Fabiana Curtopassi Pioker-Hara

Determinantes da densidade e distribuição de ninhos e
diversidade de espécies de meliponíneos (Apidae,
Meliponini) em áreas de cerrado de Itirapina, SP

Determinants of stingless bees (Apidae, Meliponini) nest
density and distribution and species diversity in cerrado
areas of Itirapina, SP

Tese apresentada ao Instituto de Biociências da
Universidade de São Paulo, para a obtenção de
Título de Doutor em Ecologia, na Área de
Ecossistemas Terrestres e Aquáticos

Orientadora:
Profª Drª Astrid de Matos Peixoto Kleinert

VERSÃO CORRIGIDA

VERSÃO ORIGINAL DISPONÍVEL NO INSTITUTO DE
BIOCIÊNCIAS DA USP

São Paulo - 2011

Ficha Catalográfica

Pioker-Hara, Fabiana Curtopassi

Determinantes da densidade e distribuição de ninhos e diversidade de espécies de meliponíneos (Apidae, Meliponini) em áreas de cerrado de Itirapina, SP

232 páginas

Tese (Doutorado) - Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Departamento de Ecologia

1. Meliponini 2. Cerrado 3. Antropização
I. Universidade de São Paulo. Instituto de Biociências. Departamento de Ecologia.

Comissão Julgadora:

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof^a. Dr^a. Astrid de Matos Peixoto Kleinert

Orientadora

Dedicatória

Aos meus pais
Ao meu esposo
Aos meus Amigos e
À minha orientadora

Dedico

Epígrafe

*“Transforme as
pedras que você
tropeça nas pedras
de sua escada”*

Sócrates

*“A parte que
ignoramos é muito
maior que tudo
quanto sabemos”*

Platão

*“Minha aliada a
Força é, e poderosa
aliada ela é. A
vida a cria, e a faz
crescer. Sua
energia nos cerca e
nos une. Lumínicos
seres somos nós,
não essa rude
matéria. Precisa a
Força sentir à sua
volta, aqui, entre
nós, na árvore, na
pedra em tudo,
sim.”*

*Yoda a Luke
Skywalker*

Agradecimentos

Creio que posso me considerar uma pessoa privilegiada. Em meio a um planeta onde os seres se agriem e só pensam em conseguir algo para si, planeta em que talvez mais por merecimento que por infortúnio do destino vim nascer, tive o privilégio de encontrar vários pontos de luz. Seres que se diferenciam da grande massa triste e cinzenta pelo brilho de seus olhos e de seu coração. Pessoas essas que várias vezes pararam o que estavam fazendo para atender a um pedido de ajuda, simplesmente porque são assim. Seres que mereciam mais que um pouco de tinta num pedaço de papel, mas que dificilmente poderei retribuir justamente, senão tentando ser como eles e ajudando a quem pede. Muito obrigada:

À Astrid, minha orientadora, pela oportunidade, por me ensinar pacientemente sobre ecologia e abelhas, pelo apoio, por passar madrugadas lendo meus textos, por deixar que eu “voasse”, mas sempre cuidando para que não perdesse o rumo, enfim, por ser a pessoa maravilhosa que tive a oportunidade de conhecer.

Aos meus pais e à minha tia Sonia, por todo o apoio, sempre, e principalmente à minha mãe, eterna companheira, que encarou até o sol do cerrado comigo.

Ao Marcos, meu marido, meu melhor amigo e meu grilo-falante de estimação, por todo o amor e apoio, por ter ido comigo a campo, por ter trocado de carro para eu parar de atolar em Itirapina, por pegar no meu pé quando batia a preguiça, por me ajudar sempre.

À Cris Arias por me acolher no seu laboratório, como acolhe a tantos, no laboratório mais “coração de mãe” que eu já vi, e a todos os amigos que fiz no LGEA, por me fazer sentir em casa, pelo apoio e paciência (e tapioca, bolos, doces...): Flávio, Rute, Paulo Henrique, Leandro, Alayne, Susy, Elaine e Alisson. E à prof^a Lyria, pelos bolos deliciosos.

Ao pessoal do BeeLab, pelo carinho e apoio: Denise, Sérgio, Eduardo, Tiago C., Vanderson, Samuel, Marilda, Mari, Mari Taniguchi, Sheina, André, Charles, Vera, Cris Gianini, Guaraci e Aline.

Aos amigos que me ajudaram em campo e enfrentaram comigo atolamentos, picadas de vespas, espinhos, moscas, mordidas de arapuá e mais alguns contratempos: Maria Vianna, Marcos, Gisele, Sabrina, Hipólito, Tiago C., Eduardo, Paulo César (PC), Mieko, Marina, Gui, Mãe e Astrid.

À Maria, pela companhia, pelas conversas e pela ajuda. E por tornar as refeições de campo bem melhores que um miojo e os dias de campo mais divertidos.

Ao Paulo César, o PC, por me ajudar com a marcação das parcelas e com as armadilhas para o experimento de distância de forrageamento, inclusive a instalá-las nos ninhos de arapuá. E pela disposição, bom humor e comidas deliciosas.

Ao Hipólito, por me ensinar a identificar algumas espécies de árvores em campo.

Aos meus cunhados, Sérgio e Mitti, por me acolherem em sua casa, pelo tempo e carinho dispensados e pela consultoria extra-oficial de estatística.

Ao Leandro Tambosi e a todo o pessoal do Lepac, por me ensinarem pacientemente a usar o ArcGis.

A todos os funcionários da Estação Ecológica de Itirapina pelo apoio, em especial: ao Paulo Ruffino, pelas conversas e pela disponibilização do plano de manejo da EEI, dos mapas de vegetação e da foto aérea da EEI; à Dona Isabel, pelo carinho, por manter o alojamento em ordem (e ai daqueles que fizessem bagunça) e pelos bolos quentinhos nos finais de tarde; e ao Seu Gilson, por desatolar meu carro das estradinhas de areia umas boas oito vezes.

Aos funcionários do IB, em especial aos funcionários da biblioteca e da seção de pós, por tornarem a pós-graduação viável a alunos atrapalhados como eu.

Aos funcionários da Eco, em especial à Dalva, à Socorro e ao Luís, pela ajuda e pela boa-vontade muito além do normal.

Aos amigos e professores dos cursos de campo de Ecologia da Mata Atlântica (turma de 2007) e de Biologia e Ecologia da Polinização (turma de 2009), pelo aprendizado e carinho.

Ao pessoal da EACH, em especial: à Elen e à Josely, pelo convívio agradável, pelo carinho e pelo apoio, sempre, e à Rosely, Chris, Wania, Luis Conti, André, Rodrigo, Valéria, Verónica, Celi e Luciana pelo apoio e carinho.

Aos Amigos da Pró-Vida, em especial à turma do Laboratório, e, claro, ao Dr. Celso Charuri, por me mostrarem o real significado da Amizade e me darem a confiança de que um Mundo Melhor é possível.

À Lucile, por me introduzir ao mundo da biologia molecular anos atrás, tornado minha passagem pelos microssatélites mais fácil.

Ao Prof. Dr. Gabriel A. Mello pela identificação de *Leurotrigona* e à Dra. Favízia F. de Oliveira pela confirmação da identidade de *Trigona spinipes* e de *Melipona quadrifasciata* e pela identificação de *Plebeia droryana*.

À M.Sc. Maria Gabriela Gutierrez de Camargo pelos dados referentes à vegetação do IAB.

Aos comentários e sugestões dos Professores: Persio de Souza Santos Filho, Isabel Alves dos Santos, Tiago Francoy, Jean Paul Metzger, Roberto Shimizu e Paulo Inácio K. L. de Prado.

Ao Instituto Arruda Botelho pela autorização e a seus funcionários, pela cordialidade.

Ao Consórcio Paulista de Celulose e Papel e ao Instituto Florestal pelos dados de temperatura e precipitação.

À FAPESP, pelo apoio financeiro, e ao acessor anônimo, pelos comentários sempre positivos.

Índice

Introdução Geral e Objetivos	1
Introdução Geral	3
Objetivos	11
Referências Bibliográficas	13
Capítulo 1- : Influência da disponibilidade de substratos de nidificação e de alimento na densidade e distribuição de ninhos e diversidade de espécies de Meliponini (Apoidea: Apidae) em três fisionomias de cerrado em Itirapina-SP	17
RESUMO:	19
ABSTRACT:	20
Introdução	21
Materiais e Métodos	23
Área de estudo	23
Localização dos ninhos	24
Disponibilidade de sítios e disponibilidade de alimento	29
Análise dos dados	30
Resultados	31
Disponibilidade de sítios <i>versus</i> diversidade de meliponíneos	43
Composição florística <i>versus</i> substratos utilizados para nidificação	44
Tamanho das abelhas das espécies encontradas <i>versus</i> porte da vegetação	45
Densidade de ninhos <i>versus</i> densidade de substratos disponíveis	46
Distribuição espacial <i>versus</i> fitofisionomia	46
Disponibilidade e distribuição de alimento <i>versus</i> favorecimento de espécies agressivas	47
DISCUSSÃO	50
Conclusões	60
Referências Bibliográficas	62
Capítulo 2 - . Influência da antropização de remanescentes de cerrado sobre a densidade e diversidade de ninhos de Meliponini (Apoidea: Apidae)	67
RESUMO:	69
ABSTRACT:	70
Introdução	71
Materiais e métodos	74
Área de estudo e levantamento de ninhos	74
Seleção dos levantamentos de ninhos para comparação	75

Caracterização da paisagem	81
Análise dos dados	85
Resultados	87
Densidade de ninhos <i>versus</i> variáveis ambientais	95
Riqueza de espécies e diversidade de espécies e gêneros <i>versus</i> variáveis ambientais	95
Composição de espécies e gêneros <i>versus</i> variáveis ambientais	100
Ocorrência, densidade dos ninhos, riqueza e composição de espécies de <i>Melipona</i> <i>versus</i> variáveis ambientais	105
Discussão	109
Conclusões	116
Referências Bibliográficas	117
Capítulo 3- Relacionamento genético entre colônias de <i>Trigona spinipes</i> da Estação Ecológica de Itirapina (SP) e distância de forrageamento das operárias	124
RESUMO:	126
ABSTRACT:	127
Introdução:	128
Materiais e Métodos	132
Área estudada e levantamento de ninhos	132
Construção de uma biblioteca enriquecida de microssatélites para <i>T. spinipes</i>	136
Análise do relacionamento genético entre as colônias da EEI	140
Distância e direção de forrageamento das operárias	143
Análise dos dados	150
Resultados	152
Relacionamento genético entre as colônias e distância física	152
Parentesco entre forrageiras e distância e direção da forrageira à colônia mãe	163
Direção das entradas de colônias vizinhas e distância de forrageamento	166
Discussão	167
Conclusões	172
Referências Bibliográficas	174
Discussão Geral e Conclusões	178
Discussão Geral	180
Conclusões	187
Referências Bibliográficas	189
Resumo Geral & Abstract	192
Resumo	194

Abstract	196
Apêndices	198
Apêndice 1: Lista de espécies lenhosas identificadas no campo sujo e campo cerrado	200
Apêndice 2: Ninhos de Meliponini levantados na EEI e no IAB	202
Apêndice 3: Lista de alelos amplificados para cada operária de <i>T. spinipes</i>	211

Introdução Geral e Objetivos

Introdução Geral

O Cerrado

O domínio morfoclimático do cerrado *lato sensu* é uma das maiores formações de savana do mundo e ocupa uma área de, aproximadamente, 2 milhões de km² no Brasil central mais áreas adjacentes (Ab'Saber, 1981). A fisionomia vegetal do cerrado é composta por um mosaico heterogêneo que forma um gradiente de altura e densidade, desde uma formação campestre aberta a formações florestais (Eiten, 1972, 1982).

Segundo Henriques (2005), nesse gradiente podem ser distinguidos quatro tipos principais de fisionomias vegetais, sem limites bem definidos entre si, a saber: campo limpo, com vegetação aberta e predomínio de gramíneas; campo sujo, com muitas gramíneas e uma pequena cobertura de arbustos; campo cerrado, com muitas gramíneas e uma presença maior de arbustos e árvores; cerrado *sensu stricto*, com menos gramíneas e uma cobertura arbóreo-arbustiva mais pronunciada; e o cerradão, com formação florestal e sem presença de gramíneas. Eiten (1982, 1984) e Goldsmith (1974) apontam ainda outras formações que ocorrem no cerrado *lato sensu*, tais como campo úmido, mata de galeria e floresta estacional. Esta última apresenta grande afinidade florística com o cerradão e ocorre ao lado das matas de galeria.

Mittermeier *et al.* (1999) verificou que, embora extenso, apenas 20% da área original do cerrado se apresenta intocada, e somente 1,5% se encontra em áreas de conservação. Klink e Machado (2005) apontam que metade da área original do cerrado foi convertida em pastagens e área agrícola, e que a área total para a conservação é de apenas 33 mil Km². Com o incentivo de políticas públicas de “ocupação racional do cerrado”, tem havido a expansão da fronteira agrícola sobre o bioma desde meados da década de 1970 (Inocêncio & Calaça, 2009). Houve ainda a intensificação do processo de urbanização nos estados de Minas Gerais, com a expansão dos polos industriais, e

nos estados do Centro-Oeste, com a fundação da cidade de Brasília, desde a década de 1960 (Silva & Pereira, 2010). Como resultado, o cerrado encontra-se hoje como um grande mosaico, com fragmentos remanescentes imersos em uma malha de cidades, soja, cana-de-açúcar e, mais recentemente, eucalipto.

O cerrado e as abelhas

Os efeitos da fragmentação sobre a biodiversidade vão depender da maior ou menor capacidade dos organismos de sobreviverem ou atravessarem as paisagens antropizadas (Andersson, 2006), o que poderá ter consequências na comunidade como um todo. Por exemplo, se as populações de animais polinizadores forem afetadas negativamente pela fragmentação, o declínio de suas populações afetará diretamente a reprodução da vegetação. A longo prazo, afetará a composição e a qualidade da vegetação dos fragmentos.

No que se refere à polinização no cerrado, as abelhas são, de longe, o grupo mais representativo (Silberbauer-Gottsberger e Gottsberger, 1988; Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger, 2006). Em um trabalho de revisão sobre o estado de conservação das abelhas brasileiras, Pinheiro-Machado *et al.* (2002) apontaram a ocorrência de 32 tribos e 119 gêneros de abelhas no cerrado, através dos dados de nove publicações. Silveira *et al.* (2002) indicam a existência de 1119 espécies de abelhas nesse bioma, embora boa parte delas apresentem problemas de identificação. Segundo Biesmeijer *et al.* (2005), as abelhas eussociais são provavelmente responsáveis por 30 a 50% de todas as interações planta-polinizador observadas no Brasil.

Meliponíneos e suas estratégias de nidificação

Dentre os Apoidea, somente três grupos são considerados altamente eussociais, com fundação dos ninhos por enxameagem, todos pertencentes à família Apidae: os Bombini, os Apini e os Meliponini (Kajobe & Roubik, 2006). Embora os meliponíneos apresentem distribuição pantropical, 397 das aproximadamente 500 espécies conhecidas ocorrem na região Neotropical (Costa *et al.*, 2003; Camargo & Pedro, 2008). Essas abelhas são distinguidas de outras espécies de Apidae por apresentarem, entre outras características, venação alar reduzida e ferrão vestigial (Michener, 2000). Michener (1979) aponta que, nas regiões onde ocorrem, os meliponíneos podem representar a maior biomassa de insetos que visitam flores. Suas colônias apresentam, em geral, um grande número de indivíduos (Sakagami, 1982), uma alta longevidade e uma baixa fecundidade (Eltz *et al.*, 2003).

Diferentemente do que é observado para os Apini, os Meliponini não são capazes de migrar suas colônias para uma nova cavidade, caso seu ninho sofra algum tipo de perturbação ou exposição (Roubik, 2006). Enxames de meliponíneos são formados apenas para a reprodução da colônia, quando uma parte da colônia acompanha uma ou mais rainhas virgens para uma nova cavidade, pré-selecionada. Além disso, a colônia filha mantém relações com a colônia mãe por até seis meses, dependendo da espécie, não permitindo que o enxame se estabeleça muito distante da colônia original, ainda que isso possa significar uma certa competição por alimento entre as duas colônias (referências em Roubik, 2006).

Embora o grupo seja bem representado na região neotropical, estudos sobre a ecologia de nidificação de meliponíneos são ainda escassos. Sabe-se que, na sua maioria, os ninhos são encontrados em cavidades de troncos, galhos ou entre raízes de árvores, vivas ou mortas, e em ninhos ativos ou não de formigas e cupins (Roubik,

1989). Algumas espécies podem ainda se utilizar de cavidades artificiais, como as encontradas em edificações e paredes de concreto (e.g. Taura & Laroca, 1991; Zanette *et al.*, 2005).

Em alguns casos, a densidade de ninhos e a riqueza de espécies chegam a ser maiores no ambiente urbano do que no natural. Em parte, isso se deve à disponibilidade de recursos no meio urbano (como flores ornamentais e cavidades em edificações e postes, por exemplo) e, em parte, à capacidade de adaptação de algumas espécies (Pereira, 2004). Para muitas espécies, porém, a antropização pode ter um efeito deletério (Antonini, 2002; Zanette *et al.*, 2005).

A disponibilidade de sítios pode interferir na densidade de ninhos de meliponíneos. Inoue *et al.*(1993), por exemplo, verificou que o fator limitante para a densidade de *Trigona minangkabau* em uma floresta tropical de Sumatra foi a disponibilidade de sítios de nidificação. A densidade dessa espécie aumentou duas a cinco vezes após a adição de ninhos artificiais, embora o aumento na densidade tenha sido suprimido pela competição com formigas arbóreas pelos ninhos artificiais.

