). Na primeiro tribo de abelhas, as nutridoras alimentam progressivamente as larvas, o que requer constante aporte polínico (Michener 1974). Já nas abelhas sem ferrão, todo o alimento larval necessário para o desenvolvimento da cria se dá de uma única vez e a ausência temporária de armazenamento de pólen não acarretará perda imediata de cria (Maia-Silva *et al.* 2016).

A redução experimental das reservas de pólen em *A. mellifera* resulta em ajustes na atividade de forrageamento (Camazine 1993). Além disso, colônias de *A. mellifera* com baixo estoque de pólen não sofrem alterações quanto ao número total de crias abertas (ovos e larvas), mesmo após a manipulação das reservas de pólen, mas o número de crias operculadas (pupas) teve reduções significativas (1992). A grande quantidade de cria aberta atua como um estímulo positivo para incremento na atividade de forrageio de coleta de pólen, visto que necessitam alimentar constantemente os imaturos (Dreller *et al.* 1999).

Na primeira etapa deste trabalho não houve diferença no acréscimo de potes de pólen nos grupos de ninhos. Entretanto, nos ninhos-controle a produção de cria foi significativamente maior em relação aos ninhos-controle, pois isso se deve ao fato de que com grande aporte polínico, esses ninhos possuíam recursos necessários para o provisionamento das células de cria construídas. Também, nesses ninhos também houve maior consumo do polén que foi gradualmente estocado. Quando houve acréscimos experimentais de pólen nos ninhos de *M. subnitida*, conseqüentemente, a produção de cria aumentou (Maia-Silva *et al.* 2016). Já nos ninhos-tratamento a quantidade de cria produzida permaneceu significativamente baixa durante o estudo, principalmente nos quinze primeiros dias após a manipulação para a redução drástica dos estoques de pólen. Embora não tenhamos encontrado correlação significativa entre o número de potes de pólen e a quantidade de cria produzida, nem diferença estatisticamente significativa no acréscimo de potes entre os grupos de ninhos, acreditamos que nos ninhos-tratamento o pólen trazido pelas operárias era, em parte armazenado, e não utilizado totalmente no provisionamento das células de cria. Como neste período a disponibilidade de recursos no ambiente começa a reduzir (Aleixo *et al.* 2017), colônias com baixos estoques de alimento em seus ninhos priorizam a busca de alimento para armazenamento (Maia-Silva *et al.* 2016).

Em colônias de *M. beecheii*, o estresse polínico não apenas causou redução na produção de cria, mas também, gerou canibalismo no estágio larval (Biesmeijer *et al.* 1999). É evidente a importância de reservas polínicas na produção de cria. Os resultados obtidos neste trabalho corroboram com as observações realizadas em *M. subnitida*, na

qual, a remoção experimental dos estoques de pólen resultou em significativa redução na taxa diária de cria produzida, entretanto, o inverso ocorre quando pólen é adicionado, pois há incremento na produção (Maia-Silva *et al.* 2016).

Não se avaliou o uso do pólen no interior dos ninhos, mas o número de potes de pólen em ninhos de *S. depilis* pode variar de acordo com seu uso na produção de cria, inclusive, na alimentação dos adultos recém-emergidos. O pólen fermentado, encontrado nos potes de alimento, é preferido por operárias recém-mergidas de *S. depilis* em relação ao pólen fresco, recém-depositado em potes e não-fermentado (Vollet-Neto *et al.* 2017). Em períodos de escassez deste recurso o uso direto de pólen fresco pode ser uma estratégia da espécie para nutrição tanto de larvas quanto de adultos (Biesmeijer *et al.* 1999). A ausência de correlação entre o número de potes de pólen e a produção de cria, no primeiro período experimental, pode estar associado ao fato das operárias adultas alimentarem-se preferencialmente do pólen armazenado (Vit *et al.* 2013; Vollet-Neto *et al.* 2017). No segundo período experimental, houve em média maior acréscimo de potes de pólen nos ninhos-tratamento e, conseqüentemente, produção significativamente maior em relação aos ninhos-controle. Esse melhor desempenho na produção de cria, assim como no armazenamento de pólen nos ninhos-tratamento, pode estar associado ao maior sucesso nas viagens de coleta de pólen anterior, ou seja, memória das forrageiras (Biesmeijer & Slaa 2004), maior realção massa de pólen por forrageira (Ramalho *et al.* 1998) e alta atividade de forrageamento.

Quando analisamos os dados conjuntamente, em média nos ninhos-tratamento mais células de cria foram produzidas do que nos ninhos-controle, porém não houve diferença significativa. Comonão houve diferença significativa entre os grupos de ninhos, nossos dados não corroboram aos obtidos em ninhos de *M. subnitida*, nos quais a redução ou a adição de pólen não resulta em ajustes na atividade de forrageamento, mas sim na produção de cria (Maia-Silva *et al.* 2016).