A disponibilidade de sítios pode ir além da mera disponibilidade de cavidades. Embora estudos indiquem não haver espécie-especificidade entre os meliponíneos e seu sítio de nidificação (e. g. Roubik, 1989), alguns trabalhos apontam que pode haver uma certa seleção. Martins *et al.* (2004), por exemplo, verificaram que, na caatinga de Seridó (Paraíba), mais de 75% dos ninhos de meliponíneos encontrados estavam em duas espécies de árvores: *Caesalpinia pyramidalis* (Cesalpinaceae) e *Commiphora leptophloeos* (Burseraceae). Resultado semelhante foi apontado por Rego & Brito (1996) para uma área de cerrado em Chapadinha (MA). Kerr (1971), estudando o cerrado de Mato Grosso e Goiás, constatou que os meliponíneos utilizam apenas 12 das 200 espécies de árvores com condições disponíveis para a nidificação. Antonini &

Martins (2003) constataram padrão semelhante entre *Melipona quadrifasciata* e uma espécie de árvore (*Caryocar brasiliense*, Caryocaceae) em região de cerrado, em Minas Gerais. Nesse estudo, os autores relatam a importância da proteção federal sobre essa espécie de árvore, amplamente distribuída, para a manutenção da população de *M. quadrifasciata* na região.

Além disso, o tamanho da cavidade disponível pode ser um determinante na escolha do sítio de nidificação pelos meliponíneos. Hubbell & Johnson (1977), por exemplo, apontam que há relação entre o volume corporal dos indivíduos e o tamanho da cavidade. Assim, espécies que apresentam indivíduos de médio a grande porte precisam de cavidades maiores para construir colônias populosas, ou devem constituir colônias menores para poderem ocupar cavidades menores. Cavidades grandes, porém, geralmente estão associadas a árvores de grande porte, sujeitas à exploração comercial.

Eltz *et al.* (2003), por exemplo, mostraram que os sítios de nidificação de meliponíneos nas florestas da Malásia são estreitamente relacionados com as árvores potencialmente exploradas comercialmente, e a coleta dessas árvores acaba por eliminar a colônia, seja pela exposição ou pela destruição direta do ninho. Os autores mencionam que, devido à alta longevidade e baixa fecundidade dos meliponíneos, o impacto da redução de sítios de nidificação poderia ter efeito duradouro nas suas populações.

Alterações da paisagem e as abelhas sem ferrão

Outros estudos também mencionam a importância da disponibilidade de sítios e da intervenção antrópica sobre estes para as populações de meliponíneos. Brown & Albrecht (2001) detectaram efeitos adversos do desmatamento sobre espécies de *Melipona*, mesmo com a existência de remanescentes florestais, em Rondônia. Batista

et al. (2003) verificaram que, em área de floresta Atlântica secundária, houve uma redução de densidade de ninhos e de diversidade de espécies de meliponíneos, com a predominância de uma única espécie, em comparação à floresta nativa.

Samejima *et al.* (2004) constataram que, na Malásia, a redução do número de árvores de grande porte afetou negativamente os meliponíneos, por causa da redução do número de sítios disponíveis para nidificação. Segundo os autores, o efeito da perturbação humana na população dos meliponíneos poderia afetar o sucesso reprodutivo das plantas polinizadas por essas abelhas, já que estas respondem de maneira diferente à perturbação humana, e alterações na composição das comunidades de polinizadores poderiam afetar negativamente a recuperação de uma área degradada. Viana & Melo (1987), por fim, apontam que a expansão da agricultura e o corte de árvores para a produção de carvão vegetal têm reduzido a riqueza e abundância de meliponíneos no cerrado.

Conservação dos meliponíneos e variabilidade genética

Para que a redução de habitat não exerça um efeito deletério sobre a população de meliponíneos, permitindo a variabilidade genética, é importante conhecer a densidade populacional desses ninhos, a fim de se procurar prever o tamanho mínimo de habitat para a manutenção da diversidade. Johnson e Hubbell (1986) estudaram a distribuição dos ninhos de nove espécies de meliponíneos em uma área de 15,6 ha de floresta tropical no Panamá e estimaram que, para manter a diversidade a curto prazo, seriam necessárias 100 colônias de cada espécie, no mínimo. Assim, conhecendo a distribuição dos ninhos na área estudada, os autores puderam estimar o tamanho mínimo de floresta que deveria ser mantido para sustentar a população, para cada espécie, e chegaram a um mínimo de 4 a 5 km², para uma proteção a curto prazo. A longo prazo,

porém, a reserva deveria ser bem maior, para garantir a manutenção da variabilidade genética.

A redução das populações de meliponíneos pode levar a um aumento no grau de endogamia entre as colônias e a um gargalo genético que terá influência direta na viabilidade da população, devido principalmente ao sistema de determinação do sexo dos meliponíneos (Cook & Crozier, 1995, Zayed *et al.*, 2004). Essas abelhas apresentam, com raras exceções (e.g. Alves, 2010; Alves *et al.*, 2011), uma única rainha, que copula com um único macho. O mecanismo exato de determinação do sexo em Meliponini ainda é pouco conhecido, mas acredita-se que seja homólogo ao sistema de Apini. Nesse sistema (CSD - Complementary Sex Determination), indivíduos heterozigotos para o loco sexual dão origem a fêmeas, enquanto indivíduos homozigotos dão origem a machos. Como os animais são haplodiplóides, os machos haplóides serão sempre funcionalmente homozigotos (Whiting, 1943).

No entanto, indivíduos diplóides e homozigotos resultarão em machos, que serão inviáveis ou inférteis. Assim, quando há endogamia, há perda da variabilidade genética, aumentando-se a frequência dos alelos semelhantes e a probabilidade de produção de machos diplóides estéreis, o que provoca um efeito deletério em cascata na reprodução e dispersão das colônias (Cook & Crozier, 1995; Zayed *et al.*, 2004).

Área de forrageamento e competição

Os meliponíneos são considerados forrageadores de refúgio, ou seja, buscam alimento a partir de um ponto fixo no espaço, no caso, o ninho (Hubbell & Johnson, 1977). Assim, além de sítios de nidificação, a disponibilidade de alimento também pode determinar a composição da comunidade.

A disponibilidade e a distribuição do alimento podem interferir no tamanho da área utilizada pela colônia para o forrageamento. Além disso, a exploração do recurso alimentar depende da capacidade competitiva de cada espécie. Breed *et al.*(1999), por exemplo, mostraram experimentalmente que as abelhas de sete espécies de meliponíneos são capazes de reconhecer os membros de suas colônias, apresentando comportamento agressivo entre coespecíficos de colônias diferentes.

Nagamitsu & Inoue (1997) também observaram a defesa agressiva de recursos florais por quatro espécies de meliponíneos da floresta de Sarawak, Malásia. Porém, os autores verificaram que há um balanço entre a capacidade de defender e de localizar um recurso, podendo, assim, haver partição do mesmo entre diferentes espécies. Além disso, estudos mostram que os meliponíneos tendem a forragear a uma certa distância, próxima ao ninho. Essa distância pode aumentar quando há limitação de alimento na área mais próxima ao ninho ou quando há uma fonte energética melhor em uma área mais distante (Roubik, 1989). Dessa forma, modificações no habitat poderiam alterar a composição florística do local, forçando as abelhas a modificar o raio de ação de forrageamento.

Além disso, a exclusão competitiva pelo recurso alimentar poderia levar a um maior espaçamento entre as colônias. Hubell & Johnson (1977), por exemplo, verificaram que a disponibilidade de alimento foi mais importante para a determinação da densidade e da distribuição espacial dos ninhos do que a disponibilidade de sítios de nidificação em florestas da Costa Rica, embora o diâmetro das árvores pudesse ser um fator limitante. Verificaram ainda que o padrão de distribuição foi influenciado pelo grau de agressividade das abelhas, tanto intra como interespecificamente. A agressividade e a marcação de território por feromônios levavam a um espaçamento uniforme das colônias, ao invés de um espaçamento randômico ou agrupado, observado

quando não há encontros agonísticos entre ninhos rivais. Segundo os autores, o espaçamento interespecífico pode ser determinado pela competitividade das espécies rivais por um mesmo recurso limitado, o mesmo sendo observado entre coespecíficos.

Objetivos

Assim, os fatores que levam os meliponíneos a nidificarem em uma determinada região são, a princípio, a disponibilidade de recursos (sítios de nidificação e alimento) e a capacidade competitiva de cada espécie. Mas, os fatores que levam as populações a se manterem, se expandirem ou se reduzirem nessa região estão ligados também à resposta de cada espécie ao grau de antropização da paisagem, que podem levar à perda de variabilidade genética. Dada a importância dos meliponíneos para a polinização do cerrado e dada à intensa pressão antrópica que este ambiente vem sofrendo, conhecer a dinâmica da nidificação nesse bioma e compreender como os fatores naturais e antrópicos interferem nessa dinâmica é fundamental para o delineamento de políticas adequadas à preservação desses insetos.

O objetivo geral dessa tese foi investigar como fatores naturais e antrópicos afetam a nidificação de meliponíneos em ambiente de cerrado, visando a responder às seguintes questões:

- a) diferenças estruturais entre fisionomias de cerrado se refletem em diferenças na composição de espécies?
- b) como a redução das áreas naturais de cerrado e sua substituição por paisagens rurais e urbanas afetam as populações de ninhos de meliponíneos?
- c) como o relacionamento genético e a obtenção de recurso alimentar afetam a distribuição das colônias em uma área de cerrado?

Para responder a essas questões, esta tese foi dividida em três capítulos:

- **Capítulo 1:** Influência da disponibilidade de substratos de nidificação e de alimento na densidade e distribuição de ninhos e diversidade de espécies de Meliponini (Apoidea: Apidae) em três fisionomias de cerrado em Itirapina-SP

O objetivo deste capítulo foi compreender se e como a distribuição dos ninhos de Meliponini variaria entre três fisionomias de cerrado, campo sujo, campo cerrado e cerradão, em Itirapina, SP, e como essa variação estaria relacionada a diferenças na disponibilidade de sítios de nidificação e de alimento em cada uma delas. Foi realizado um levantamento dos ninhos em cada uma dessas fisionomias e uma avaliação da quantidade e composição de espécies de árvores, além da contagem de plantas floridas durante 20 meses.

- **Capítulo 2:** Influência da antropização de remanescentes de cerrado sobre a densidade de ninhos e diversidade de espécies de Meliponini (Apoidea: Apidae)

O objetivo deste capítulo foi avaliar o efeito da substituição das áreas naturais de cerrado por paisagens agrícolas e urbanizadas sobre as populações de Meliponini como um todo, e particularmente sobre abelhas do gênero *Melipona*. Os resultados obtidos em trinta e um levantamentos de ninhos em áreas de cerrado, além do levantamento feito em Itirapina, foram relacionados ao grau de antropização da paisagem. A avaliação da paisagem foi feita por meio da análise e classificação de imagens de satélite do entorno dos levantamentos.

- **Capítulo 3:** Relacionamento genético entre os ninhos de *Trigona spinipes* da Estação Ecológica de Itirapina e distância de forrageamento das operárias

O objetivo deste capítulo foi verificar o grau de relacionamento genético e sua influência na distribuição das colônias de *Trigona spinipes* na paisagem, dado que os ninhos dessa espécie foram bastante numerosos na área estudada. Verificamos também a distância utilizada para o forrageamento e o compartilhamento ou não de alimento

entre colônias. Para isso, realizamos um estudo com marcadores de microssatélites entre as colônias levantadas no capítulo 1, além um experimento de distância de forrageamento.

Para cada um dos capítulos foram levantadas questões específicas.

Referências Bibliográficas

- AB'SABER, A. N., 1981. Domínios morfoclimáticos atuais e quaternários na região dos cerrados. *Craton & Intracraton* **14**: 1-39.
- ALVES, D. A., 2010. Estratégias reprodutivas em *Melipona*, com ênfase em pequenas populações de *Melipona scutellaris* (Apidae, Meliponini). Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo. Tese de doutorado.
- ALVES, D. A., IMPERATRIZ-FONSECA, V. L., FRANCOY, T. M., SANTOS-FILHO, P. S., BILLEN, J. & WENSEELERS, T., 2011. Successful maintenance of a stingless bee population despite a severe genetic bottleneck. *Conservation Genetics* **12**(3): 647-658.
- ANDERSSON, E. 2006. Urban landscapes and sustainable cities. *Ecology and Society* **11**(1): 34. (online) URL: <http://www.ecologyandsociety.org/vol11/iss1/art34/>
- ANTONINI, Y., 2002. Efeitos de variáveis ecológicas na ocorrência de *Melipona quadrifasciata* (Apidae: Meliponini) em fragmentos urbanos e rurais. Universidade Federal de Minas Gerais. Tese de doutorado.
- ANTONINI, Y. & MARTINS, R. P., 2003. The values of a tree species (*Caryocar brasiliense*) for a stingless bee *Melipona quadrifasciata quadrifasciata*. *Journal of Insect Conservation* **7**: 167-174.
- BATISTA, M. A.; RAMALHO, M. & SOARES, A. E. E., 2003. Nesting sites and abundance of Meliponini (Hymenoptera: Apidae) in heterogeneous habitats of Atlantic Rain Forest, Bahia, Brazil. *Lundiana* **4**(1): 19-23.
- BIESMEIJER, J. C.; SLAA, E. J.; DE CASTRO, M. S.; VIANA, B. F.; KLEINERT, A. M. P. & IMPERATRIZ-FONSECA, V. L., 2005. Connectance of Brazilian social bee – food plant networks is influenced by habitat, but not by latitude, altitude or network size. *Biota Neotropica* **5**(1): 1-9.
- BREED, M. D., MCGLYNN, T. P., SANCTUARY, M. D., STOCKER, E. M. & CRUZ, R., 1999. Distribution and abundance of colonies of selected meliponine species in a Costa Rican tropical wet forest. *Journal of Tropical Ecology* **15**: 765-777.

- BROWN, J. C. & ALBRECHT, C., 2001. The effect of tropical deforestation on stingless bees of the genus *Melipona* (Insecta: Hymenoptera: Apidae: Meliponini) in central Rondonia, Brazil. *Journal of Biogeography* **28**: 623-634.
- CAMARGO, J. M. F. & PEDRO, S. R. M., 2008. Meliponini Lepeletier, 1836. In Moure, J. S., Urban, D. & Melo, G. A. R. (Orgs). Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region - online version. Disponível em <http://www.moure.cria.org.br/catalogue>.
- COOK, J. M. & CROZIER, R. H., 1995. Sex determination and population biology in the Hymenoptera. *Trends in Ecology and Evolution*, **10**: 281-286.
- COSTA, M. A.; DEL LAMA, M. A.; MELO, G. A. R. & SHEPPARD, W. S., 2003. Molecular phylogeny of the stingless bees (Apidae, Apinae, Meliponini) inferred from mitochondrial 16S rDNA sequences. *Apidologie* **34**: 73-84.
- EITEN, G., 1972. The cerrado vegetation of Brazil. *Botanical Review* **38**: 201-341.
- EITEN, G., 1982. Brazilian "savannas". In: Huntley, B. J. e Walker, B. H. (eds.). Ecology of tropical savannas. Springer Verlag, Berlim. P. 24-47.
- EITEN, G., 1984. Vegetation of Brazilia. *Phytoecology* **12**: 271-292.
- ELTZ, T.; BRÜHL, C. A.; IMIYABIR, Z. & LINSSENMAIR, K. E., 2003. Nesting and nest trees of stingless bees (Apidae: Meliponini) in lowland dipterocarp forests in Sabah, Malaysia, with implications for forest management. *Forest Ecology and Management* **172**: 301-313.
- GOLDSMITH, F. B., 1974. Multivariate analysis of tropical grassland communities in Mato Grosso, Brazil. *Journal of Biogeography* **1**: 111-122.
- GOTTSBERGER, G. AND SILBERBAUER-GOTTSBERGER, I., 2006. Life in the Cerrado: a South American Tropical Seasonal Vegetation, Vol. II. Pollination and seed dispersal. Reta Verlag, Ulm. 383pp.
- HENRIQUES, R. P. B., 2005. Influência da história, solo e fogo na distribuição e dinâmica das fitofisionomias no bioma do Cerrado. In: Scariot, A. S.; Souza-Silva, J. C. e Felfili, J. M. (orgs.). Cerrado: ecologia, biodiversidade e conservação. Ministério do Meio Ambiente. Cap. 3: 73-92.
- KLINK, C. A. & MACHADO, R. B., 2005. A conservação do Cerrado brasileiro. *Megadiversidade* **1(1)**: 147-155.
- INOCÊNCIO, M. L. & CALAÇA, M., 2009. Cerrado: fronteira da produção agrícola capitalista do século XX. *Anais do XIX Encontro Nacional de Geografia Agrária*, São Paulo, SP.
- HUBBELL, S. P. & JOHNSON, L. K., 1977. Competition and nest spacing in a tropical stingless bee community. *Ecology* **58(5)**: 949-963.