Neste estudo, as colônias de *S. depilis* comportaram-se como as de *A. mellifera*, em que a atividade de forrageamento é ajustada conforme as necessidades energéticas (Fewell & Winston 1992). Esse ajuste ocorre mais em resposta à disponibilidade de recursos no ambiente do que à produção de cria, já que a redução dos estoques de pólen não causa a perda imediata de população, como pode ocorrer em *Apis* em períodos de escassez de recursos e estresse alimentar (Maia-Silva *et al.* 2016; Aleixo *et al.* 2017) .

É conhecida a plasticidade comportamental dos insetos eussociais frente às mudanças coloniais e/ou ambientais (Hilário *et al.* 2001, 2003; Maia-Silva *et al.* 2014). Contudo mesmo demonstrando a capacidade de colônias de *S. depilis* em regular a atividade de forrageamento e produção de cria, estes parâmetros são influenciados por uma gama de fatores, o que torna difícil a previsão de possíveis respostas. Com a alta

necessidade de pólen, as colônias intensificariam a atividade externa para elevar o sucesso em obter tal recurso. Porém, se há baixa disponibilidade desse recurso no ambiente, em quantidade e/ou qualidade, essas colônias não apenas diminuirão sua atividade externa como também a produção de cria (Biesmeijer *et al.* 1999; Maia-Silva *et al.* 2016). Além disso, a atividade externa, mesmo com um reduzido número de forrageiras, pode resultar em coleta substancial de recursos, gerando lucro energético no balanço entre o forrageamento e a manutenção da colônia. Com isso, as colônias podem ajustar a coleta de recursos e a produção de cria para suportar períodos de estresse ambiental. Essa premissa parece corroborar com os resultados obtidos entre março e abril, e os meses posteriores a este período são conhecidos por terem baixa disponibilidade de recursos florais. Embora não tenha ocorrido diferença no acréscimo de potes de pólen entre os grupos de ninhos, a baixa produção de cria nos ninhos-tratamento pode estar associada a estes ajustes, visto que, com menor oferta de recursos no ambiente as colônias priorizaram o estoque de recursos a produzir grande quantidade de cria. Já durante o segundo período, houve maior acréscimo de potes de pólen nos ninhos-tratamento e também mais cria foi produzida.

Baseando-se nisso, presumimos que a elevação da quantidade de recursos disponíveis no ambiente, somada às necessidades protéicas das abelhas dos ninhos-tratamento, causou ajustes na atividade de forrageamento e também no transporte individual de cargas polínicas mais pesadas. Como os meses seguintes ao estudo são conhecidos por haver maior quantidade de recursos disponíveis, as colônias não estocaram tanto alimento, mas sim aumentaram a produção de cria, o que favoreceria a obtenção de recursos num futuro próximo. Estes ajustes comportamentais são plausíveis quando consideramos que estas abelhas são adaptadas às condições climáticas e ambientais, como a sazonalidade de recursos tróficos, na sua região de distribuição nativa, o que as tornam capazes de regular suas atividades externas e internas a curto e a longo prazo.

4.4. Uso de abelhas sem ferrão na agricultura e contribuições deste estudo

No Brasil, cerca de 60% das culturas agrícolas de importância econômica dependem de polinizadores, que contribuem com quase 30% do valor anual da produção agrícola nacional (Giannini *et al.* 2015). Mas assim como em muitos outros países, a espécie exótica *A. mellifera* é a mais manejada para polinização agrícola no Brasil (e.g. maçã no Sul e melão no Nordeste). Contudo, nem sempre *A. mellifera* poliniza eficientemente (Kearns *et al.* 1998) determinadas culturas agrícolas, o que torna economicamente viável empregar um agente polinizador compatível e eficaz (Slaa *et al.* 2006). Neste cenário, as abelhas sem

ferrão vêm ganhando cada vez mais espaço, tanto em sistemas agrícolas abertos quanto em estufa nas regiões tropicais (Heard 1999; Slaa *et al.* 2006; Venturieri *et al.* 2012).

Das 1.858 espécies descritas no Brasil (Ascher & Pickering 2017), cerca de 245 correspondem às abelhas sem ferrão (Pedro 2014). Nas regiões tropicais e subtropicais, elas compõem o grupo (com 500 espécies) mais diverso de abelhas sociais e suas características comportamentais as tornam ecologicamente dominantes em relação aos visitantes florais nativos (Bawa 1990). A primeira diz respeito à perenialidade de suas colônias, compostas por uma rainha e centenas a milhares de operárias que, uma vez estabelecidas num determinado local, lá permanecem por anos até décadas (Roubik 1989). A segunda se refere à perda da habilidade de voo da rainha depois que ela é fecundada, já que seu abdômen se desenvolve muito devido ao número de ovos produzidos (Michener 1974). Assim, caso haja qualquer tipo de perturbação, a colônia inteira permanece e não abandona o local do ninho, como ocorre com outros grupos de abelhas. A terceira característica está no modo como as colônias se reproduzem, pelo processo de enxameagem. Neste, o vínculo estreito entre colônia-filha e colônia-mãe permanece por muitos dias, pois a primeira depende de recursos (alimento e materiais de construção de ninhos) armazenados pela colônia-mãe (Nogueira-Neto 1954), o que impede a dispersão das novas colônias para longas distâncias. A quarta se relaciona ao fato de que as operárias visitam as flores para coletarem recursos tróficos em um raio de ação relativamente curto, de aproximadamente 1.000m (Araújo *et al.* 2004), o que melhora a eficiência de forrageio. Além dessas, as operárias de abelhas sem ferrão apresentam outras características comportamentais favoráveis para atuar como agentes polinizadores: (a) em nível colonial, a polilectia, quando elas coletam néctar e pólen em uma ampla gama de espécies vegetais; (b) em nível individual, a constância ou fidelidade floral, quando se especializam em visitar flores de uma espécie vegetal durante um determinado período de tempo, o que garante uma polinização eficiente; (c) o forrageamento contínuo, e ao longo de todo o ano, e; (d) o estoque de grande quantidade de alimento nos ninhos (Michener 1974; Kleinert *et al.* 2009). Além desses aspectos comportamentais, questões alicadass aliadas às biológicas, também as tornam candidatas mais do que adequadas para uso em programas de polinização dirigida, como o uso de caixas racionais para sua criação, a facilidade de multiplicação de seus ninhos, a ausência de um ferrão funcional e atividade de forrageamento em ambientes fechados. Portanto, o espectro de diferenças e similaridades intrespecíficas permite que a(s) melhor(es) espécie(s) seja(m) escolhida(s) para uma dada cultura agrícola (Heard 1999; Slaa *et al.* 2006; Tabela 11).