- INOUE, T., NAKAMURA, K., SALMAH, S. & ABBAS, I., 1993. Population dynamics of animals in unpredictably-changing tropical environments. *Journal of Bioscience* **14**(4): 425-455.
- JOHNSON, L. H. & HUBBELL, S. P., 1986. Nest tree selectivity and density of stingless bee colonies in a Panamanian forest. *In*: Chadwih, A. C. & Sletton, L. (eds.). Tropical Rain-Forest: The Leeds Symposium. The Leeds Philosophical and Literary Society Ltd, Leeds, Uk. pp. 147-154.
- KAJOBE, R. & ROUBIK, D. W., 2006. Honey-making bee colony abundance and predation by apes and humans in a Uganda forest reserve. *Biotropica* **38**(2): 210-218.
- KERR, W. E., 1971. Contribuição à ecogenética de algumas espécies de abelhas. *Ciência e Cultura* **23** (suppl): 89-90.
- MARTINS, C. F.; CORTOPASSI-LAURINO, M.; KOEDAM, D. & IMPERATRIZ-FONSECA, V. L., 2004. Tree species used for nidification by stingless bees in the Brazilian caatinga (Seridó, PB; João Câmara, RN). *Biota Neotropica* **4**(2): 1-8.
- MICHENER, C. D., 1979. Biogeography of bees. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **66**(3): 227-347.
- MICHENER, C. D., 2000. The bees of the World. Johns Hopkins University Press, Baltimore.
- MITTERMEIER, R. A. N.; MYERS, P. R. G. & MITTERMEIER, C. G., 1999. Hotspots: earth biologically richest and most endangered terrestrial ecoregions. CEMEX. Agrupación Sierra Madre, México.
- NAGAMITSU, T. & INOUE, T., 1997. Aggressive foraging of social bees as a mechanism of floral resource partitioning in an Asian tropical rainforest. *Oecologia* **110**: 432-439.
- PEREIRA, U. C. R., 2004. Ninhos de Meliponinae (Hymenoptera, Apidae) do Parque Municipal do Bacaba, Nova Xavantina – MT. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade do estado do Mato Grosso, *Campus* de Nova Xavantina.
- PINHEIRO-MACHADO, C.; ALVES-DOS-SANTOS, I.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; KLEINERT, A. M. P. & SILVEIRA, F. A., 2002. Brazilian surveys: state of knowledge, conservation and sustainable use. *In*: Kevan, P. e Imperatriz-Fonseca, V. L. Pollinating bees: The conservation link between agriculture and nature. Ministry of Environment, Brasília, p. 115-129.
- RÊGO, M. M. C. & BRITO, C. 1996. Abelhas sociais (Apidae: Meliponini) em um ecossistema de cerrado *s.l.* (Chapadinha - MA, BR): distribuição dos ninhos. *In*: Anais do III Encontro Sobre Abelhas, Ribeirão Preto, p.238-247.
- ROUBIK, D., 1989. Ecology and natural history of tropical bees. Cambridge Tropical Biology series. Cambridge University Press. 514pp.

- ROUBIK, D., 2006. Stingless bee nesting biology. *Apidologie* **37**: 124-143.
- SAKAGAMI, S. F., 1982. Stingless bees. In: Hermann, H. R. (ed.). Social insects. Academic Press, New York. Vol. III: 361-423.
- SAMEJIMA, H.; MARZUKI, M.; NAGAMITSU, T. & NAKASIZUKA, T., 2004. The effects of human disturbance on a stingless bee community in a tropical rainforest. *Biological Conservation* **120**: 577-587.
- SILBERBAUER-GOTTSBERGER, I. & GOTTSBERGER, G., 1988. A polinização das plantas do Cerrado. *Revista Brasileira de Biologia* **48**: 651-663.
- SILVA, L. C. & PEREIRA, A. M., 2010. Considerações sobre a urbanização no cerrado mineiro. *I Colóquio Cidade e Região: Dinâmicas dos espaços urbanos e rurais*, Montes Claros, MG.
- SILVEIRA, S. A.; PINHEIRO-MACHADO, C.; ALVES-DOS-SANTOS, I.; KLEINERT, A. M. P. & IMPERATRIZ-FONSECA, V. L., 2002. Taxonomic constraints for the conservation and sustainable use of wild pollinators – the Brazilian wild bees. In: Kevan, P. e Imperatriz-Fonseca, V. L. Pollinating bees: The conservation link between agriculture and nature. Ministry of Environment, Brasília, p. 41-50.
- SLAA, E. J., 2006. Population dynamics of a stingless bee community in the seasonal dry lowlands of Costa Rica. *Insects Socieaux* **53**: 70-79.
- TAURA, H. M. & LAROCA, S., 1991. Abelhas altamente sociais (Apidae) de uma área restrita em Curitiba (Brasil): Distribuição dos ninhos e abundância relativa. *Acta Biologica Paranaensis* **20(1,2,3,4)**: 85-101.
- VIANA, L. S. & MELO, G. A. R., 1987. Conservação de abelhas. *Informe Agropecuário* **13**: 23-27.
- WHITING, P. W.; 1943 Multiple alleles complementary sex determination of *Habrobracon*. *Genetics* **28**:365–382.
- ZAYED, A.; ROUBIK, D. & PACKER, L., 2004. Use of diploid male frequency data as an indicator of pollinator decline. *Proceedings of the Royal Society of London, Biological Sciences* **271**: 9-12.
- ZANETTE, L. R. S.; MARTINS, R. P. & RIBEIRO, S. P., 2005. Effects of urbanization on Neotropical wasp and bee assemblages in a Brazilian metropolis. *Landscape and Urban Planning* **71**: 105-121.

Capítulo 1- : Influência da disponibilidade de substratos de nidificação e de alimento na densidade e distribuição de ninhos e diversidade de espécies de Meliponini (Apoidea: Apidae) em três fisionomias de cerrado em Itirapina-SP

Capítulo 1: Influência da disponibilidade de substratos de nidificação e de alimento na densidade e distribuição de ninhos e diversidade de espécies de Meliponini (Apoidea: Apidae) em três fisionomias de cerrado em Itirapina-SP

RESUMO:

Este estudo teve por objetivo comparar a densidade e distribuição de ninhos e diversidade de espécies de meliponíneos em três fisionomias de cerrado e os fatores associados, como disponibilidade de sítios de nidificação e de alimentos. O trabalho foi conduzido em Itirapina, SP. Foram pesquisados 74 ha em busca dos ninhos, sendo 30 ha de campo sujo, 26 ha de campo cerrado e 18 ha de cerradão. Foram encontrados 50 ninhos de meliponíneos. A espécie mais abundante foi *Trigona spinipes* Fabricius (42 ninhos), considerada uma espécie agressiva. Apesar dessa agressividade, a distribuição das suas colônias mostrou-se agregada no campo cerrado. O campo cerrado apresentou o maior número de ninhos ($n=19$) e a maior densidade (0,73 ninhos/ha), enquanto o cerradão apresentou maior riqueza de espécies ($n=5$). Nas três fisionomias, a taxa de ocupação de sítios de nidificação foi muito baixa. Houve floradas disponíveis o ano todo, mas elas se apresentaram concentradas em manchas, o que favoreceria a predominância de espécies competitivas, como *T. spinipes*. A maioria das espécies encontradas ocorre também em ambientes com forte pressão antrópica. Características de disponibilidade de sítios e de alimento e de uso e ocupação do solo podem estar relacionadas à baixa diversidade encontrada.

Palavras-chave: Apidae, Meliponini, nidificação, recursos florais, *Trigona spinipes*

Chapter 1: Influence of nesting sites' and food availability on nest density and distribution and species diversity of Meliponini (Apoidea: Apidae) in three phytophysiognomies of cerrado at Itirapina-SP

ABSTRACT:

The aim of this work was to compare stingless bees nest density and distribution and species diversity among three cerrado phytophysiognomies and the associated factors, such as nesting sites and food availability. The work was conducted in Itirapina, SP. We surveyed 74 ha in search of nests, 30 ha of *campo sujo*, 26 ha of *campo cerrado* and 18 ha of *cerradão*. We found 50 stingless bees nests. The most abundant species was *Trigona spinipes* Fabricius (42 nests), considered an aggressive species. Despite such aggressiveness, their nest spacing was clumped at *campo cerrado*, which presented most nests (n=19) and highest nest density (0,73 nests/ha). The highest species richness was found at *cerradão* (n=5). The occupancy rate of nesting sites was very low in the three vegetation types. There were available flowers throughout the year, but they were clumped in patches, favoring the dominance of competitive species such as *T. spinipes*. Most species found also occur in areas with strong anthropogenic pressure. Characteristics of available nesting sites, food and landscape use may be related to the low diversity found.

Key-words: Apidae, stingless bees, nesting sites, floral resources, *Trigona spinipes*

Introdução

O cerrado é um domínio morfoclimático cuja fitofisionomia é composta por um mosaico heterogêneo que forma um gradiente de altura e densidade de componentes lenhosos, desde uma formação campestre aberta a formações florestais (Eiten, 1972, 1982). Dentre os polinizadores do cerrado, as abelhas são o grupo mais representativo (Silberbauer-Gottsberger e Gottsberger, 1988). As espécies sociais compõem a maior biomassa de polinizadores em termos de número de indivíduos, sendo os meliponíneos responsáveis por 30 a 50% de todas as interações planta-visitantes florais (Michener, 1979; Biesmeijer *et al.*, 2005).

A estrutura da vegetação, em termos de tamanho, densidade e composição de espécies de árvores, pode ser um fator determinante para a distribuição de ninhos e a composição da fauna de meliponíneos em uma certa área. O diâmetro das árvores, por exemplo, pode limitar o tamanho da cavidade disponível, restringindo a distribuição de espécies que necessitam de grandes cavidades para nidificar (Samejima *et al.*, 2004). A existência de poucas árvores esparsas em fisionomias campestres, por sua vez, pode provocar o adensamento das colônias nos sítios disponíveis. Em algumas áreas de caatinga e de cerrado, por exemplo, um grande número de colônias foi encontrado em poucas espécies de árvores (Kerr, 1971; Antonini & Martins, 2003; Martins *et al.*, 2004).

Apesar da heterogeneidade de formações vegetais no cerrado, no entanto, existem poucos estudos comparando a ocorrência e distribuição dessas abelhas em diferentes fitofisionomias. Almeida-Anacleto & Marchini (2005), por exemplo, compararam a fauna de abelhas entre cerrado *sensu stricto* e cerradão em Pirassununga, enquanto Andena *et al.* (2009) compararam a comunidade de abelhas em quatro reservas de cerrado do estado de São Paulo, mas sem especificar as fitofisionomias

estudadas. Esses trabalhos, entretanto, focaram as abelhas como um todo, através do estudo dos visitantes florais. Pouco se sabe sobre a distribuição das colônias em diferentes fisionomias e qual a influência da disponibilidade de sítios de nidificação e de alimento para as populações de meliponíneos.

Por se tratar de um mosaico heterogêneo de fitofisionomias, espera-se que as comunidades de meliponíneos nas diferentes formações de cerrado sejam também diferentes entre si, em termos de composição de espécies, densidade e distribuição espacial. Fisionomias campestres, com poucas árvores disponíveis para nidificação, deveriam apresentar principalmente espécies de pequeno porte, capazes de ocupar pequenas cavidades da vegetação arbustiva. Além disso, as colônias deveriam apresentar um padrão agregado, acompanhando a distribuição agregada da maioria das espécies vegetais do cerrado (Durigan *et al.*, 2002; Tartaglia, 2004). No cerradão, por sua vez, onde existem árvores de maior porte, e em maior quantidade, esperaria-se encontrar espécies maiores, com colônias distribuídas de maneira aleatória. Não basta, porém, a presença de árvores de maior porte, é necessário que haja árvores de grande porte que forneçam cavidades. Um indicativo da disponibilidade de cavidades seria a abundância de espécies vegetais comumente utilizadas para a nidificação de meliponíneos em área de cerrado.

Diferenças na disponibilidade de flores ao longo do ano entre as várias fitofisionomias, por sua vez, poderiam influenciar a capacidade de determinadas espécies se fixarem em uma área. Fisionomias com floradas abundantes ao longo do ano, sem limitação de recurso, poderiam abrigar espécies menos competitivas, que poderiam ser excluídas de fisionomias em que o recurso alimentar fosse escasso. No caso de escassez de recursos, a predominância de espécies competitivas poderia levar a uma distribuição uniforme de colônias. Assim, esse estudo teve por objetivo comparar a

densidade e a distribuição de ninhos e diversidade de espécies de meliponíneos em três fisionomias de cerrado, para responder às seguintes perguntas: 1) A diversidade (riqueza e abundância relativa) de espécies de meliponíneos acompanha o aumento da disponibilidade de sítios de nidificação do campo sujo ao cerradão? 2) Em caso positivo, a composição florística das fisionomias contribui para esse aumento? 3) As fisionomias campestres apresentam colônias de espécies de pequeno porte, capazes de ocupar pequenas cavidades, enquanto o cerradão apresenta colônias de espécies de maior porte? 4) A densidade de ninhos é maior no cerradão, devido à maior disponibilidade de sítios? 5) A distribuição espacial das colônias apresenta um padrão agregado nas fisionomias campestres e aleatório no cerradão? 6) A disponibilidade de flores nas diferentes fitofisionomias favorece a ocorrência de espécies agressivas ou não agressivas? A composição de espécies segue o padrão esperado pela disponibilidade de flores?

Materiais e Métodos

Área de estudo

O estudo foi conduzido em área de campo sujo e de campo cerrado da Estação Ecológica de Itirapina (EEI – 22°12'S 47°55'W) e no fragmento de cerradão do Instituto Arruda Botelho (IAB – 22°10'S 47°57'W). A EEI foi estabelecida como Unidade de Conservação em 1984 e abrange 2.300 ha, compreendendo campo limpo, campo úmido, campo sujo, campo cerrado e porções menores de outras formações, como cerrado *stricto sensu* e matas de galeria (Delgado *et al.*, 2004). O IAB é um fragmento remanescente de cerradão de 266 ha. A região de Itirapina está dentro do domínio morfoclimático tipo Cwa, com inverno seco e verão chuvoso. A pluviosidade média anual é de 1.501 mm e a temperatura, 22°C (Delgado *et al.*, 2004).

Localização dos ninhos

Foram escolhidas para o estudo as áreas de campo sujo e campo cerrado da EEI e a área de cerradão do IAB. A amostragem correspondeu a 7% da área total de cada fitofisionomia. Foram delimitados inicialmente cinco hectares de cada fisionomia, em forma de uma parcela de 200X250 m. Como a amostragem mostrou-se insuficiente para o levantamento dos ninhos, optou-se por ampliar a área amostrada através da distribuição de transectos de 1 ha (500X20 m), distantes pelo menos 150 m entre si e distribuídos de maneira espalhada, para cobrir a maior superfície possível de cada fisionomia. Foram distribuídos, assim, 25 transectos no campo sujo, 21 no campo cerrado e 13 no cerradão. Somadas à área das parcelas, a amostragem correspondeu a 30 ha de campo sujo, 26 ha de campo cerrado e 18 ha de cerradão. (Figura 1). Dois transectos do campo sujo terminaram sobre vegetação de campo cerrado e foram desconsiderados na análise de distribuição dos ninhos. Os ninhos encontrados nesses dois transectos foram computados como pertencentes à fisionomia em que foram realmente encontrados.

As parcelas e transectos foram percorridos pelo menos duas vezes no período de agosto/2007 a dezembro/2009. Foram examinadas todas as árvores com diâmetro à altura do peito (DAP) maior que 10 cm em todas as fisionomias ou maiores que 2,5 m no campo sujo em busca dos ninhos. Também foram examinados todos os termiteiros e cavidades no solo.

Todos os ninhos encontrados tiveram sua localização marcada por GPS e foram mapeados sobre uma foto aérea da região obtida junto à administração da EEI ou sobre uma imagem de satélite (Google Earth®), no caso do IAB. O mapeamento das fisionomias sobre as imagens foi feita através do programa ArcGis 9.2®, com auxílio do mapa da vegetação obtido junto à chefia da EEI. Foram registrados o substrato

utilizado para nidificação, altura em relação ao solo, posição da entrada em relação aos pontos cardeais e a forma da entrada. Foram coletados cinco indivíduos de cada ninho para identificação. Os espécimes estão na coleção Dr. Paulo Nogueira Neto, IBUSP. Os ninhos localizados foram revisitados com intervalo máximo de três meses.

Figura 1. Mapa da área estudada da Estação Ecológica de Itirapina (EEI) e do Instituto Arruda Botelho (IAB). campo sujo; campo cerrado; cerradão; | transectos; parcelas

Disponibilidade de sítios e disponibilidade de alimento

Para quantificar e qualificar a disponibilidade de sítios em cada fitofisionomia, verificamos a densidade de árvores, o seu porte (altura e DAP) e a composição florística. Para isso, todas as árvores examinadas das parcelas de 5 ha tiveram a altura e o diâmetro medidos visualmente com o auxílio de escalas. As espécies arbóreas da EEI foram identificadas em campo quando possível, ou tiveram ramos coletados e herborizados para identificação posterior. A identificação foi realizada até espécie, quando possível, com base nas listas de espécies constantes em Delgado *et al.* (2004), com auxílio do guia de Durigan *et al.* (2004). Na parcela do campo cerrado, foram considerados à parte da amostra 260 indivíduos de *Dalbergia miscolobium*, que estavam concentrados em 0,62 ha. Essa árvore forma agregados densos, tanto no campo sujo como no campo cerrado, e foi considerada à parte das análises para não enviesar a amostra. Indivíduos isolados da espécie foram contabilizados nas amostras, tanto no campo sujo como no campo cerrado.

Para as plantas do IAB, foram identificadas apenas aquelas em que foram localizados ninhos. Para as demais espécies, foram utilizados os dados de Reys *et al.* (no prelo). Para a avaliação da disponibilidade de alimento ao longo do tempo, foram contadas mensalmente as plantas, as plantas floridas e o número de flores por planta ao longo de um transecto de 100m x 1m em cada fitofisionomia, de abril/2008 a dezembro/2009. Os valores foram relacionados através da correlação de Spearman com os dados de pluviosidade e temperatura do período, obtidos junto à administração das Unidades de Conservação de Itirapina.

Análise dos dados

As diferenças entre as fitofisionomias quanto aos valores de diâmetro e altura estimada das árvores e quanto ao número de plantas floridas foram verificadas por teste de ANOVA, com teste *a posteriori* de Tukey. Para a espécie mais abundante de Meliponini encontrada no estudo, comparou-se a altura, o DAP das árvores utilizadas para nidificação e a altura dos ninhos pelo teste de Kruskal-Wallis entre o campo sujo, campo cerrado e cerradão.

A densidade de ninhos em cada fitofisionomia foi obtida dividindo-se o número de ninhos encontrados pela área examinada. Para verificar a adequabilidade do tamanho das áreas amostradas foi feita a curva do coletor para o número de espécies e o número de ninhos, com auxílio do programa EstimateS (Cowell, 2009) e a curva de rarefação para cada fitofisionomia, com auxílio do programa PAST (Hammer *et al.*, 2001). O índice de diversidade de Shannon também foi calculado com auxílio do programa PAST. Para avaliar o padrão de distribuição das colônias foi verificada primeiramente a aleatoriedade da distribuição por comparação por Chi-quadrado à distribuição de Poisson (Ludwig & Reynolds, 1988). Para os valores obtidos que rejeitaram a distribuição de Poisson, foi realizado o cálculo do coeficiente de Green (Green, 1966), que independe do tamanho amostral, permitindo a inclusão das parcelas e transectos e a comparação entre as áreas:

$$C_x = \frac{\left(\frac{s^2}{m}\right) - 1}{\sum n - 1} ,$$

onde: s^2 =variância, m =média do número de indivíduos e n =número de indivíduos em cada amostra. De acordo com Ludwig & Reynolds (1988), se $C_x=0$, a distribuição é considerada aleatória. Se $C_x=1$, considera-se o máximo de agregação, e se $C_x=-1/(n-1)$, o máximo da distribuição uniforme. O afastamento de C_x da aleatoriedade foi calculado pela seguinte expressão, segundo Davis (1994):

$$C_{x,(1-\alpha)} = \frac{\left(\frac{\chi^2_{(1-\alpha)}}{n-1}\right) - 1}{nm-1},$$

Onde $\chi^2_{(1-\alpha)}$ é o valor de Chi-quadrado para $n-1$ graus de liberdade e nível α de significância (0,05 neste estudo). Se $C_x > C_{x,(1-\alpha)}$, rejeita-se a aleatoriedade.

A diferença entre a quantidade de flores disponíveis entre cada fitofisionomia foi verificada por um teste de ANOVA com teste *a posteriori* de Tukey

Resultados

Foram localizados 50 ninhos de Meliponini neste estudo, sendo 38 ninhos na EEI (Figura 2) e 12 ninhos no IAB (Figura 3). Dos ninhos da EEI, 17 foram encontrados no campo sujo, 19 no campo cerrado e dois fora da área de amostragem (ninhos 1 e 2), em área de cerrado *sensu stricto*, desconsiderados das análises. Na Tabela I, estão apresentados os valores obtidos em relação à densidade e distribuição de ninhos, à riqueza e abundância relativa de espécies de meliponíneos e às características gerais e taxa de ocupação dos sítios disponíveis de cada fitofisionomia. Os ninhos encontrados em cada fitofisionomia e as características dos substratos utilizados para nidificação estão apresentados na Tabela II. Em comparação a outros levantamentos de ninhos em região de cerrado, este estudo foi o que encontrou um dos menores números de espécies por área amostrada, quando consideradas as fitofisionomias campestres. Para o cerradão, o resultado foi semelhante aos demais estudos (tabela III).

A curva de acumulação de espécies não mostrou estabilização apenas para o cerradão (Figura 4). A curva de rarefação, no entanto, mostrou estabilização somente para o campo cerrado (Figura 5). Portanto, embora a área total da fitofisionomia fosse a menor das três, a amostragem de 7% da área total mostrou-se insuficiente. Assim, a riqueza de espécies nessa fitofisionomia pode ter sido sub-amostrada, assim como a abundância de ninhos. O detalhamento dos resultados segue adiante.

Tabela I – Quadro comparativo entre as fitofisionomias estudadas.

	campo sujo	campo cerrado	cerradão
Área total (ha)	428	371	266
Área amostrada (ha)	30	26	18
Nº ninhos	17	19	12
Nº espécies diferentes de meliponíneos	1	2	5
Diversidade (H')	0,0000	0,1985	1,424
Densidade (ninhos/ha)	0,56	0,73	0,67
Densidade <i>T. spinipes</i> (ninhos/ha)	0,56	0,69	0,28
Distribuição dos ninhos	aleatória	agregada	aleatória
Densidade de árvores* (árvores/ha)	43	92,6	129,8
Taxa de ocupação dos sítios (ninhos.ha ⁻¹ /árvore.ha ⁻¹)	0,013	0,007	0,005
Altura média das árvores ± desvio padrão (m)	3,6±1,2	3,9±1,2	8,7±4,8
Altura média das árvores agregadas de <i>Dalbergia miscolobium</i> ± desvio padrão (m)	-	5±3	-
Altura média das árvores utilizadas por <i>T. spinipes</i> ± desvio padrão (m)	2,62±0,46	2,83±1,14	6,54±4,85
Altura média dos demais ninhos ± desv. padrão (m)**	Não se aplica	2,5	0,68±0,65
DAP médio ± desvio padrão (cm)	10,5±2,7	11,5±2,3	17,4±8,3
DAP médio ± desvio padrão (cm) do agregado de <i>Dalbergia miscolobium</i>	-	12±4	-
DAP médio das árvores utilizadas**	7,2±1,5	10,6±5,3	18,4±9,1
Espécies arbóreas mais abundantes (%)	<i>Pouteria torta</i> (13%) e <i>Byrsonima intermedia</i> (9,6%)	<i>Pouteria torta</i> (35%), <i>Couepia grandifolia</i> e <i>Eriotheca gracilipes</i> (29% cada)	<i>Bauhinia rufa</i> e <i>Xylopia aromatica</i> (6%)*
Principais espécies arbóreas utilizada (% ninhos)	<i>Pouteria torta</i> (29%)	<i>Pouteria torta</i> (21%)	<i>Anadenanthera falcata</i> (36%)

*- árvores com DAP > 10 cm ou maiores que 2,5 m, no caso do campo sujo; **- exceto *Trigona hyalinata*; ***- Reys *et al.*, no prelo.

Tabela II: Ninhos encontrados durante o estudo, respectivos sítios de nidificação e suas características.

Fitofisionomia	Espécie	Substrato		DAP (cm)	altura da árvore	
		Espécie	Família		(m)	altura do ninho (m)
campo sujo	<i>Trigona spinipes</i>	<i>Diospyrus hyspida</i>	Ebenaceae	5	2,5	1,2
campo sujo	<i>Trigona spinipes</i>	<i>Pouteria torta</i>	Sapotaceae	10	2,5	1,8
campo sujo	<i>Trigona spinipes</i>	<i>Piptocarpha rotundifolia</i>	Asteraceae	8	3	2
campo sujo	<i>Trigona spinipes</i>	<i>Couepia grandiflora</i>	Chrysobalanaceae	8	1,6	0,8
campo sujo	<i>Trigona spinipes</i>	<i>Piptocarpha rotundifolia</i>	Asteraceae	6	2,5	1,9
campo sujo	<i>Trigona spinipes</i>	<i>Rapanea guianensis</i>	Myrsinaceae	5	2,5	1,8
campo sujo	<i>Trigona spinipes</i>	<i>Erytroxylum tortuosum</i>	Erytroxylaceae	7	3	1,6
campo sujo	<i>Trigona spinipes</i>	<i>Tabebuia aurea</i>	Bignoniaceae	10	3,5	2,3
campo sujo	<i>Trigona spinipes</i>	<i>Diospyrus hyspida</i>	Ebenaceae	7	3	2
campo sujo	<i>Trigona spinipes</i>	<i>Tabebuia aurea</i>	Bignoniaceae	8	3	2
campo sujo	<i>Trigona spinipes</i>	<i>Pouteria torta</i>	Sapotaceae	7	2,7	1,8
campo sujo	<i>Trigona spinipes</i>	<i>Couepia grandiflora</i>	Chrysobalanaceae	8	2,5	1,2
campo sujo	<i>Trigona spinipes</i>	<i>Pouteria torta</i>	Sapotaceae	7	3	2,3
campo sujo	<i>Trigona spinipes</i>	<i>Eriotheca gracilipes</i>	Bombacaceae	8	2,5	1,5
campo sujo	<i>Trigona spinipes</i>	<i>Couepia grandiflora</i>	Chrysobalanaceae	8	2,7	1,5
campo sujo	<i>Trigona spinipes</i>	<i>Pouteria torta</i>	Sapotaceae	5	1,8	1
campo sujo	<i>Trigona spinipes</i>	<i>Pouteria torta</i>	Sapotaceae	6	2,3	1,5
campo cerrado	<i>Melipona quadrifasciata</i>	<i>Dalbergia miscolobium</i>	Fabaceae	30	4	2,5
campo cerrado	<i>Trigona spinipes</i>	<i>Vochysia tucanorum</i>	Vochysiaceae	20	4	3,5
campo cerrado	<i>Trigona spinipes</i>	<i>Erytroxylum tortuosum</i>	Erytroxylaceae	4	1,8	1
campo cerrado	<i>Trigona spinipes</i>	<i>Eriotheca gracilipes</i>	Bombacaceae	10	0,5	2
campo cerrado	<i>Trigona spinipes</i>	<i>Annona crassiflora</i>	Annonaceae	10	3	1,5
campo cerrado	<i>Trigona spinipes</i>	<i>Diospyrus hyspida</i>	Ebenaceae	10	3	1,5
campo cerrado	<i>Trigona spinipes</i>	<i>Diospyrus hyspida</i>	Ebenaceae	15	4,5	3,5
campo cerrado	<i>Trigona spinipes</i>	<i>Vochysia tucanorum</i>	Vochysiaceae	20	3,5	2,5
campo cerrado	<i>Trigona spinipes</i>	<i>Vochysia tucanorum</i>	Vochysiaceae	15	4,5	3,5
campo cerrado	<i>Trigona spinipes</i>	<i>Couepia grandiflora</i>	Chrysobalanaceae	6	1,2	0,7

Tabela II - continuação

Fitofisionomia	Substrato			DAP (cm)	altura da árvore (m)	altura do ninho (m)
	Espécie	Espécie	Família			
campo cerrado	<i>Trigona spinipes</i>	<i>Pouteria torta</i>	Sapotaceae	10	4	3
campo cerrado	<i>Trigona spinipes</i>	<i>Diospyrus hyspida</i>	Ebenaceae	7	2,5	1,5
campo cerrado	<i>Trigona spinipes</i>	<i>Kyelmeyera coriaceae</i>	Clusiaceae	10	3,5	2
campo cerrado	<i>Trigona spinipes</i>	tronco seco	não identificado	10	2	1,7
campo cerrado	<i>Trigona spinipes</i>	<i>Eugenia aurata</i>	Myrtaceae	7	2	1,2
campo cerrado	<i>Trigona spinipes</i>	<i>Dalbergia miscolobium</i>	Fabaceae	20	4	1,5
campo cerrado	<i>Trigona spinipes</i>	<i>Pouteria torta</i>	Sapotaceae	6	2,5	1,9
campo cerrado	<i>Trigona spinipes</i>	<i>Pouteria torta</i>	Sapotaceae	6	2,5	1,6
campo cerrado	<i>Trigona spinipes</i>	<i>Pouteria torta</i>	Sapotaceae	5	2	0,8
Cerradão	<i>Leurotrigona</i> c.f. <i>muelery</i>	<i>Anadenanthera falcata</i>	Mimosaceae	10	3	0,75
Cerradão	<i>Leurotrigona</i> c.f. <i>muelery</i>	<i>Anadenanthera falcata</i>	Mimosaceae	10	3	1,8
Cerradão	<i>Plebeia</i> c.f. <i>droryana</i>	<i>Machaerium acutifolium</i>	Fabaceae	20	5	1
Cerradão	<i>Tetragonisca angustula</i>	<i>Anadenanthera falcata</i>	Mimosaceae	35	5	0,2
Cerradão	<i>Tetragonisca angustula</i>	<i>Caryocar brasiliense</i>	Caryocaraceae	30	5	0,15
Cerradão	<i>Tetragonisca angustula</i>	<i>Caryocar brasiliense</i>	Caryocaraceae	35	3,5	0,2
Cerradão	<i>Trigona hyalinata</i>	solo	não se aplica	1	0	0
Cerradão	<i>Trigona spinipes</i>	<i>Myrcia guianensis</i>	Myrtaceae	7	3	2,3
Cerradão	<i>Trigona spinipes</i>	<i>Anadenanthera falcata</i>	Mimosaceae	25	6	3
Cerradão	<i>Trigona spinipes</i>	<i>Machaerium acutifolium</i>	Fabaceae	25	15	12
Cerradão	<i>Trigona spinipes</i>	<i>Licania</i> sp	Chrysobalanaceae	10	4	2,5
Cerradão	<i>Trigona spinipes</i>	<i>Pouteria torta</i>	Sapotaceae	25	4,7	4,5
cerrado <i>stricto sensu</i> *	<i>Trigona spinipes</i>	<i>Dalbergia miscolobium</i>	Fabaceae	15	5	1,7
cerrado <i>stricto sensu</i> *	<i>Trigona spinipes</i>	<i>Xylopia aromatica</i>	Annonaceae	10	4	1,7

*- ninhos localizados fora da área de amostragem

Tabela III – Quadro comparativo de levantamentos de ninhos de abelhas sem ferrão em áreas pertencentes ao bioma Cerrado:

Autores	ano	localidade	área amostrada (ha)	n° espécies	n° ninhos	densidade de ninhos (ninhos/ha)	espécies por área (spp/ha)
Freitas <i>et al.</i>	2009	Ribeirão Preto, SP	75	15	470	6,30	0,20
Nogueira-Ferreira & Siqueira	2008	Uberlândia, MG	100	14	29	0,29	0,14
Pereira	2004	Nova Xavantina, MT	40	20	145	3,63	0,50
Rego <i>et al.</i>	2008	Balsas, MA	?	22	110	?	?
Rego	1998	Chapadinha, MA	5	14	26	5,20	2,80
Serra <i>et al.</i>	2009	Urbano Santos, MA	185.5	16	73	0,39	0,09
Siqueira <i>et al.</i>	2007	Araguari, MG	50.4	6	69	1,37	0,12
este estudo		EEI - campo sujo	30	1	17	0,56	0,03
este estudo		EEI - campo cerrado	26	2	19	0,73	0,08
este estudo		IAB - cerradão	18	5	12	0,67	0,28

Figura 2. Ninhos localizados na Estação Ecológica de Itirapina (EEI). □ campo sujo; ■ campo cerrado; | transectos; □ parcelas; ● ninhos de *T. spinipes* (des: ninho encontrado desativado); M: ninho de *M. quadrifasciata* (M)

Figura 3. Ninhos localizados no fragmento de cerrado do Instituto Arruda Botelho (IAB). | transectos; □ parcelas; ● ninhos de *T. spinipes*. J1, J2 e J3: ninhos de *Tetragonisca angustula*; P: ninho de *Plebeia c.f. droryana*; L1-L2: ninhos de *Leurotrigona c.f. muelleri*; Th: ninho de *Trigona hyalinata*.

Figura 4. Curvas de acumulação de espécies (média $\pm$ desvio padrão) para o campo sujo (A), campo cerrado (B) e cerradão (C).

A

B

Figura 5. Curvas de rarefação de espécies (linhas vermelhas) e intervalo de confiança de 95% (linhas azuis) para o campo cerrado (A) e o cerradão (B). Campo sujo não representado por ter sido encontrada apenas uma espécie.

Disponibilidade de sítios *versus* diversidade de meliponíneos

Conforme esperado, o cerradão apresentou a maior densidade de árvores com DAP maior que 10 cm (129,8 árvores/ha), enquanto o campo sujo apresentou a menor densidade (43 árvores/ha). O campo cerrado apresentou um valor intermediário, 92,6 árvores/ha. O porte das árvores também foi maior no cerradão, tanto em relação à altura, como em relação ao DAP (Tabela I).

Em relação à altura, foi observada diferença significativa apenas entre o cerradão e as demais fitofisionomias ($t=4,847$ e $p<0,01$ entre cerradão e campo sujo, $t=5,236$ e $p<0,01$ entre cerradão e campo cerrado e $t=0,388$ e $p=0,41$ entre campo sujo e campo cerrado). O DAP foi maior no cerradão que nas demais fitofisionomias, e foi maior para o campo cerrado que para o campo sujo ($t=6,908$ e $p<0,01$ entre cerradão e campo sujo, $t=5,885$ e $p<0,01$ entre cerradão e campo cerrado e $t=1,023$ e $p=0,01$ entre campo cerrado e campo sujo). O diâmetro das árvores pode ter sido enviesado no campo sujo, já que foram amostradas também árvores mais altas que 2,5 m, independentemente do DAP. Quando desconsideradas as árvores com DAP inferior a 10 cm, a densidade de árvores do campo sujo passa a 30 árvores/ha, e desaparece a diferença entre os DAP do campo sujo e campo cerrado ($t=0,1105$ e $p=0,95$). O agregado de indivíduos de *Dalbergia miscolobium* apresentou valores de DAP e altura semelhantes aos valores gerais do campo cerrado.

Apesar do menor esforço amostral, o cerradão foi a fitofisionomia que apresentou o maior valor de diversidade de espécies de meliponíneos ($H'=1,424$), enquanto o campo sujo apresentou o menor valor ($H'=0,0000$ Tabela I). A maior riqueza também foi encontrada no cerradão ($n=5$); no campo sujo, todas as colônias encontradas pertenciam a uma só espécie, *Trigona spinipes* Fabricius. No campo cerrado, foram encontradas colônias de duas espécies: *T. spinipes*, com 18 ninhos, e

Melipona quadrifasciata anthidioides Lepeletier, com apenas uma colônia. No cerrado, embora *T. spinipes* tenha sido a espécie mais abundante, com cinco dos 12 ninhos, foram encontradas colônias de mais quatro espécies de abelhas: 03 ninhos de *Tetragonisca angustula* Latreille, 02 de *Leurotrigona muelleri* Friese, ambos na mesma árvore, 01 de *Plebeia droryana* (Friese) e 01 de *Trigona hyalinata* Lepeletier (Tabela II).

Composição florística versus substratos utilizados para nidificação

Quanto à composição de espécies de árvores nas diferentes fitofisionomias, no campo cerrado foram encontradas 44 espécies de árvores com DAP maior que 10 cm, sendo que as 15 espécies mais frequentes compuseram 58% dos 463 indivíduos amostrados. A espécie mais abundante foi *Pouteria torta* Radlkofe 1882 (Sapotaceae), com 7,5% da amostra, seguida por *Couepia grandifolia* Benth 1867 (Chrysobalanaceae) e *Eriotheca gracilipes* (K. Schumann) Robyns 1963 (Bombacaceae), cada uma com 6,25% do total. Para o campo sujo, foram identificadas 21 espécies de árvores, das quais as dez mais abundantes perfizeram 67% da amostra. A espécie mais comum foi *Pouteria torta* (Sapotaceae), com 13% da amostra, seguida por *Byrsonima intermedia* Jussieu 1833 (Malpighiaceae), com 9,6% e por *Eriotheca gracilipes* (Bombacaceae) e *Senna rugosa* (G. Don) Irwin & Barneby 1982 (Caesalpinaceae), ambas com 8,5%.