Contudo, o principal gargalo para o emprego de abelhas sem ferrão em sistemas agrícolas é a multiplicação de colônias em larga-escala (Cortopassi-Laurino *et al.* 2006; Menezes *et al.* 2013) e, para que isso ocorra, a combinação de conhecimentos biológicos e

aplicados se faz necessária. Aspectos da biologia reprodutivas compõem um dos pilares para a viabilização da multiplicação em escala comercial. Um deles se refere ao baixo número de rainhas produzidas pelas colônias. Na maioria das espécies de abelhas sem ferrão, as rainhas são criadas em células reais, maiores em diâmetro e comprimento em relação às células de cria de onde emergem operárias e machos, e em baixa frequência (Imperatriz-Fonseca & Zucchi 1995; Santos-Filho *et al.* 2006). A fim de contornar esse obstáculo, a criação *in vitro* de rainhas foi implementada (Menezes 2010) e resultados bem-sucedidos têm sido obtidos para algumas espécies, como *Frieseomelitta varia* (Baptistella *et al.* 2012), *Plebeia droryana* (Santos *et al.* 2016), *S. depilis* (Menezes *et al.* 2013) e *Tetragonisca angustula* (Prato 2010). O segundo aspecto está relacionado com a fecundação das rainhas. Embora as rainhas produzidas *in vitro* sejam capazes de acasalar e colocar ovos viáveis (Menezes *et al.* 2013), a inseminação artificial dessas rainhas ainda não é uma técnica disponível, como é para *A. mellifera*. Outro pilar, igualmente importante, está relacionado à sobrevivência das colônias, como, por exemplo, o ajuste das atividades de coleta de recursos tróficos nas flores pelas operárias em resposta às necessidades nutricionais da colônia. Dessa forma, os resultados obtidos neste estudo contemplam parte dessa lacuna de conhecimento. Mesmo utilizando uma espécie, a *S. depilis*, mostramos que as operárias ajustaram suas atividades e responderam comportamentalmente quando seus ninhos sofreram reduções drásticas nas reservas de pólen, fonte protéica essencial, especialmente, para os imaturos. Em geral, essas respostas comportamentais foram: (a) alocação de maior número de forrageiras para coleta de pólen; (b) alocação de forrageiras mais pesadas para coleta de pólen; (c) cargas polínicas mais pesadas transportadas pelas forrageiras; (d) maior produção de células de cria.

Em suma, nossos resultados provêm subsídios para o uso de abelhas sem ferrão em programas de polinização dirigida, que podem ser aliados a ações voltadas para conservação. Também mostramos a importância de estudos sobre biologia básica, com manipulações experimentais, que não só têm potencial para responder questões ecológicas e/ou evolutivas, como também as aplicadas. Dessa forma, este estudo proveu interessantes resultados que, certamente, abrem novos horizontes para a pesquisa básica e aplicada nessa área.

Tabela 11. Culturas agrícolas polinizadas por abelhas sem ferrão no Brasil.