Os ninhos localizados na EEI foram construídos em 18 espécies diferentes de árvores e arbustos, pertencentes a 14 famílias. No cerrado, foram utilizadas seis espécies diferentes, pertencentes a seis famílias (Tabela II). A espécie mais utilizada, tanto no campo cerrado como no campo sujo, foi *Pouteria torta* (Sapotaceae), usada por 10 colônias. No cerrado, a espécie mais utilizada foi *Anadenanthera peregrina*

Spegazzini var. *falcata* (Bentham) Altschul 1964 (Mimosaceae), onde quatro colônias nidificaram, sendo que duas dessas (*L. muelleri*) estavam localizadas na mesma árvore.

Tamanho das abelhas das espécies encontradas *versus* porte da vegetação

No campo sujo e no campo cerrado, com exceção da colônia de *M. quadrifasciata*, todas pertenciam à espécie *T. spinipes*, que constrói ninhos aéreos, independentemente da presença de cavidades. A altura das árvores utilizadas por *T. spinipes* acompanhou a média de altura das árvores de cada fitofisionomia (Tabela I). Foi observada diferença significativa na altura das árvores utilizadas apenas entre o cerradão e as demais fitofisionomias ($z=-3,119$ e $p<0,01$ entre cerradão e campo sujo, $z=-2,512$ e $p<0,01$ entre cerradão e campo cerrado e $z=-0,585$ e $p=0,56$ entre campo sujo e campo cerrado). O mesmo pôde ser observado em relação ao DAP das árvores utilizadas por essa espécie, o que reflete sua plasticidade na escolha das dimensões do seu sítio de nidificação. Foi observada diferença significativa somente entre o campo sujo e o cerradão ($z=-2,517$ e $p=0,01$ entre cerradão e campo sujo, $z=-1,898$ e $p=0,07$ entre cerradão e campo cerrado e $z=-1,857$ e $p=0,07$ entre campo sujo e campo cerrado).

Em relação às outras espécies de Meliponini, no campo cerrado, o único ninho de *M. quadrifasciata* encontrado no estudo estava em um exemplar de 30 cm de DAP de *Dalbergia miscolobium*. Árvores com mais de 20 cm de DAP são raras na EEI, principalmente nas fitofisionomias campestres. Em uma delas, a cavidade estava ocupada por um ninho de *Apis mellifera*.

Para o cerradão, apesar do porte maior da vegetação, todas as espécies que utilizam cavidades pertenciam a espécies cujas operárias apresentam um tamanho

pequeno, não passando de 6 mm de comprimento. Apesar disso, com exceção das colônias de *L. muelleri*, as demais utilizaram árvores com DAP > 20 cm. Espécies maiores, como as do gênero *Melipona*, não foram encontradas nidificando em cavidades no cerradão, com a ressalva da possível subestimativa.

Densidade de ninhos *versus* densidade de substratos disponíveis

Apesar da maior densidade de sítios disponíveis, o cerradão não foi a fisionomia em que foi observada a maior densidade de ninhos. O maior valor de densidade de ninhos foi observado para o campo cerrado (0,73 ninhos/ha, Tabela I). A densidade de sítios não apresentou correlação significativa com a densidade de ninhos ($r_s=0,50$; $p=0,66$). A taxa de ocupação dos sítios disponíveis foi inferior a 1% em todas as fitofisionomias (Tabela I).

Distribuição espacial *versus* fitofisionomia

Quando comparados por Chi-quadrado à distribuição de Poisson, o campo cerrado foi a única fitofisionomia que apresentou um padrão não aleatório ($\chi^2=9,9470$, GL=3, $p=0,01$). Para o campo sujo e o cerradão, o padrão foi considerado aleatório ($\chi^2=3,2261$, GL=3, $p=0,35$ e $\chi^2=7,0667$, GL=, $p=0,07$, respectivamente). Para testar se a distribuição no campo cerrado seria agregada ou uniforme, calculou-se o índice de Green (Green, 1966). O valor obtido revelou um padrão de distribuição agregado ($C_x=0,2617 > C_{x(1-\alpha)}=0,0750$).

Para avaliar se o esforço amostral interferiria no padrão de distribuição observado, foi feito um novo cálculo, equalizando-se as amostras pelo valor absoluto de área, considerando o tamanho amostral do cerradão. Mantiveram-se os dados das parcelas das três fitofisionomias e sortearam-se 13 transectos no campo cerrado e 13

no campo sujo. Para o campo sujo, a distribuição resultou novamente aleatória ($\chi^2=2,935$, GL=3 e $p=0,40$), e para o campo cerrado passou de agregada a aleatória ($\chi^2=6,064$, GL=3, $p=0,11$).

Disponibilidade e distribuição de alimento *versus* favorecimento de espécies agressivas

O ano de 2009 foi o mais chuvoso dos três anos do estudo, com 1.861 mm de chuvas ao longo do ano, contra 1.535 mm, em 2007, e 1.184 mm, em 2008, assim como o mais frio (temperatura média anual de 18,8 °C em 2009, contra 22 °C em 2007 e 21,1 °C em 2008). A pluviosidade de 2009 foi maior e a temperatura média anual menor do que o observado para o período de 1981 a 1991 (1.501 mm e 22 °C; Delgado *et al.* 2004). O período chuvoso de 2009 respondeu por 1.433 mm (77%). Os meses mais quentes foram janeiro e março (20,8 °C) e o mais frio, junho (14,9 °C). O mais chuvoso foi janeiro (394 mm) e o mais seco, junho (30 mm).

Não houve correlação significativa entre o número de plantas floridas e a precipitação para nenhuma das fitofisionomias (campo sujo: $r_s=0,305$ e $p=0,25$; campo cerrado: $r_s=0,195$ e $p=0,47$; cerradão: $r_s=-0,327$ e $p=0,22$). Entretanto, para o campo sujo, foi obtida correlação significativa entre o número de plantas floridas e a temperatura ($r_s=0,548$ e $p=0,03$), não observada para campo cerrado ($r_s=0,218$ e $p=0,41$), e para o cerradão ($r_s=-0,456$ e $p=0,08$).

A floração não foi observada de maneira uniforme. De maneira geral, a maior média de plantas floridas foi encontrada no campo sujo, seguida pelo campo cerrado e por último pelo cerradão, tanto no período seco como no período úmido, nos dois anos de estudo. O número de plantas floridas do campo sujo foi significativamente maior do que no campo cerrado ($t=2,483$ e $p=0,03$) e do que no cerradão ($t=2,634$ e

$p=0,01$). Entre o campo cerrado e o cerradão não houve diferença significativa ($t=0,523$ e $p=0,6$). No período úmido, houve um ligeiro aumento na floração do campo sujo, enquanto no cerradão houve ligeira queda e no campo cerrado, não houve alteração (Figura 6). Foram encontrados indivíduos floridos em todos os períodos, mas sempre poucos indivíduos, de poucas espécies e com floradas abundantes (Tabela IV), indicando um recurso em manchas, possivelmente limitante.

Figura 6. Temperatura e porcentagem de plantas floridas (eixo esquerdo, barras) e precipitação (eixo direito, linha) durante o período de estudo.

Tabela IV : Número de plantas, de plantas floridas, de espécies diferentes floridas e de flores em 100 m² de cada fitofisionomia, nos períodos seco e úmido de 2008 e 2009. Mediana $\pm$ 1º quartil

Período	Fitofisionomia	plantas	plantas floridas	espécies diferentes floridas	flores
seco 2008	campo cerrado	107 $\pm$ 94	9 $\pm$ 8	3 $\pm$ 3	527 $\pm$ 507
	campo sujo	202 $\pm$ 198	13 $\pm$ 8	3 $\pm$ 2	483 $\pm$ 482
	cerradão	200 $\pm$ 198	8 $\pm$ 8	4 $\pm$ 4	108 $\pm$ 96
úmido 2008	campo cerrado	167 $\pm$ 157,5	14 $\pm$ 13	9 $\pm$ 8,5	1041 $\pm$ 877
	campo sujo	319 $\pm$ 253	34 $\pm$ 27	9 $\pm$ 8,5	1187 $\pm$ 952
	cerradão	322 $\pm$ 268	5 $\pm$ 3	4 $\pm$ 2	300 $\pm$ 159
seco 2009	campo cerrado	147 $\pm$ 114	10 $\pm$ 6	6 $\pm$ 6	332 $\pm$ 269
	campo sujo	196 $\pm$ 173	4 $\pm$ 3	4 $\pm$ 3	73 $\pm$ 63
	cerradão	246 $\pm$ 215	11 $\pm$ 9	5 $\pm$ 4	420 $\pm$ 250
úmido 2009	campo cerrado	224 $\pm$ 202	13 $\pm$ 10	6 $\pm$ 6	332 $\pm$ 269
	campo sujo	270 $\pm$ 253	15 $\pm$ 14	6 $\pm$ 6	671 $\pm$ 224
	cerradão	347 $\pm$ 256	8 $\pm$ 6	4 $\pm$ 3	127 $\pm$ 81

DISCUSSÃO

Disponibilidade de sítios *versus* diversidade de meliponíneos

A diversidade de espécies foi maior no cerradão, conforme esperávamos, mesmo com a ressalva da possível sub-amostragem. A composição de espécies de Meliponini nas diferentes fitofisionomias poderia explicar essa maior diversidade. No cerradão, a maioria dos ninhos encontrados pertencia a espécies que utilizam cavidades para nidificar. Ainda que a taxa de ocupação dos sítios disponíveis tenha sido muito baixa nas três fitofisionomias, o porte maior das árvores do cerradão poderia indicar um número maior de cavidades disponíveis, já que árvores maiores e, portanto, mais velhas, têm maior possibilidade de apresentar cavidades. O porte menor das árvores nas fitofisionomias campestres, por sua vez, facilitaria a predominância de espécies que não necessitam de cavidades, construindo ninhos externos, como *T. spinipes*, a espécie mais abundante deste estudo.

Levantamentos de ninhos de meliponíneos em fitofisionomias campestres têm mostrado um pequeno número de espécies, mesmo quando a densidade de ninhos é alta. Teixeira & Viana (2005), por exemplo, verificaram que os ninhos de meliponíneos de uma área de vegetação de dunas pertenciam a três espécies. Dessas, a maioria ocupava cavidades de árvores de grande porte, chegando a 13 colônias em uma única árvore. No campo sujo e no campo cerrado, foram encontradas poucas árvores de grande porte, e somente uma apresentava colônia de Meliponini: o ninho de *Melipona quadrifasciata*, encontrado no campo cerrado. Mesmo os agregados de *Dalbergia miscolobium* eram compostos por árvores de diâmetro, em média, abaixo de 15 cm.

Composição florística versus substratos utilizados para nidificação

O número de espécies de árvores encontradas no cerradão foi superior ao encontrado nas demais fitofisionomias, enquanto a abundância relativa da espécie dominante foi superior no campo cerrado. Além disso, enquanto nas fitofisionomias campestres, as dez espécies lenhosas mais abundantes perfizeram mais de 50% da amostra, no cerradão foram necessárias 16 espécies para atingir essa abundância proporcional. Isso indica que, além da maior disponibilidade numérica de sítios e do porte maior das árvores, o cerradão apresenta uma heterogeneidade maior em relação à composição florística, quando comparado às demais fitofisionomias.

Nas fitofisionomias campestres, a árvore mais abundante foi também a mais utilizada para nidificação. Considerando que a maioria dos ninhos pertencia à *Trigona spinipes*, que independe de cavidades, essa relação entre a espécie dominante e a espécie mais utilizada pode ser um reflexo do comportamento oportunista dessa abelha.

Na área de cerradão, segundo dados de Reys *et al.* (no prelo), foram identificadas 120 espécies para o estrato arbustivo-arbóreo. Destas, 16 espécies

compuseram 56% dos 2738 indivíduos amostrados. As espécies mais frequentes foram *Bauhinia rufa* Steudel 1840 (Caesalpinaceae) e *Xylopia aromatica* Baillon 1868 (Annonaceae), com 6% dos indivíduos cada. A espécie mais utilizada para nidificação, *Anadenanthera falcata*, foi a sétima mais abundante da área amostrada por Reys *et al.* (op. cit.), correspondendo a 3% do total de indivíduos. *Caryocar brasiliense* Cambessèdes 1828 (Caryocaceae), que correspondeu a apenas cinco indivíduos na amostragem de Reys *et al.* (op. cit), abrigou duas das 12 colônias encontradas nesse estudo. Essa foi a principal árvore utilizada para nidificação por *Melipona quadrifasciata*, em uma área de cerrado mineiro estudada por Antonini & Martins (2003).

No campo cerrado, foi amostrado apenas um indivíduo de *C. brasiliense*, enquanto que no campo sujo ela não foi amostrada. A espécie foi observada com frequência nas fitofisionomias campestres, em floração, atingindo apenas um porte subarborescente, não formando troncos e, por consequência, não formando cavidades. Rego *et al.* (2008) verificaram que, em uma área de cerrado no Maranhão, as principais espécies utilizadas pelos meliponíneos para nidificação foram *Pterodon* Voegel 1837 aff. *polygaeflorus* (Fabaceae) e *C. brasiliense*, correspondendo a 21% e 20% dos ninhos localizados. Na área da EEI, não foram encontrados indivíduos dessa espécie, nem do mesmo gênero. No IAB, também não foi encontrada essa espécie de Fabaceae, mas foram amostrados 18 indivíduos de uma espécie do mesmo gênero (*P. pubescens*), que corresponderam a 0,8% da amostra.

Tamanho das abelhas das espécies encontradas *versus* porte da vegetação

Contrariamente ao esperado, não foram encontradas espécies de abelhas grandes na área do cerradão, apesar do porte maior da vegetação. Isso pode ser reflexo da

possível sub-amostragem, mas pode também estar relacionado à pequena proporção de árvores de espécies habitualmente utilizadas para nidificação, como discutido acima. Nas fitofisionomias campestres, esperávamos encontrar ninhos de espécies de abelhas de pequeno porte, como *Plebeia* e *Tetragonisca*, por exemplo. No entanto, praticamente só foram encontrados ninhos de *T. spinipes*, apesar da baixa taxa de ocupação de sítios disponíveis.

No caso da EEI, o pequeno número de espécies encontrado pode estar relacionado também ao histórico de ocupação do solo. Segundo Delgado *et al.* (2004), a EEI foi criada em 1984, um período inferior a 30 anos. Até então, a área era ocupada por pastagens sujeitas a queimadas anuais e, só depois da criação da EEI, a área passou a ser protegida do fogo. Além disso, a área é um dos últimos remanescentes de formações campestres de cerrado do estado de São Paulo. Talvez existisse um maior número de espécies na região antes da ocupação antrópica do solo da EEI, mas a destruição da vegetação nativa e as queimadas constantes podem ter eliminado os ninhos de meliponíneos existentes. O período de 26 anos de proteção da área contra incêndios pode não ser suficiente para o repovoamento por meliponíneos, a não ser por *T. spinipes*, que ocupa ambientes antropizados.

O histórico de queimadas poderia explicar também a ausência de espécies de Meliponini que nidificam no solo, como *Geotrigona*, que também esperávamos encontrar nas fitofisionomias campestres. Durante o trabalho de campo, encontramos no solo apenas um agregado em construção de ninhos de uma espécie de abelha solitária (Centridini, Antophoridae), que cavava o substrato arenoso. Fêmeas de abelhas solitárias em geral constroem e aprovisionam seus ninhos sozinhas e suas crias deixam o ninho depois de adultas (Michener, 2000). Uma queimada que ocorresse no período entre a emersão dos adultos e a fundação dos novos ninhos não afetaria a nidificação

dessas abelhas. Ninhos de Meliponini, por sua vez, apresentam alta longevidade (Roubik, 2006). Em uma situação de queimada, não haveria como as espécies que nidificam no solo escapar do fogo, o que levaria à mortalidade das colônias e, assim, à extinção local dessas espécies.

Além disso, outros estudos na região apontam para uma pequena riqueza de espécies de meliponíneos. M. Vianna (com. pess.) realizou coletas sistemáticas de visitantes florais em parcelas de campo sujo e campo cerrado, e a única espécie de meliponíneo coletada foi *T. spinipes*. D'Ávila & Marchini (2008) também realizaram coletas sistemáticas de himenópteros visitantes florais, em uma área de cerradão, pertencente à Estação Experimental de Itirapina, anexa à EEI e, além de *T. spinipes*, só encontraram mais uma espécie de meliponíneo (*Scaptotrigona* sp.), que não foi amostrada neste trabalho. Outra causa desse pequeno número de espécies, além do histórico de ocupação do solo da EEI, pode ser a antropização do entorno da EEI e do IAB. Há forte presença de monoculturas de eucalipto e cana de açúcar, na região, além de construções e alguns pequenos fragmentos de cerrado abandonados.

Essa antropização do entorno das áreas estudadas pode estar relacionada também à ausência de espécies Meliponini de grande porte, que esperávamos encontrar no cerradão. A área de forrageamento utilizada pelos Meliponini é proporcional ao tamanho do seu corpo (Nieuwstadt & Iraheta, 1996; Araújo *et al.* 2004; Greenleaf *et al.*, 2007). O raio de forrageamento de *Melipona quadrifasciata*, por exemplo, foi estimado em 2 km (Araújo *et al.*, 2004). A área utilizada para forrageamento por uma colônia dessa espécie seria equivalente a 1.256 ha, muito superior aos 266 ha de área do IAB. Para que o fragmento sustentasse uma população de colônias dessa espécie, seria necessário que o seu entorno fornecesse plantas floridas em quantidade suficiente para sustentar as colônias, o que não ocorre com plantações de cana-de-açúcar. Dessa forma,

embora a quantidade de árvores de grande porte tenha sido maior no cerradão do que nas demais fitofisionomias, o tamanho da área do IAB e as características do entorno podem ter favorecido a ocorrência de espécies de Meliponini de tamanho corporal pequeno.

Densidade de ninhos *versus* densidade de sítios disponíveis

A pequena área do fragmento do IAB e as características do seu entorno podem ter contribuído também para a baixa taxa de ocupação dos sítios disponíveis. Contrariamente ao esperado, o cerradão não apresentou o maior valor de densidade deste estudo, ficando próximo ao obtido para o campo cerrado (0,67 e 0,73, respectivamente). O valor encontrado pode ser um reflexo da baixa taxa de ocupação dos sítios disponíveis. Embora a quantidade de árvores de grande porte tenha sido a maior das três fitofisionomias estudadas, a taxa de ocupação foi inferior a 1%. Essa baixa taxa de ocupação poderia refletir uma baixa taxa de reprodução das colônias que, por sua vez, poderia indicar uma limitação de recursos alimentares.

Um indício dessa limitação de recursos foi a localização da maioria dos ninhos encontrados neste estudo, na borda sul do fragmento, próximo a jardins artificiais, que poderiam fornecer um maior aporte de alimento que a borda norte, rodeada de plantações de cana-de-açúcar. A maioria dos ninhos encontrados em cavidades no IAB pertencia à *T. angustula* e *P. droryana*, espécies comuns no estado de São Paulo, capazes de nidificar em ambientes antropizados, e que foram encontradas forrageando fora das áreas de preservação. Além disso, embora a quantidade de plantas floridas no cerradão tenha sido semelhante ao campo cerrado, o número de flores só foi semelhante na estação seca de 2009, tendo sido bastante inferior nos demais períodos (Tabela III). Assim, é possível que a densidade de ninhos no cerradão tenha sido influenciada mais

pela baixa disponibilidade de alimento do que pela disponibilidade de sítios de nidificação. A relação entre a densidade de ninhos e a disponibilidade de alimentos foi demonstrada em outros estudos, como o de Eltz *et al.* (2002).

Quanto às fitofisionomias campestres, a densidade de ninhos encontrada neste estudo (0,56 ninhos/ha para o campo sujo e 0,73 ninhos/ha para o campo cerrado) foi muito inferior ao encontrado em outro levantamento realizado em fitofisionomia campestre por Teixeira & Viana (2005). Os autores encontraram 87 ninhos em 5,06 ha de área em vegetação de duna, sendo que a maioria dos ninhos estava em uma única espécie arbórea, que apresentava mais de um ninho em alguns casos. A maioria dos ninhos encontrada pelos autores pertencia a uma única espécie de Meliponini, *Frieseomelitta silvestrii languida*, uma espécie de pequeno porte (Oliveira, 2003), não encontrada neste estudo. Além disso, os autores encontraram vários ninhos em uma mesma árvore, o que explica a alta densidade. Aqui, a densidade encontrada deveu-se às colônias de *T. spinipes* no campo sujo e no campo cerrado, que independem de cavidades para nidificar. Por independem de cavidades, esperaríamos encontrar uma densidade maior de ninhos dessa espécie nas fitofisionomias campestres. No entanto, diferentemente do estudo de Teixeira & Viana (2005), não foi encontrado mais de um ninho em um mesmo sítio. A densidade de ninhos de *T. spinipes*, no entanto, foi maior do que a encontrada por Henriques (1997) em uma área de cerrado de Brasília (0,2-0,3), provavelmente devido à diferença no esforço amostral, que no estudo de Henriques (1997) foi de 1,5 ha.

Distribuição espacial *versus* fitofisionomia

A distribuição espacial dos ninhos de Meliponini em uma região pode ser agregada, uniforme ou aleatória. A distribuição agregada pode ocorrer se a capacidade

de dispersão da espécie for baixa e o número de cavidades disponíveis for pequeno, como observado por Teixeira & Viana (2005) para *F. s. languida*. Ou, ainda, quando características comportamentais levam os indivíduos a formar agregações (Johnson & Hubbell, 1974). A distribuição uniforme ocorre geralmente em espécies agressivas, que tendem a espaçar suas colônias, evitando a competição intraespecífica (Hubbell & Johnson, 1977). A distribuição aleatória pode ocorrer na ausência de competição, ou porque a disponibilidade de sítios não é um fator limitante (Johnson & Hubbell, 1974), ou porque a taxa de reprodução das colônias é baixa. Mas, como os sítios de nidificação, em geral, são cavidades em árvores, mesmo que a fundação das colônias seja ao acaso, a distribuição espacial do conjunto pode resultar em agregada ou uniforme, dependendo do padrão de distribuição espacial das árvores da região.

Neste estudo, esperávamos encontrar inicialmente um padrão agregado de colônias nas fitofisionomias campestres, seguindo a distribuição espacial da vegetação de cerrado (Duringan, 2002; Tartaglia, 2004), já que há menos árvores disponíveis nessas fitofisionomias do que no cerradão. Dada a abundância de colônias de *T. spinipes* encontradas no campo cerrado e no cerradão, esperávamos uma distribuição espacial uniforme, devido às características de agressividade e competitividade dessa espécie (Hubbell & Johnson, 1977). No entanto, encontramos uma distribuição aleatória dessas colônias no campo sujo e agregada no campo cerrado, o que poderia indicar uma baixa taxa de reprodução, de forma que a quantidade de sítios disponíveis seria maior que a capacidade da espécie em ocupá-los. Dado, ainda, que os ninhos de *T. spinipes* são aéreos e independem de cavidades (Almeida & Laroca, 1988), é possível que não haja competição por sítios de nidificação, levando a uma distribuição não-uniforme das colônias.

No cerradão, a distribuição seguiu a distribuição aleatória esperada, devido à maior disponibilidade de sítios de nidificação. No entanto, o sorteio das áreas para o cálculo da distribuição pela equalização do tamanho amostral demonstrou que o esforço amostral pode interferir no padrão calculado. Assim, são necessárias mais amostragens no cerradão para se confirmar a distribuição aleatória.

Disponibilidade e distribuição de alimento *versus* favorecimento de espécies agressivas

A distribuição das colônias e a composição de espécies de meliponíneos também podem estar relacionadas à disponibilidade de alimentos na área estudada. No caso das fitofisionomias campestres, o número de flores foi superior ao encontrado no cerradão (Tabela IV), indicando uma disponibilidade maior de recursos florais, principalmente no campo sujo, em que o número de plantas floridas foi superior às demais fitofisionomias. Assim, embora o campo sujo ofereça menos sítios disponíveis para nidificação, a conservação desse tipo de fitofisionomia pode ser importante para os Meliponini pelo aporte de recursos florais que oferece.

A maior quantidade de flores nas fitofisionomias campestres pode se dever à sazonalidade observada na floração dos diferentes estratos da vegetação de cerrado. Tannus *et al.* (2006), por exemplo, observaram a presença de plantas floridas na vegetação de campo sujo da EEI durante todo o ano, sem correlação com as variáveis ambientais. No estudo, os autores perceberam uma maior proporção de plantas floridas do estrato arbustivo-arbóreo no final da estação seca e início da chuvosa, com picos em agosto e outubro. Para o estrato herbáceo-subarbustivo, observaram picos no início e final da estação chuvosa e correlação positiva com a temperatura.

Pirani *et al.* (2009) observaram que, em uma área de cerrado do Mato Grosso, as plantas do estrato arbóreo floresciam principalmente na estação seca. Os dados de floração observados neste estudo estão de acordo com o observado por Tannus *et al.* (2006), Pirani *et al.* (2009) e por outros, como Batalha & Mantovani (2000) e Lenza & Klink (2006). Segundo eles, no período chuvoso, a floração se dá principalmente no estrato herbáceo, enquanto no período seco, a floração se dá no estrato arbustivo-arbóreo, embora o estrato herbáceo também apresente floradas. No campo sujo e no campo cerrado, o estrato predominante é o herbáceo, mas há também representantes arbustivos e arbóreos, o que explicaria a maior proporção de plantas floridas nessas fisionomias. No cerradão, por outro lado, o predomínio é do estrato arbóreo, o que explicaria a maior proporção de plantas floridas no período seco para esta fisionomia.

Embora a quantidade de flores tenha sido abundante nas fitofisionomias campestres, encontramos sempre poucos indivíduos floridos nos transectos, com floradas maciças. Essa floração concentrada em poucos indivíduos e o padrão de distribuição agregado da vegetação de cerrado (Duringan, 2002; Tartaglia, 2004) indicam que os recursos florais estão distribuídos em manchas conspícuas.

Esse padrão de distribuição dos recursos em manchas favorece espécies de Meliponini capazes de monopolizar recursos (Johnson, 1981). Isso porque essas espécies poderiam apresentar vantagem competitiva sobre espécies menos agressivas, pois, ao deparar com uma das manchas de recurso, excluiriam dele outras abelhas. Estudos indicam que *T. spinipes* é uma espécie capaz de expulsar indivíduos de outras espécies e mesmo coespecíficos de colônias diferentes, monopolizando o recurso onde se encontra (Nieh *et al.*, 2004; 2005). Em um habitat onde os recursos estão distribuídos em manchas, como na área estudada, a abundância de colônias de *T. spinipes* poderia ser um fator relevante para a exclusão de outros meliponíneos da região.

Conclusões

A amostragem proporcional pode não ser a melhor saída para a padronização do tamanho da área, já que a fitofisionomia de menor área (cerradão) foi a que apresentou a maior diversidade, sem estabilização da curva de rarefação. Sugerimos que a amostragem de estudos em fitofisionomias florestais seja maior do que os 18 ha deste estudo, para uma avaliação mais adequada da abundância e diversidade dos ninhos.

Quanto às questões levantadas:

1) A diversidade (riqueza e abundância relativa) de espécies de meliponíneos acompanha o aumento da disponibilidade de sítios de nidificação do campo sujo ao cerradão?

Sim. A riqueza e diversidade de espécies de meliponíneos estiveram relacionadas positivamente ao aumento da disponibilidade de sítios de nidificação do campo sujo ao cerradão, conforme esperado;

2) Em caso positivo, a composição florística das fisionomias contribui para esse aumento?

Não. A composição florística não esteve relacionada a um aumento de riqueza e diversidade. Primeiro, porque as espécies de árvores mais abundantes no cerradão não foram as mais utilizadas pelos meliponíneos, e espécies frequentemente citadas como importantes para a nidificação dos meliponíneos foram raras nas fitofisionomias estudadas.

3) As fisionomias campestres apresentam colônias de espécies de pequeno porte, capazes de ocupar pequenas cavidades, enquanto o cerradão apresenta colônias de espécies de maior porte?

Não. Nas fitofisionomias campestres, não foram verificadas colônias de espécies de abelhas de pequeno porte, mas uma grande abundância de colônias de *T. spinipes*, que

constrói ninhos externos. O cerradão não apresentou colônias de espécies de abelhas de maior porte, apesar do maior porte da vegetação, embora possa ser reflexo de uma possível sub-amostragem.

4) A densidade de ninhos é maior no cerradão, devido à maior disponibilidade de sítios? Não. O campo cerrado apresentou o maior valor de densidade de ninhos. Nas fitofisionomias campestres, esses valores foram influenciados pela alta abundância de ninhos de *T. spinipes*, espécie oportunista e de comportamento bastante plástico. No cerradão, os baixos valores de densidade de ninhos podem ter sido causados mais pela disponibilidade de alimentos e pelo tamanho do fragmento do que pela disponibilidade de sítios de nidificação, ainda que a possível sub-amostragem do cerradão possa ter influenciado os resultados.

5) A distribuição espacial das colônias apresenta um padrão agregado nas fisionomias campestres e aleatório no cerradão?

A distribuição espacial das colônias apresentou um padrão agregado apenas no campo cerrado, acompanhando a distribuição da vegetação. No campo sujo e no cerradão, o padrão foi aleatório.

6) A disponibilidade de flores nas diferentes fitofisionomias favorece a ocorrência de espécies agressivas ou não agressivas? A composição de espécies segue o padrão esperado pela disponibilidade de flores?

Sim. A disponibilidade de flores nas diferentes fitofisionomias favorece a ocorrência de espécies agressivas. A quantidade e a distribuição do alimento no campo podem ter influenciado a composição de espécies de meliponíneos, favorecendo *T. spinipes* pelo seu comportamento agonístico na defesa de recursos alimentares. Porém, a distribuição não uniforme dos ninhos de *T. spinipes* não pôde ser explicada pela disponibilidade de

alimento no campo cerrado. O tamanho da área de forrageamento e a disponibilidade de sítios de nidificação para essa espécie talvez expliquem melhor essa distribuição.

Referências Bibliográficas

- ALMEIDA, M. C. & LAROCA, S., 1988. *Trigona spinipes* (Apidae, Meliponinae): taxonomia, bionomia e relações tróficas em áreas restritas. *Acta Biologica Paranaense* **17**(1, 2, 3, 4): 67-108.
- ALMEIDA-ANACLETO, D. & MARCHINI, L. C., 2005. Análise faunística de abelhas (Hymenoptera, Apoidea) coletadas no cerrado do Estado de São Paulo. *Acta Scientiarum. Biological Sciences (Online)* **27**: 277-284.
- ANDENA, S. R., BEGO, L. R. & MECCHI, M. R., 2009. A comunidade de abelhas (Himenoptera, Apoidea) de uma área de cerrado (Corumbataí, SP) e suas visitas às flores. *Revista Brasileira de Zoociências* **7**(1): 55-91.
- ANTONINI, Y. & MARTINS, R. P., 2003. The values of a tree species (*Caryocar brasiliense*) for a stingless bee *Melipona quadrifasciata quadrifasciata*. *Journal of Insect Conservation* **7**: 167-174.
- ARAÚJO, E. D.; COSTA, M.; CHAUD-NETTO, J. & FOWLER, H. G., 2004. Body size and flight distance in stingless bees (Hymenoptera, Meliponini): inference of flight range and possible ecological implications. *Brazilian Journal of Biology* **64**(3B): 563-568.
- BATALHA, M. A. & MANTOVANI, W., 2000. Reproductive phenological patterns of Cerrado plant species at the Pé-de-Gigante reserve (Santa Rita do Passa Quatro, Sp, Brasil): a comparison between the herbaceous and woody floras. *Revista Brasileira de Biologia* **60**(1): 129-145.
- BIESMEIJER, J. C.; SLAA, E. J.; DE CASTRO, M. S.; VIANA, B. F.; KLEINERT, A. M. P. & IMPERATRIZ-FONSECA, V. L., 2005. Connectance of Brazilian social bee – food plant networks is influenced by habitat, but not by latitude, altitude or network size. *Biota Neotropica* **5**(1): 1-9.
- COLWELL, R. K. 2009. EstimateS: Statistical estimation of species richness and shared species from samples. Version 8.2. User's Guide and application published at: <http://purl.oclc.org/estimates>.
- D'ÁVILA, M. & MARCHINI, L. C., 2008. Análise faunística de himenópteros visitantes florais em fragmento de cerradão em Itirapina, SP. *Ciência Florestal* **18** (2): 271-279.
- DAVIS, P. M. 1994. Statistics for describing populations. p. 33-54. In L. P. Pedigo and G. D. Buntin (eds.), *Handbook of sampling methods for arthropods in agriculture*, CRC Press, Boca Raton, FL.

- DELGADO, J. M., BARBOSA, A. F., SILVA, C. E., ZANCHETA, D., GIANNOTTI, E., PINHEIRO, G. S., DUTRA-LUTGENS, H., FACHIN, H. C., MOTA, I. S., LOBO, M., NEGREIROS, O. C. & ANDRADE, W. J., 2004. Plano de manejo integrado das Unidades de Conservação de Itirapina, SP. Instituto Florestal de São Paulo.
- DURIGAN, G.; NISHIKAWA, D. L. L.; ROCHA, E.; SILVEIRA, E. R.; PULITANO, F. L.; REGALADO, L. B.; CARVALHAES, M. A.; PARANAGUÁ, P. E. & RANIERI, V. E. L., 2002. Caracterização de dois estratos da vegetação em uma área de cerrado no município de Brotas, SP, Brasil. *Acta Botanica Brasilica* **16**(3): 251-262.
- DURIGAN, G., BAITELLO, J. B., FRANCO, G. A. D. H. & SIQUEIRA, M. F., 2004. Plantas do Cerrado Paulista: imagens de uma paisagem ameaçada. Instituto Florestal, Secretaria do Meio Ambiente. Páginas & Letras Editora e Gráfica, São Paulo, 475p.
- EITEN, G., 1972. The cerrado vegetation of Brazil. *Botanical Review* **38**: 201-341.
- EITEN, G., 1982. Brazilian "savannas". In: Huntley, B. J. e Walker, B. H. (eds.). Ecology of tropical savannas. Springer Verlag, Berlim. P. 24-47.
- ELTZ, T.; BRÜHL, C. A.; IMIYABIR, Z. & LINSSENMAIR, K. E., 2003. Nesting and nest trees of stingless bees (Apidae: Meliponini) in lowland dipterocarp forests in Sabah, Malaysia, with implications for forest management. *Forest Ecology and Management* **172**: 301-313.
- FREITAS, G. S.; ASSIS, A. F.; SOUZA, C. C. M.; SOUSA, J. & SOARES, A. E. E., 2009. O doce lar das baelhas indígenas sem ferrão. Revista Mensagem Doce Online, nº100, artigo 03. URL <http://www.apacame.org.br/mensagemdoce/100/artigo3.htm>
- GREEN, R. H., 1966. Measurement of non-randomness in spatial distributions. *Researches on Population Ecology* **VIII**: 1-7.
- GREENLEAF, S. S.; WILLIAMS, N. M.; WINFREE, R. & KREMEN, C., 2007. Bee foraging ranges and their relationship to body size. *Oecology* **153**:589–596
- HAMMER, Ø.; HARPER, D. A. T. & RYAN, P. D., 2001. PAST: Paleontological Statistics software package for education and data analysis. *Paleontologia Electronica* **4**(1): 9pp.
- HENRIQUES, R. P. B., 1997. Nest density of *Trigona spinipes* (Hymenoptera Apidae) in cerrado vegetation of central Brazil. *Revista de Biologia Tropical* **45**: 700-701.
- HUBBELL, S. P. & JOHNSON, L. K., 1977. Competition and nest spacing in a tropical stingless bee community. *Ecology* **58**(5): 949-963.
- JOHNSON, L. K., 1981. Flower clumping on defense of artificial flowers by aggressive stingless bees. *Biotropica* **13**(2): 151-157.