espécie	cultura agrícola			referência
	família	espécie	nome popular	
<i>Cephalotrigona capitata</i> (Smith)	Bixaceae	<i>Bixa orellana</i>	urucum	[1]
<i>Frieseomelitta doederleini</i> (Friese)	Asteraceae	<i>Helianthus annuus</i>	girassol	[1]
<i>Frieseomelitta varia</i> (Lepeletier)	Lauraceae	<i>Persea americana</i>	abacate	[1]
<i>Melipona fasciculata</i> Smith	Solanaceae	<i>Capsicum annuum</i>	pimentão	[1]
	Arecaceae	<i>Euterpe oleracea</i>	açaí	[1]
	Euphorbiaceae	<i>Manihote sculenta</i>	mandioca	[1]
	Solanaceae	<i>Capsicum annuum</i>	pimentão	[1]
		<i>Capsicum chinense</i>	pimenta-malag.	[1]
		<i>Lycopersicon esculentum</i>	tomate	[3]
		<i>Solanum melongena</i>	berinjela	[3]
<i>Melipona flavolineata</i> Friese	Arecaceae	<i>Euterpe oleracea</i>	açaí	[3]
<i>Melipona mandacaia</i> Smith	Myrtaceae	<i>Psidium guajava</i>	goiaba	[3]
<i>Melipona quadrifasciata</i> Lepeletier	Myrtaceae	<i>Psidium guajava</i>	goiaba	[1]
	Bixaceae	<i>Bixa orellana</i>	urucum	[1]
	Cucurbitaceae	<i>Cucurbita moschata</i>	abóbora	[1]
	Malpighiaceae	<i>Malpighia emarginata</i>	acerola	[1]
	Myrtaceae	<i>Psidium guajava</i>	goiaba	[1]
	Rosaceae	<i>Malus domestica</i>	maçã	[4]
	Rubiaceae	<i>Coffea arabica</i>	café	[1]
	Solanaceae	<i>Capsicum annuum</i>	pimentão	[1]
		<i>Capsicum frutescens</i>	pimenta-malag.	[3]
		<i>Lycopersicon esculentum</i>	tomate	[2]
<i>Melipona scutellaris</i> Latreille	Lauraceae	<i>Persea americana</i>	abacate	[1]
	Myrtaceae	<i>Psidium guajava</i>	goiaba	[1]
	Rutaceae	<i>Citrus reticulata</i>	tangerina	[1]
	Solanaceae	<i>Capsicum annuum</i>	pimentão	[1]
<i>Melipona seminigra</i> Friese	Sapindaceae	<i>Paullinia cupana</i>	guaraná	[3]
<i>Melipona subnitida</i> Ducke	Asteraceae	<i>Helianthus annuus</i>	girassol	[1]
	Bixaceae	<i>Bixa orellana</i>	urucum	[1]
	Lauraceae	<i>Persea americana</i>	abacate	[1]
	Myrtaceae	<i>Psidium guajava</i>	goiaba	[3]
	Solanaceae	<i>Capsicum annuum</i>	pimentão	[2]
<i>Mourella caerulea</i> (Friese)	Amaryllidaceae	<i>Allium cepa</i>	cebola	[1]
<i>Nannotrigona punctata</i> (Smith)	Lauraceae	<i>Persea americana</i>	abacate	[1]
	Myrtaceae	<i>Psidium guajava</i>	goiaba	[1]
	Proteaceae	<i>Macadamia integrifolia</i>	macadâmia	[1]
<i>Nannotrigona testaceicornis</i> (Lepeletier)	Asteraceae	<i>Helianthus annuus</i>	girassol	[3]
	Cucurbitaceae	<i>Cucumis sativus</i>	pepino	[2]
	Malpighiaceae	<i>Malpighia glabra</i>	acerola	[1]
	Myrtaceae	<i>Psidium guajava</i>	goiaba	[1]
	Rosaceae	<i>Fragaria x ananassa</i>	morango	[2]
	Solanaceae	<i>Capsicum annuum</i>	pimentão	[1]
<i>Paratrigona lineata</i> (Lepeletier)	Rosaceae	<i>Fragaria x ananassa</i>	morango	[1]
	Solanaceae	<i>Capsicum annuum</i>	pimentão	[1]
<i>Partamona cupira</i> (Smith)	Malpighiaceae	<i>Malpighia glabra</i>	acerola	[1]
	Myrtaceae	<i>Psidium guajava</i>	goiaba	[1]

Cont.

espécie	cultura agrícola			referência
	família	espécie	nome popular	
<i>Partamona helleri</i> (Fries)	Lauraceae	<i>Persea americana</i>	abacate	[1]
<i>Plebeia emerina</i> (Fries)	Brassicaceae	<i>Brassica napus</i>	canola	[5]
<i>Plebeia nigriceps</i> (Fries)	Rosaceae	<i>Fragaria x ananassa</i>	morango	[1]
<i>Scaptotrigona bipunctata</i> (Lepeletier)	Apiaceae	<i>Daucus carota</i>	cenoura	[1]
	Asteraceae	<i>Helianthus annuus</i>	girassol	[1]
	Solanaceae	<i>Capsicum annuum</i>	pimentão	[2]
<i>Scaptotrigona depilis</i> (Moure)	Cucurbitaceae	<i>Cucumis sativus</i>	pepino	[2]
	Solanaceae	<i>Solanum melongena</i>	berinjela	[2]
	Rosaceae	<i>Fragaria x ananassa</i>	morango	[2]
<i>Schwarziana quadripunctata</i> (Lepeletier)	Bixaceae	<i>Bixa orellana</i>	urucum	[1]
	Malvaceae	<i>Gossypium hirsutum</i>	algodão	[1]
<i>Tetragona clavipes</i> (Fabricius)	Euphorbiaceae	<i>Manihot esculenta</i>	mandioca	[1]
<i>Tetragonisca angustula</i> (Latreille)	Amaryllidaceae	<i>Allium cepa</i>	cebola	[1]
		<i>Allium porrum</i>	alho-poró	[2]
	Anacardiaceae	<i>Mangifera indica</i>	manga	[1]
	Apiaceae	<i>Daucus carota</i>	cenoura	[1]
	Asteraceae	<i>Cichorium endivia</i>	endívia	[2]
		<i>Cichorium intybus</i>	chicória	[2]
	Bixaceae	<i>Bixa orellana</i>	urucum	[1]
	Brassicaceae	<i>Brassica napus</i>	canola	[1]
		<i>Brassica oleracea</i>	brócolis	[2]
		<i>Raphanus sativus</i>	nabo-forrageiro	[2]
	Cucurbitaceae	<i>Citrullus lanatus</i>	melancia	[1]
	Lauraceae	<i>Persea americana</i>	abacate	[1]
	Malpighiaceae	<i>Malpighia emarginata</i>	acerola	[1]
	Myrtaceae	<i>Psidium guajava</i>	goiaba	[1]
	Rosaceae	<i>Fragaria x ananassa</i>	morango	[2]
	Rubiaceae	<i>Citrus sinensis</i>	laranja	[1]
	Rutaceae	<i>Citrus reticulata</i>	tangerina	[1]
	Solanaceae	<i>Capsicum annuum</i>	pimentão	[1]
<i>Tetragonisca fiebrigi</i> (Schwarz)	Brassicaceae	<i>Brassica napus</i>	canola	[5]
	Rubiaceae	<i>Coffea arabica</i>	café	[1]
<i>Trigona cupira</i> (Smith)	Cucurbitaceae	<i>Sechium edule</i>	chuchu	[2]
<i>Trigona hyalinata</i> (Lepeletier)	Asteraceae	<i>Helianthus annuus</i>	girassol	[1]
	Cucurbitaceae	<i>Cucurbita moschata</i>	abóbora	[1]
	Myrtaceae	<i>Psidium guajava</i>	goiaba	[1]
<i>Trigona pallens</i> (Fabricius)	Arecaceae	<i>Euterpe oleracea</i>	açaí	[1]
<i>Trigona spinipes</i> (Fabricius)	Amaryllidaceae	<i>Allium cepa</i>	cebola	[1]
	Arecaceae	<i>Cocos nucifera</i>	coco	[1]
	Asteraceae	<i>Helianthus annuus</i>	girassol	[1]
	Bixaceae	<i>Bixa orellana</i>	urucum	[1]
	Brassicaceae	<i>Brassica napus</i>	canola	[1]
	Cucurbitaceae	<i>Citrullus lanatus</i>	melancia	[1]
		<i>Cucumis melo</i>	melão	[1]
		<i>Cucurbita pepo</i>	abóbora	[1]
		<i>Sechium edule</i>	chuchu	[1]

Fim.

espécie	cultura agrícola			referência
	família	espécie	nome popular	
<i>Trigona spinipes</i> (Fabricius)	Myrtaceae	<i>Psidium guajava</i>	goiaba	[1]
	Proteaceae	<i>Macadamia integrifolia</i>	macadâmia	[1]
	Rosaceae	<i>Prunus persica</i>	pêssego	[1]
	Rubiaceae	<i>Citrus sinensis</i>	laranja	[1]
	Solanaceae	<i>Solanum melongena</i>	berinjela	[1]

Referências bibliográficas: [1] Giannini et al. 2014; [2] Slaa et al. 2006; [3] Venturieri et al. 2012; [4] Viana et al. 2014; [5] Witter et al. 2015.