- JOHNSON, L.K. & HUBBELL, S.P., 1974. Aggression and competition among stingless bees: field studies. *Ecology* **55**: 120–127.
- KERR, W. E., 1971. Contribuição à ecogenética de algumas espécies de abelhas. *Ciência e Cultura* **23 (suppl)**: 89-90.
- LENZA, E. & KLINK, C. A., 2006. Comportamento fenológico de espécies lenhosas em um cerrado sentido restrito de Brasília, DF. *Revista Brasileira de Botânica* **29(4)**: 627-638.
- LUDWIG, J. A. & REYNOLDS, J. F., 1988. Statistical ecology – a primer on methods and computing. New York. John Wiley & Sons, 337p.
- MARTINS, C. F.; CORTOPASSI-LAURINO, M.; KOEDAM, D. & IMPERATRIZ-FONSECA, V. L., 2004. Tree species used for nidification by stingless bees in the Brazilian caatinga (Seridó, PB; João Câmara, RN). *Biota Neotropica* **4(2)**: 1-8.
- MICHENER, C. D., 1979. Biogeography of bees. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **66(3)**: 227-347.
- MICHENER, C. D., 2000. The bees of the World. Johns Hopkins University Press, Baltimore.
- NIEH, J. C., BARRETO, L. S., CONTRERA, F. A. L. & IMPERATRIZ-FONSECA, V. L., 2004. Olfactory eavesdropping by a competitively foraging *Trigona spinipes* stingless bee. *Proceedings of The Royal Society of London* **271**: 1633-1640.
- NIEH, J. C., KRUIZINGA, K., BARRETO, L. S., CONTRERA, F. A. L. & IMPERATRIZ-FONSECA, V. L., 2005. Effect of group size on the aggression strategy of an extirpating stingless bee, *Trigona spinipes*. *Insects Socieaux* **52**: 147-154.
- NIEUWSTADT, M. G. L. van & IRAHETA, C. E. R., 1996. Relation between size and foraging range in stingless bees (Apidae, Meliponinae). *Apidologie* **27**: 219-228.
- NOGUEIRA-FERREIRA, F. H. & SIQUEIRA, E. N. L., 2008. Mapeamento e monitoramento de ninhos de abelhas sem ferrão no triângulo mineiro. Boletim SOS Abelhas Nativas 9 (ano I): URL: http://www.apisguia.com.br/?pagina=informativo_ver&id=72.
- OLIVEIRA, F. F., 2003. Notas sobre os tipos de algumas espécies do gênero *Frieseomelitta* Ihering (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae) descritas por Friese. In G. A. R. Melo & Alves dos Santos, I. Apoidea Neotropica: Homenagem aos 90 anos de Jesus Santiago Moure. Editora UNESC, Criciúma, SC.
- PEREIRA, U. C. R., 2004. Ninhos de Meliponinae (Hymenoptera, Apidae) do Parque Municipal do Bacaba, Nova Xavantina – MT. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade do Estado do Mato Grosso.

- PIRANI, F. R.; SANCHEZ, M. & PEDRONI, F., 2009. Fenologia de uma comunidade arbórea em cerrado sentido restrito, Barra do Garças, MT, Brasil. *Acta Botanica Brasilica* **23**(4): 1096-1109.
- REGO, M. M. C., 1998. Abelhas silvestres (Hym. Apoidea) em um ecossistema de cerrado s. l. (Chapadinha - MA, Brasil): uma abordagem biocenótica. Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo. Tese de doutorado.
- REGO, M. M. C.; ALBUQUERQUE, P. M. C. DE & VENTURIERI, G., 2008. Biodiversidade de abelhas sem ferrão (Meliponini) no cerrado de Balsas (Sul do Maranhão, Brasil) e seu manejo como alternativa de sustentabilidade e conservação. *IX Simpósio Nacional sobre o Cerrado: Desafios e estratégias para o equilíbrio entre sociedade, agronegócio e recursos naturais*: 1-6.
- REYS, P.; CAMARGO, M.G.G.; TEIXEIRA, A.P.; ASSIS, M.A & MORELLATO, L.P.C. no prelo. Variações estruturais em vegetação de cerrado *sensu stricto* no sudeste do Brasil. *Acta Botanica Brasilica*.
- ROUBIK, D., 2006. Stingless bee nesting biology. *Apidologie* **37**: 124-143
- SAMEJIMA, H.; MARZUKI, M.; NAGAMITSU, T. & NAKASIZUKA, T., 2004. The effects of human disturbance on a stingless bee community in a tropical rainforest. *Biological Conservation* **120**: 577-587.
- SERRA, B. D. V.; DRUMMOND, M. S.; LACERDA, L. M. & AKATSU, I. P., 2009. Abundância, distribuição espacial de ninhos de abelhas Meliponina (Hymenoptera, Apidae, Apini) e espécies vegetais utilizadas para nidificação em áreas de cerrado do Maranhão. *Iheringia, Série Zoológica* **99**(1): 12-17.
- SILBERBAUER-GOTTSBERGER, I. & GOTTSBERGER, G., 1988. A polinização das plantas do Cerrado. *Revista Brasileira de Biologia* **48**: 651-663.
- SIQUEIRA, E. L.; MARTINES, R. B. & NOGUEIRA-FERREIRA, F. H., 2007. Ninhos de abelhas sem ferrão (Hymenoptera, Meliponina) em uma região do Rio Araguari, Araguari, MG. *Bioscience Journal* **23**(supp.1): 38-44.
- TANNUS, J. L. S., ASSIS, M. A. & MORELLATO, L. P. C., 2006. Fenologia reprodutiva de campo sujo e campo úmido numa área de cerrado no sudeste do Brasil, Itirapina, SP. *Biota Neotropica* **6**(3): 1-27.
- TARTAGLIA, D., 2004. Florística e fitossociologia das espécies lenhosas no cerrado da Fazenda Chanchim (São Carlos, SP). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de São Carlos.
- TEIXEIRA, A. F. R. & VIANA, B. F., 2005. Distribuição e densidade dos sítios nidificados pelos meliponíneos do médio São Francisco, Ibiraba, Barra, Bahia. *Revista Nordestina de Zoologia* **2**(1): 5-20.

Capítulo 2 - . Influência da antropização de remanescentes de cerrado sobre a densidade e diversidade de ninhos de Meliponini (Apoidea: Apidae)

Capítulo 2. Influência da antropização de remanescentes de cerrado sobre a densidade e diversidade de ninhos de Meliponini (Apoidea: Apidae)

RESUMO:

Os meliponíneos compõem a maior biomassa dos polinizadores no cerrado. Eles constroem seus ninhos em diferentes tipos de cavidades, sejam naturais ou artificiais. Por outro lado, a redução de habitat pode provocar o isolamento de populações nos remanescentes de vegetação nativa, se a área ao redor deles não oferecer cavidades disponíveis suficientes. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da redução das áreas de cerrado sobre os ninhos de meliponíneos em geral e, particularmente, sobre os do gênero *Melipona*. O levantamento dos ninhos de meliponíneos em Itirapina e mais 31 levantamentos de ninhos foram mapeados em imagens do satélite Landsat. A proporção de áreas naturais, perturbadas, rurais e construídas foi avaliada a partir de seu mapeamento em áreas concêntricas de 1 km, 3 km e 5 km de raio a partir do ponto amostral de cada trabalho. O porte da vegetação e o tamanho da área amostrada foram levados em conta também. Essas variáveis ambientais foram correlacionadas à diversidade, densidade de ninhos e ao primeiro componente de ordenação de espécies de meliponíneos, em geral, e de ninhos de *Melipona*. A perda de vegetação natural apresentou algum efeito sobre a ocorrência e densidade de ninhos de meliponíneos em geral. No entanto, é possível que as árvores remanescentes nas áreas rurais e construídas possam oferecer conectividade funcional às abelhas de espécies mais comuns e comportamento mais plástico. Por sua vez, a substituição das áreas naturais por áreas construídas parece ser ter maior efeito deletério sobre as populações de ninhos de *Melipona*. Além disso, as árvores remanescentes em áreas rurais podem abrigar ninhos de *Melipona* a curto prazo, mas podem não ser suficientes à manutenção da variabilidade genética a longo prazo. A concentração de levantamentos no estado do Maranhão, com pequenas áreas amostrais, a ausência de levantamentos nos estados de Goiás e Tocantins e a carência de artigos sobre levantamento de ninhos foram os principais vieses deste estudo.

Palavras-chave: meliponíneos, fragmentação, cerrado, antropização, conservação

Chapter 2. Influence of antropization of cerrado remnants on the density and diversity of Meliponini nests (Apoidea: Apidae)

ABSTRACT:

Meliponini bees are the most numerous cerrado pollinators. They build their nests in several types of cavities, natural or artificial ones. On the other hand, habitat reduction may lead to isolation of populations in remnants of native vegetation if there are no available nest cavities around them. The aim of this study was to evaluate the effect of reducing the cerrado areas on Meliponini nests in general, and particularly on the genus *Melipona*. The survey of stingless bees nests in Itirapina and of more 31 nests surveys were mapped on Landsat images. The proportion of natural, disturbed, rural and built areas was assessed based on its mapping in concentric areas of 1 km, 3 km and 5 km radius from the sampling point of each survey. The size of the vegetation and the size of the sampled area were taken into account as well. These environmental variables were correlated to diversity, nests density and to the PCA first component of all stingless bees species and of *Melipona* nests. The loss of natural vegetation had an effect on the occurrence and density of stingless bees nests in general. However, it is possible that the remaining trees in rural and built areas may provide functional connectivity to the most common bees with more plastic behavior. In turn, replacement of natural areas with built ones seems to have greater deleterious effect on *Melipona* nest populations. Moreover, the remaining trees in rural areas may harbor *Melipona* nests in the short-term, but may not be sufficient to maintain genetic variability in the long-term. The concentration of surveys in Maranhão state, with small sampling areas, the lack of nest surveys in the states of Goiás and Tocantins, and the lack of articles on nest surveys are the major bias of this study.

Key-words: stingless bees, fragmentation, cerrado, antropization, conservation

Introdução

A atividade humana vem provocando profundas mudanças nas paisagens naturais. Em muitas partes do globo, o ambiente antropizado suplantou a vegetação nativa, restringindo-a a remanescentes envolvidos pela paisagem humana (Ellis & Ramankutty, 2008). Essa redução da paisagem nativa é vista como fragmentação, que reduz o habitat de animais dependentes dessas paisagens a fragmentos imersos em uma matriz potencialmente intransponível, em geral antropizada, levando a um isolamento das populações e a uma consequente perda de espécies (e.g. d'Eon *et al.*, 2002).

O cerrado é um dos biomas brasileiros que vêm sofrendo intensa pressão antrópica, seja por conta da expansão da fronteira agrícola, seja pela exploração imobiliária, nas imediações dos centros urbanos. Dados oficiais indicam que, somente entre 2002 e 2008, o cerrado perdeu mais de 85 mil km² da sua área original (CSR-IBAMA, 2009; 2010).

A substituição da vegetação nativa por cidades, pastagens ou monoculturas pode afetar os organismos de diferentes maneiras. Organismos de espécies incapazes de colonizar as cidades ou de atravessar grandes áreas agrícolas tenderão a ser mais afetados que aqueles mais generalistas, capazes de se estabelecerem ou de sobreviverem nos ambientes antropizados (Andersson, 2006). A sobrevivência ou não dos organismos na paisagem antropizada terá efeitos sobre a comunidade como um todo. Mudanças na estrutura populacional dos polinizadores, por exemplo, afetarão a reprodução das angiospermas, podendo comprometer a viabilidade dos remanescentes vegetais.

Dentre os polinizadores, as abelhas chegam a representar até 50% dos visitantes florais no Brasil (Biesmeijer *et al.*, 2005). Dentre elas, os Meliponini se destacam pela biomassa de visitantes florais, devido às suas colônias com numerosos indivíduos e à capacidade de recrutamento das operárias para os recursos (Michener, 1979). Os

meliponíneos são considerados por vários autores como generalistas, tanto em relação aos recursos florais, como em relação à escolha do seu substrato de nidificação. Seus ninhos são encontrados em cavidades formadas em diferentes substratos, tanto naturais como artificiais (e.g. Roubik, 1989; Taura & Laroca, 1991; Zanette *et al.*, 2005).

O efeito da antropização sobre as populações de meliponíneos ainda é controverso. Em alguns casos, a densidade de ninhos e a riqueza de espécies chegam a ser maior no ambiente urbano do que no natural (e.g. Pereira, 2004). A riqueza pode-se dever, em parte, à capacidade de adaptação de algumas espécies, frequentemente encontradas em ambientes urbanos, como *Tetragonisca angustula* e *Trigona spinipes*, e à oferta de recursos no ambiente urbano, como jardins. Já a densidade pode ser um reflexo da concentração dos ninhos nas cavidades disponíveis em edificações e árvores remanescentes e à pequena distância de enxameagem dos meliponíneos (Kerr, 1964).

De acordo com Zanette *et al.*, (2005), a antropização pode ter um efeito deletério para a maioria das espécies. Esse efeito negativo pode ser observado principalmente para abelhas do gênero *Melipona*, que necessitam de cavidades amplas para nidificar, geralmente disponíveis em árvores de grande porte (Antonini, 2002; Antonini & Martins, 2003). Espécies deste gênero constam da lista de espécies ameaçadas de extinção em vários estados brasileiros, como Minas Gerais (Machado *et al.*, 1998), Paraná (Mickish *et al.*, 2004), Rio Grande do Sul (Blochtein & Harter-Marques, 2003) e Espírito Santo (Machado *et al.*, 2008). Além disso, a degradação do habitat pode provocar efeitos deletérios nas populações de *Melipona* já em poucas décadas. Brown & Albrecht (2001), por exemplo, verificaram que um período entre 20 e 30 anos de alterações ambientais já foi suficiente para provocar efeitos na ocorrência e abundância de algumas espécies.

Poucos são ainda os estudos que se propõem a verificar os efeitos da antropização sobre a distribuição de ninhos de meliponíneos. A maioria dos estudos trata das abelhas como um todo e foca nos visitantes florais, comparando a fauna de ambientes mais ou menos antropizados dentro da mesma localidade (Laroca & Almeida, 1984; Anacleto & Marchini, 2005; Araujo *et al.*, 2006; Carvalho *et al.*, 2007; Santiago *et al.*, 2009). Mas levantamentos dos ninhos de meliponíneos são importantes para o dimensionamento de suas populações em uma determinada área. Uma análise faunística sobre as comunidades de meliponíneos através somente do levantamento de visitantes florais pode mascarar a situação real das populações por dois motivos: primeiro, a área de forrageamento dos meliponíneos varia conforme o tamanho das operárias, podendo ser de mais de 2 km a partir da colônia em algumas espécies, como *Melipona compressipes* (Araujo *et al.*, 2004), o que resulta em uma área de mais de 2.500 ha; segundo, a área amostrada nos levantamentos não costuma ser superior a 100 ha. Dessa forma, pode-se amostrar um visitante floral em uma área alterada que, na verdade, resida em uma área de fisionomia completamente diferente.

Por outro lado, as características reprodutivas dos meliponíneos restringem sua capacidade de expansão. Diferentemente do que é observado para os Apini, os Meliponini não são capazes de migrar suas colônias para uma nova cavidade, caso seu ninho sofra algum tipo de perturbação ou exposição (Roubik, 2006). Nos Meliponini, enxames são formados apenas para a reprodução da colônia, quando uma parte dela acompanha uma ou mais rainhas virgens para uma nova cavidade, pré-selecionada. Além disso, a interdependência inicial entre a colônia filha e a colônia mãe não permite sua fundação em distâncias muito grandes (Roubik, 2006). Em geral, ainda que os machos possam vir de locais mais distantes (Paxton, 2000; Cameron *et al.*, 2004; Kraus *et al.*, 2008), um enxame não ultrapassa 1 km da colônia mãe (Kerr, 1964).

Para se compreender o efeito da antropização sobre as populações de meliponíneos, portanto, deve-se levar em conta a estrutura da paisagem onde a comunidade está inserida, a localização dos seus ninhos nessa estrutura e a escala da paisagem que está sendo estudada. Para avaliar a influência da antropização do cerrado sobre os meliponíneos, realizamos o levantamento dos ninhos em duas áreas de cerrado paulista e avaliamos o grau de antropização da paisagem, comparando os resultados com outros levantamentos de ninhos nesse bioma. O objetivo deste trabalho foi investigar se a redução da proporção de áreas naturais e sua substituição por áreas rurais e construídas afetam negativamente a comunidade de meliponíneos como um todo e particularmente a abelhas do gênero *Melipona*. Para isso, procurou-se responder se com o aumento das proporções das áreas antropizadas e, conseqüentemente, com a redução das áreas naturais, haveria: 1) aumento na densidade de ninhos? 2) redução na riqueza de espécies e de gêneros? 3) redução na ocorrência e abundância de espécies do gênero *Melipona*? E, além disso, procuramos avaliar se: 4) existe relação entre a composição da comunidade de abelhas de uma área e a proporção de áreas naturais e não naturais? 5) o porte da vegetação e o tamanho da área amostrada influenciam a diversidade e composição de gêneros e espécies?