REFERÊNCIAS

- Aleixo KP (2013) *Sazonalidade na disponibilidade de alimento e dinâmica de forrageamento em Scaptotrigona aff. depilis (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)* Dissertação, Universidade de São Paulo.
- Aleixo KP, Menezes C, Imperatriz-Fonseca VL, Silva CI (2017) Seasonal availability of floral resources and ambient temperature shape stingless bee foraging behavior (*Scaptotrigona aff. depilis*). *Apidologie* **48**, 117-127.
- Araújo E, Costa M, Chaud-Netto J, Fowler H (2004) Body size and flight distance in stingless bees (Hymenoptera: Meliponini): inference of flight range and possible ecological implications. *Brazilian Journal of Biology* **64**, 563-568.
- Araujo ED, Costa M, Chaud-Netto J, Fowler HG (2004) Body size and flight distance in stingless bees (Hymenoptera: Meliponini): Inference of flight range and possible ecological implications. *Brazilian Journal of Biology* **64**, 563-568.
- Ascher JS, Pickering J (2017) *Discover life: bee species guide and world checklist (Hymenoptera: Apoidea: Anthophila)*.
http://www.discoverlife.org/mp/20q?guide=Apoidea_species&flags=HAS
- Baptistella AR, Souza CCM, Santana WC, Soares AEE (2012) Techniques for the in vitro production of queens in stingless bees (Apidae, Meliponini). *Sociobiology* **59**, 297-310.
- Bawa K (1990) Plant-pollinator interactions in tropical rain forests. *Annual Review of Ecology and Systematics* **21**, 399-422.
- Bellusci S, Marques MD (2001) Circadian activity rhythm of the foragers of a eusocial bee (*Scaptotrigona aff. depilis*, Hymenoptera, Apidae, Meliponinae) outside the nest. *Biological Rhythm Research* **32**, 117-124.
- Biesmeijer JC, Born M, Lukacs S, Sommeijer MJ (1999) The response of the stingless bee *Melipona beecheii* to experimental pollen stress, worker loss and different levels of information input. *Journal of Apicultural Research* **38**, 33-41.
- Biesmeijer JC, L. vNMG, Lukács S, Sommeijer MJ (1998) The role of internal and external information in foraging decisions of *Melipona* workers (Hymenoptera: Meliponinae). *Behavioral Ecology and Sociobiology* **42**, 107-116.
- Biesmeijer JC, Slaa EJ (2004) Information flow and organization of stingless bee foraging. *Apidologie* **35**, 143-157.
- Brodschneider R, Crailsheim K (2010) Nutrition and health in honey bees. *Apidologie* **41**, 278-294.
- Camargo JMF, Pedro SRM (2007) Meliponini Lepeletier, 1836. In: *Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region* (eds. Moure JS, Urban D, Melo GAR), pp. 272-578. Sociedade Brasileira de Entomologia, Curitiba.
- Camazine S (1993) The regulation of pollen foraging by honey bees: how foragers assess the colony's need for pollen. *Behavioral Ecology and Sociobiology* **32**, 265-272.
- Cane JH (1987) Estimation of bee size using intertegular span (Apoidea). *Journal of the Kansas Entomological Society* **60**, 145-147.
- Cortopassi-Laurino M, Imperatriz-Fonseca VL, Roubik DW, Dollin A, Heard T, Aguilar I, Venturieri GC, Eardley C, Nogueira-Neto P (2006) Global meliponiculture: challenges and opportunities. *Apidologie* **37**, 275-292.

- Dreller C, Page RE, Fondrk MK (1999) Regulation of pollen foraging in honeybee colonies: effects of young brood, stored pollen, and empty space. *Behavioral Ecology and Sociobiology* **45**, 227-233.
- Eltz T, Bruhl CA, van der Kaars S, Chey VK, Linsenmair KE (2001) Pollen foraging and resource partitioning of stingless bees in relation to flowering dynamics in a Southeast Asian tropical rainforest. *Insectes Sociaux* **48**, 273-279.
- Faegri K, van der Pijl L (1979) *The principles of pollination ecology*, 3rd edn. Pergamon Press, Oxford.
- Faria LB, Aleixo KP, Garófalo CA, Imperatriz-Fonseca VL, Silva CI (2012) Foraging of *Scaptotrigona* aff. *depilis* (Hymenoptera, Apidae) in an urbanized area: Seasonality in resource availability and visited plants. *Psyche: A Journal of Entomology* **2012**, 1-12.
- Fewell JH, Winston ML (1992) Colony state and regulation of pollen foraging in the honey bee, *Apis mellifera* L. *Behavioral Ecology and Sociobiology* **30**, 387-393.
- Figueiredo-Mecca G, Bego LR, Nascimento FS (2013) Foraging behavior of *Scaptotrigona depilis* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) and its relationship with temporal and abiotic factors. *Sociobiology* **60**, 267-282.
- Gallai N, Salles J, Settele J, Vaissière B (2009) Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecological Economics* **68**, 810-821.
- Giannini T, Boff S, Cordeiro G, Cartolano Jr E, Veiga A, Imperatriz-Fonseca V, Saraiva A (2014) Crop pollinators in Brazil: a review of reported interactions. *Apidologie* **46**, 209-223.
- Giannini T, Cordeiro G, Freitas B, Saraiva A, Imperatriz-Fonseca V (2015) The dependence of crops for pollinators and the economic value of pollination in Brazil. *Journal of Economic Entomology*, tov093.
- Gilliam M, Buchmann SL, Lorenz BJ, Roubik DW (1985) Microbiology of the larval provisions of the stingless bee *Trigona hypogea* and obligate necrophage. *Biotropica* **17**, 28-31.
- Gordon DM (1996) The organization of work in social insect colonies. *Nature* **380**, 121-124.
- Goulson D, Peat J, Stout JC, Tucker J, Darvill B, Derwent LC, Hughes WOH (2002) Can alloethism in workers of the bumblebee, *Bombus terrestris*, be explained in terms of foraging efficiency? *Animal Behaviour* **64**, 123-130.
- Haydak MH (1970) Honey bee nutrition. *Annual Review of Entomology* **15**, 143-156.
- Heard TA (1999) The role of stingless bees in crop pollination. *Annual Review of Entomology* **44**, 183-206.
- Hilário SD, Gimenes M, Imperatriz-Fonseca VL (2003) The influence of colony size in diel rhythms of flight activity of *Melipona bicolor* Lepeletier (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). In: *Apoidea Neotropica* (eds. Mello GAR, Alves-dos-Santos I), pp. 191-197. Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma.
- Hilário SD, Imperatriz-Fonseca VL, Kleinert AMP (2001) Responses to climatic factors by foragers of *Plebeia pugnax* Moure (*in litt.*) (Apidae, Meliponinae). *Brazilian Journal Biology* **61**, 191-196.
- Hofstede FE, Sommeijer MJ (2006) Effect of experience on foraging performance in the stingless bee *Plebeia tobagoensis* (Hymenoptera : Meliponini). *Apidologie* **37**, 387-397.
- Imperatriz-Fonseca VL, Zucchi R (1995) Virgin queens in stingless bee (Apidae, Meliponinae) colonies: a review. *Apidologie* **26**, 231-244.

- Jarau S, Hrncir M, Schmidt VM, Zucchi R, Barth FG (2003) Effectiveness of recruitment behavior in stingless bees (Apidae, Meliponini). *Insectes Sociaux* **50**, 365-374.
- Kearns CA, Inouye DW, Waser NM (1998) Endangered mutualisms: The conservation of plant-pollinator interactions. *Annual Review of Ecology and Systematics* **29**, 83-112.
- Klein AM, Vaissiere BE, Cane JH, Steffan-Dewenter I, Cunningham SA, Kremen C, Tscharntke T (2007) Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* **274**, 303-313.
- Kleinert AMP, Ramalho M, Cortopassi-Laurino M, Imperatriz-Fonseca VL (2009) Abelhas sociais (Bombini, Apini, Meliponini). In: *Bioecologia e nutrição de insetos* (eds. Panizzi AR, Parra JRP), pp. 371-424. EMBRAPA Informação Tecnológica, Brasília.
- Maia-Silva C, Hrncir M, Imperatriz-Fonseca VL, Schorkopf DLP (2016) Stingless bees (*Melipona subnitida*) adjust brood production rather than foraging activity in response to changes in pollen stores. *Journal of Comparative Physiology A* **202**, 723-732.
- Maia-Silva C, Imperatriz-Fonseca VL, Silva CI, Hrncir M (2014) Environmental windows for foraging activity in stingless bees, *Melipona subnitida* Ducke and *Melipona quadrifasciata* Lepeletier (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). *Sociobiology* **61**, 378-385.
- Menezes C (2010) *A produção de rainhas e a multiplicação de colônias em Scaptotrigona aff. depilis* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) Tese, Universidade de São Paulo.
- Menezes C, Vollet-Neto A, Imperatriz-Fonseca VL (2013) An advance in the in vitro rearing of stingless bee queens. *Apidologie* **44**, 491-500.
- Michener CD (1974) *The social behavior of the bees: a comparative study* Belknap Press of Harvard University Press, Massachusetts.
- Moura Oliveira KA, Ribeiro LS, Oliveira GV (2013) Caracterização microbiológica, físico-química e microscópica de mel de abelhas canudo (*Scaptotrigona depilis*) e jataí (*Tetragonisca angustula*). *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais* **15**, 239-248.
- Nogueira-Neto P (1954) Notas bionômicas sobre Meliponíneos. III. Sobre a enxameagem. *Arquivos do Museu Nacional* **42**, 419-451.
- Nogueira-Neto P (1997) *Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão* Editora Nogueirapis, São Paulo.
- Nunes-Silva P, Hilário SD, Santos Filho PdS, Imperatriz-Fonseca VL (2010) Foraging activity in *Plebeia remota*, a stingless bees species, is influenced by the reproductive state of a colony. *Psyche: A Journal of Entomology* **2010**, 241204.
- Ollerton J, Winfree R, Tarrant S (2011) How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos* **120**, 321-326.
- Paxton RJ, Bego LR, Shah MM, Mateus S (2003) Low mating frequency of queens in the stingless bee *Scaptotrigona postica* and worker maternity of males. *Behavioral Ecology and Sociobiology* **53**, 174-181.
- Pech-May F, Medina-Medina L, May-Itzá WdJ, Paxton R, Quezada-Euán J (2012) Colony pollen reserves affect body size, sperm production and sexual development in males of the stingless bee *Melipona beecheii*. *Insectes Sociaux* **59**, 417-424.
- Pedro SRM (2014) The stingless bee fauna in Brazil (Hymenoptera: Apidae). *Sociobiology* **61**, 348-354.
- Pereira-Lima MA, Lino-Neto J, Campos LAO (2006) Sexual maturation in *Melipona mondury* males (Apidae: Meliponini). *Brazilian Journal of Morphological Sciences* **23**, 369-375.
- Pernal SF, Currie RW (2001) The influence of pollen quality on foraging behavior in honeybees (*Apis mellifera* L.). *Behavioral Ecology and Sociobiology* **51**, 53-68.

Prato M (2010) *Ocorrência natural de sexados, produção in vitro de rainhas e multiplicação de colônias de Tetragonisca angustula (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)* Dissertação, Universidade de São Paulo.

Quezada-Euán JJG, López-Velasco A, Pérez-Balam J, Moo-Valle H, Velazquez-Madrado A, Paxton RJ (2011) Body size differs in workers produced across time and is associated with variation in the quantity and composition of larval food in *Nannotrigona perilampoides* (Hymenoptera, Meliponini). *Insectes Sociaux* **58**, 31-38.

Ramalho M, Giannini T, Malagodi-Braga K, Imperatriz-Fonseca V (1994) Pollen harvest by stingless bee foragers (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). *Grana* **33**, 239-244.

Ramalho M, Imperatriz-Fonseca VL, Giannini TC (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.

Roselino A, Santos S, Hrncir M, Bego L (2009) Differences between the quality of strawberries (*Fragaria x ananassa*) pollinated by the stingless bees *Scaptotrigona* aff. *depilis* and *Nannotrigona testaceicornis*. *Genetics and Molecular Research* **8**, 539-545.

Roubik DW (1989) *Ecology and natural history of tropical bees* Cambridge University Press, Cambridge.

Sakagami SF (1982) Stingless bees. In: *Social Insects* (ed. Hermann HR), pp. 361-423. Academic Press, London.

Santos-Filho PS, Alves DA, Eterovic A, Imperatriz-Fonseca VL, Kleinert AMP (2006) Numerical investment in sex and caste by stingless bees (Apidae: Meliponini): a comparative analysis. *Apidologie* **37**, 207-221.

Santos CF, Santos PDS, Blochtein B (2016) In vitro rearing of stingless bee queens and their acceptance rate into colonies. *Apidologie* **47**, 539-547.

Santos SAB, Roselino AC, Bego LR (2008) Pollination of cucumber, *Cucumis sativus* L. (Cucurbitales: Cucurbitaceae), by the stingless bees *Scaptotrigona* aff. *depilis* Moure and *Nannotrigona testaceicornis* Lepeletier (Hymenoptera: Meliponini) in greenhouses. *Neotropical Entomology* **37**, 506-512.

Schmidt VM, Zucchi R, Barth FG (2003) A stingless bee marks the feeding site in addition to the scent path (*Scaptotrigona* aff. *depilis*). *Apidologie* **34**, 237-248.

Slaa EJ, Sánchez-Chaves LA, Malagodi-Braga KS, Hofstede FE (2006) Stingless bees in applied pollination: practice and perspectives. *Apidologie* **37**, 293-315.

Tóth E, Queller DC, Dollin A, Strassmann JE (2004) Conflict over male parentage in stingless bees. *Insectes Sociaux* **51**, 1-11.

Venturieri GC, Alves DA, Villas-Bôas JK, et al. (2012) Meliponicultura no Brasil: situação atual e perspectivas futuras para o uso na polinização agrícola. In: *Polinizadores no Brasil: contribuição e perspectivas para a biodiversidade, uso sustentável, conservação e serviços ambientais* (eds. Imperatriz-Fonseca VL, Canhos DAL, Alves DA, Saraiva AM), pp. 213-236. EDUSP, São Paulo.

Viana BF, da Encarnação Coutinho JG, Garibaldi LA, Gastagnino GLB, Gramacho KP, da Silva FO (2014) Stingless bees further improve apple pollination and production. *Journal of Pollination Ecology* **14**, 261-269.

Vit P, Pedro SR, Roubik D (2013) *Pot-Honey: A legacy of stingless bees* Springer Science & Business Media.

Vollet-Neto A, Maia-Silva C, Menezes C, Imperatriz-Fonseca VL (2017) Newly emerged workers of the stingless bee *Scaptotrigona* aff. *depilis* prefer stored pollen to fresh pollen. *Apidologie* **48**, 204-210.

- Vollet-Neto A, Menezes C, Imperatriz-Fonseca VL (2015a) Behavioural and developmental responses of a stingless bee (*Scaptotrigona depilis*) to nest overheating. *Apidologie* **46**, 455-464.
- Vollet-Neto A, Santos CF, Santiago LR, Alves DA, Figueiredo JP, Nanzer M, Arias MC, Imperatriz-Fonseca VL (2015b) Diploid males of *Scaptotrigona depilis* are able to join reproductive aggregations (Apidae, Meliponini). *Journal of Hymenoptera Research* **45**, 125-130.
- Witter S, Nunes-Silva P, Lisboa BB, Tirelli FP, Sattler A, Hilgert-Moreira SB, Blochtein B (2015) Stingless bees as alternative pollinators of canola. *Journal of Economic Entomology* **108**, 880-886.
- Yamamoto DY, Akatsu IP, Soares AEE (2007) Quantificação da produção do mel de *Scaptotrigona* aff. *depilis* (Hymenoptera, Apidae, Apinae) do município de Luiz Antônio, São Paulo, Brasil. *Bioscience Journal* **23**, 89-93.
- Zanella FCV, Martins CF (2003) Abelhas da Caatinga: biogeografia, ecologia e conservação. In: *Ecologia e conservação da Caatinga* (eds. Leal IR, Tabarelli M, Silva JMC), pp. 75-134. Editora da Universidade Federal de Pernambuco, Recife.
- Zar JH (1999) *Biostatistical analysis*, Fourth edn. Prentice Hall, New Jersey.
- Zucchi R, Silva-Matos EV, Nogueira-Ferreira FH, Azevedo GC (1999) On the cell provisioning and oviposition process (POP) of the stingless bees - Nomenclature reappraisal and evolutionary considerations (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). *Sociobiology* **34**, 65-86.