Materiais e métodos

Área de estudo e levantamento de ninhos

O estudo foi conduzido em fisionomias de campo sujo e campo cerrado da Estação Ecológica de Itirapina (EEI – 22°12'S 47°55'W) e no fragmento de cerradão do Instituto Arruda Botelho (IAB – 22°10'S 47°57'W). A região de Itirapina está dentro do domínio morfoclimático tipo Cwa, com inverno seco e verão chuvoso. A pluviosidade média anual é de 1501 mm e a temperatura, 22°C (Delgado *et al.*, 2004).

A EEI foi estabelecida como Unidade de Conservação em 1984 e abrange 2300 ha, compreendendo campo limpo, campo úmido, campo sujo, campo cerrado e porções menores de outras formações, como cerrado *sensu stricto* e matas de galeria (Delgado *et al.*, 2004). O IAB é um fragmento remanescente de cerradão de 266 ha.

Na EEI, foram distribuídas duas parcelas de cinco hectares e 46 transectos de 500 X 20 m, totalizando 56 ha, espalhados de forma a cobrir a maior superfície possível das fitofisionomias estudadas. No IAB, foram distribuídos uma parcela de cinco hectares e 13 transectos de 500 X 20 m, totalizando 18 ha, distribuídos de forma a cobrir a maior parte do fragmento.

Seleção dos levantamentos de ninhos para comparação

Para a escolha dos trabalhos estabeleceram-se os seguintes critérios: 1) ter sido realizado em área pertencente ao domínio morfoclimático do cerrado; 2) conter dados de levantamentos de ninhos de diferentes espécies de Meliponini; e 3) trazer coordenadas geográficas ou informações que permitissem a localização exata da área de estudo. Foram levantados inicialmente 33 trabalhos sobre levantamentos de ninhos ou levantamentos de abelhas no cerrado. Desses, dois eram estudos sobre impacto ambiental, duas teses, um trabalho de conclusão de curso e 28 artigos, dos quais dois de divulgação (Tabela I).

Dos 33 estudos, somente 13 exibiam dados de levantamentos de ninhos e, desses, apenas dez pertenciam ao bioma cerrado, incluindo os dois estudos de impacto ambiental (EIA). Cada EIA trazia dados de levantamentos de ninhos de várias localidades do estado do Maranhão. Quando as localidades estavam distantes até 500m entre si, sorteou-se uma e descartou-se a outra. Quando estavam a uma distância maior, foram consideradas separadamente. Dessa forma, apesar de haver 10 estudos

selecionados, os dados de levantamentos de ninhos de cada estudo e as localidades sorteadas dos EIAs totalizaram 31 pontos amostrais (Tabela II). Destes, 11 pertenciam ao sudoeste do Maranhão, 16 ao nordeste do Maranhão, dois ao Estado de São Paulo, dois ao Estado de Minas Gerais e um do Mato Grosso (Figura 1).

Tabela I. Listagem de estudos avaliados para a composição deste trabalho

Autores	Ano	Bioma Cerrado	Levantamento de ninhos	Selecionado
Aguiar & Martins	2003	X		
Alvarenga, P. E. F.	2008	X	X	X
Anacleto & Marchini	2005	X		
Andena <i>et al.</i>	2005	X		
Antonini & Martins	2003	X		
Araujo <i>et al.</i>	2006	X		
Batista <i>et al.</i>	2008		X	
Camargo & Mazucato	1984	X		
Carvalho <i>et al.</i>	2007	X		
Drummond	2010	X	X	X
Drummond (2)	2010	X	X	X
Faria-Mucci <i>et al.</i>	2003	X		
Freitas <i>et al.</i>	2009	X	X	X
Henriques	1997	X		
Laroca & Almeida	1994	X		
Lopes <i>et al.</i>	2010		X	
Martins	1994	X		
Moreti <i>et al.</i>	2006	X		
Neves & Viana	2007		X	
Nogueira-Ferreira & Augusto	2007	X		
Nogueira-Ferreira & Siqueira	2008	X	X	X
Pereira	2004	X	X	X
Rego <i>et al.</i>	1998	X	X	X
Rego <i>et al.</i>	2008	X	X	X
Ribeiro <i>et al.</i>	2009		X	
Santiago <i>et al.</i>	2009	X		
Santos <i>et al.</i>	2004	X		
Schlindwein	1998			
Serra <i>et al.</i>	2009	X	X	X
Silva <i>et al.</i>	2008		X	
Siqueira <i>et al.</i>	2007	X	X	X
Teixeira & Viana	2005		X	
Viana <i>et al.</i>	1997	X		

Tabela II. Localização dos levantamentos de ninhos utilizados. Landsat: órbita-ponto da imagem do satélite Landsat onde os levantamentos se localizam. Coordenadas em UTM – SAD69

Levantamento	Landsat	Longitude	Latitude	Estado	Referência
Araguari	221-073	155049	7923805	MG	Siqueira <i>et al.</i> , 2007
Arizona	221-065	346637	9223868	MA	Drummond, 2010
Bacaba	224-070	354877	8375344	MT	Pereira, 2004
Bacabinha	222-065	230705	9253082	MA	Drummond, 2010
Balsas	221-065	368933	9146931	MA	Rego <i>et al.</i> , 2008
Bom Lugar	222-064	239513	9415091	MA	Drummond, 2010
Buriti	219-063	712945	9494380	MA	Drummond (2), 2010
Cajueiro				MA	
Winnits	222-064	326864	9334741		Drummond, 2010
Carmo	219-063	713144	9537956	MA	Drummond (2), 2010
Castiça	219-064	698053	9392620	MA	Drummond (2), 2010
Chapadinha	220-063	666549	9548548	MA	Rego <i>et al.</i> , 1998
Cocalinho	220-064	676565	9377561	MA	Drummond (2), 2010
EEI	220-075	199103	7541617	SP	Este estudo
Extrema	222-065	276484	9169159	MA	Drummond, 2010
Faz. São Pedro	221-065	312959	9153858	MA	Drummond, 2010
Faz. Walter	222-065	236598	9205941	MA	Drummond, 2010
Feio	222-064	236312	9330425	MA	Drummond, 2010
Formosa	221-065	367645	9273900	MA	Drummond, 2010
Gleba Cajueiro	222-065	299478	9237677	MA	Drummond, 2010
IAB	220-075	203483	7545030	SP	Este estudo
Jatoba	220-064	585754	9357013	MA	Drummond (2), 2010
Macaco	220-064	576991	9334800	MA	Drummond (2), 2010
Normasa	220-064	668536	9380055	MA	Drummond (2), 2010
Panga	221-073	141662	7875233	MG	Nogueira-Ferreira & Siqueira, 2008
São Lourenço	219-064	710963	9426135	MA	Drummond (2), 2010
São Luizinho	220-064	582344	9404812	MA	Drummond (2), 2010
São Francisco	221-064	328443	9302114	MA	Drummond, 2010
Sipaubá	220-063	639155	9478107	MA	Drummond (2), 2010
Santa Teresa	220-075	204430	7650779	SP	Alvarenga, 2008
Tabocal	219-064	678591	9312946	MA	Drummond (2), 2010
Urbano Santos	220-062	677454	9645344	MA	Serra <i>et al.</i> , 2009
Urubu	219-064	712108	9418736	MA	Drummond (2), 2010
USP Ribeirão	220-075	203224	7657088	SP	Freitas <i>et al.</i> , 2009

Figura 1. Visão geral da localização dos levantamentos. Levantamentos: 1: EEI, IAB, Santa Teresa e USP Ribeirão; 2: Araguari e Panga; 3: Bacaba; 4: Arizona, Bacabinha, Balsas, Bom Lugar, Cajueiro Winnits, Extrema, Faz. São Pedro, Faz. Walter, Feio, Formosa, Gleba Cajueiro e São Francisco; 5: Arizona, Buriti, Carmo, Castiça, Cocalinho, Jatoba, Macaco, Normasa, São Lourenço, São Luizinho, Sipaubá, Tabocal, Urbano Santos e Urubu. A área laranja corresponde ao domínio morfoclimático do Cerrado. Mapa de biomas do IBGE convertido em kml pelo programa <http://isamapas.socioambiental.org:8399/arcgis/rest/services/Tematicos/MapServer/generateKml> e projetado sobre imagem de satélite do Google Earth®.

Caracterização da paisagem

As coordenadas de cada área foram localizadas sobre imagens do satélite LANDSAT georreferenciadas, obtidas através do site do IBAMA (<http://siscom.ibama.gov.br/monitorabiomas/cerrado/>). Foram desenhadas áreas concêntricas ao redor da área amostrada com 1 km, 3 km e 5 km de raio, utilizando-se a função *buffer* do programa ArcGis 9.2®. A faixa de 1 km foi escolhida com base na distância máxima de enxameagem dos meliponíneos (Kerr, 1964). A faixa de 3 km foi selecionada com base no raio máximo de forrageamento a partir do limite da maior área amostrada nos trabalhos selecionados (Araújo *et al.*, 2004). A de 5 km, por sua vez, foi escolhida para avaliar o efeito da paisagem como um todo.

As imagens foram classificadas de acordo com sua cobertura, desenhando-se polígonos sobre elas (Figura 2). Foram desenhados quatro tipos de polígonos: área construída, área natural (independentemente do porte da vegetação), área rural (correspondendo a desenhos regulares com predomínio de plantações ou solo exposto) e capoeiras (áreas devastadas, mas ainda com presença de árvores, diferentemente das áreas consideradas rurais, raramente apresentando árvores). Corpos d'água visíveis à resolução de 1:30000, utilizada na classificação, foram desenhados separadamente e sua área foi desconsiderada do total. As imagens duvidosas foram conferidas com base nas imagens do Google Earth®. A área dos polígonos foi calculada e as áreas dos polígonos de mesmo tipo foram somadas e transformadas em porcentagem, para a obtenção da proporção de cada área na paisagem. Foi realizada uma análise de componentes principais (PCA) para verificar a ordenação dos levantamentos de acordo com essas proporções para cada uma das escalas.

Figura 2. Exemplo da classificação de imagens a partir da imagem do satélite Landsat. A: imagem do Landsat. B: a mesma imagem, no Google Earth®. C: Imagem classificada, onde: verde: área natural; cinza: capoeira; amarelo: área rural; rosa: área construída; laranja: corpo d'água visível à escala de 1 : 30.000.

O porte da vegetação no ponto amostrado, de acordo com as informações dos levantamentos utilizados, foi classificado em uma escala de 1 a 5, sendo: 1- vegetação com predominância de campo, com poucas árvores isoladas; 2- vegetação de campo cerrado, com presença de arbustos e poucas árvores; 3- cerrado *sensu stricto*, com maior predominância de arbustos e árvores esparsas; 4- cerradão, vegetação de médio porte, predominantemente arbórea; e 5- mata de galeria. Trabalhos cuja vegetação era referida apenas como “cerrado”, sem maiores especificações, foram considerados como cerrado *sensu stricto*.

Análise dos dados

Devido à diferença no tamanho de área amostrada nos diferentes levantamentos, procurou-se padronizar os dados dos levantamentos. Para isso, a riqueza de espécies foi estimada como o número de espécies por hectare. Foi calculada ainda a diversidade de gêneros e espécies para cada ponto de estudo através do índice de Shannon-Weaver (Shannon & Weaver, 1949), além da densidade de ninhos e número de espécies de *Melipona* por área. A relação da densidade de ninhos, da riqueza de gêneros e de espécies e da diversidade com as variáveis ambientais e com o tamanho da área amostrada foi determinada através da correlação de Pearson. Para a relação com o porte da vegetação, foi utilizada correlação não-paramétrica de Spearman, por tratar-se de uma variável categórica. A relação entre a ocorrência de abelhas do gênero *Melipona* com as variáveis ambientais foi testada através de regressão logarítmica entre a presença ou ausência do gênero e as variáveis ambientais.

Para analisar a relação da composição de gêneros e de espécies com as variáveis ambientais levando-se em conta as diferenças entre os tamanhos das áreas amostradas, os dados foram padronizados transformando-se o número de ninhos em dados de

presença ou ausência. Os dados foram ordenados através de análise de componentes principais (PCA). Análises de ordenação, como uma análise de componentes principais (PCA), ordenam as espécies em um eixo teórico, maximizando a dispersão das variâncias ao longo desse eixo (ter Braak, 2005). A ordenação foi realizada considerando-se todas as espécies, incluindo *Melipona*, e somente para *Melipona* separadamente.

O intervalo de confiança para cada componente foi obtido por “bootstrap”, com 1000 reamostragens. A PCA foi realizada através do programa PAST (Hammer *et al.*, 2001). A significância dos componentes obtidos foi verificada plotando-se os autovalores de cada componente em um gráfico e traçando-se uma linha correspondente aos autovalores esperados em um modelo aleatorizado. São considerados significativos os componentes cujos autovalores ficam acima da linha de corte. O programa também permite estimar o número de componentes significativos através do índice informal de corte Jolliffe. Autovalores menores que o índice de corte são considerados não significativos. Referências para os testes de significância utilizados pelo programa podem ser encontradas em Hammer (2011). Posteriormente, correlacionou-se o primeiro componente da PCA com as diferentes variáveis ambientais através do programa Statistica 5.0 (StatSoft).

Para verificar se a ordenação dos levantamentos pelas proporções de áreas naturais agruparia as áreas geograficamente mais próximas, os levantamentos receberam uma cor de acordo com o grupo geográfico ilustrado na figura 1. Os dados das proporções de áreas naturais, capoeiras, rurais e antropizadas de cada escala foram submetidos a uma análise de PCA. Procedeu-se dessa forma principalmente para avaliar a independência das amostras do Maranhão, que compuseram o maior volume de dados deste estudo.

Resultados

Os trabalhos compilados para o estudo compuseram um total de 1179 ninhos, distribuídos por 19 gêneros e 64 espécies, das quais 10 não identificadas (Tabela III). O gênero com maior frequência de ocorrência foi *Trigona* (27 locais), seguido por *Scaptotrigona* (25), *Frieseomelitta* (23) e *Melipona* (20). Quanto ao número de ninhos, *Scaptotrigona* foi mais abundante, com 262 ninhos, seguido por *Trigona* (217), *Tetragonisca* (153) e *Frieseomelitta* (133). As espécies mais frequentes foram *Scaptotrigona postica* (17 locais), seguida por *Tetragonisca angustula* e *Tetragona clavipes* (13 locais cada) e *Trigona spinipes* e *Trigona pallens* (12 locais cada). Quanto à abundância de ninhos, as espécies mais abundantes foram *Tetragonisca angustula* (152 ninhos), *Scaptotrigona depilis* (121) e *Trigona spinipes* (119).

Na escala de 1 km, o primeiro componente do ordenamento das áreas a partir das proporções de áreas naturais, capoeiras, rurais e construídas explicou 50% da variância. A distribuição dos pontos no gráfico mostrou-se espalhada, não mantendo o agrupamento das áreas por proximidade geográfica. A proporção de áreas construídas foi a que menos contribuiu para a ordenação dos levantamentos, enquanto as demais proporções contribuíram de forma semelhante (Figura 3A).

Na escala de 3 km, o primeiro componente explicou 70% da variância. Os levantamentos do Maranhão, do nordeste e do sudoeste do estado, se mostraram mais próximos entre si do que com os demais levantamentos. As proporções de áreas naturais e capoeiras foram as que deram maior contribuição ao ordenamento. Os pontos correspondentes ao nordeste do Maranhão se concentraram principalmente próximo ao eixo correspondente às proporções de áreas naturais, enquanto os pontos correspondentes ao sudoeste do Maranhão, às proporções de capoeiras. Os pontos dos demais levantamentos se aproximaram mais do eixo de áreas rurais (Figura 3B). Na

escala de 5 km, a distribuição dos pontos foi semelhante (Figura 3C), sendo que o primeiro componente explicou 75% da variância. .

Tabela III. Número de ninhos por espécie de cada levantamento. Lista de abreviaturas no final da tabela.

Espécie	Araguari	Arizona	Bacaba	Bacabinha	Balsas	Bom Lugar	Buriti	Cajueiro Winnits	Carmo	Castiça	Chapadinha	Cocalinho	EEI	Extrema	Faz. São Pedro	Faz. Walter	Feio	Formosa	Gleba Cajueiro	IAB	Jatoba	Macaco	Normasa	Panga	São Lourenço	São Luizinho	São Francisco	Sipauba	Santa Teresa	Tabocal	Urbano Santo	Urubu	USP Ribeirão	n° de ninhos	loais de ocorrência
Cel_lon	-	-	17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	17	1
Cep_cap	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6	2
Cep_fem	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	3	3	
Fri_sch	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1	
Fri_doe	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	1	-	-	3	2	
Fri_lon	-	-	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	4	-	-	12	9
Fri_lan	-	-	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	27	3
Fri_var	3	-	9	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	15	4
Fri fla	-	-	-	-	17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6	1	6	-	4	5	-	2	-	5	-	5	-	51	9	
Fri_sp	-	-	2	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	1	5	-	3	2	-	1	-	2	-	5	-	25	10	
Geo_sub	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	
Les_mon	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	1	
Les_lim	1	-	1	-	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	4	12	5	
Les_sp	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	2	
Leu_mue	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	3	2	
Mel_com	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7	-	-	10	2	
Mel_fas	-	-	-	-	1	1	-	-	1	2	-	2	-	-	1	3	-	-	2	-	-	-	-	2	-	1	-	-	-	-	-	-	-	16	10
Mel fla	-	-	-	-	2	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	2	-	1	1	-	1	1	2	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	13	9

	Araguari	Arizona	Bacaba	Bacabinha	Balsas	Bom Lugar	Buriti	Cajueiro Winnits	Carno	Castiça	Chapadinha	Cocalinho	EEI	Extrema	Faz. São Pedro	Faz. Walter	Feio	Formosa	Gleba Cajueiro	IAB	Jatoba	Macaco	Normasa	Panga	São Lourenço	São Luizinho	São Francisco	Sipauba	Santa Teresa	Tabocal	Urbano Santo	Urubu	USP Ribeirão	n° de ninhos	loais de ocorrência
Espécie																																			
Mel_ful	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2
Mel_qan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
Mel_ruf	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	13	3
Mel_sem	-	-	-	-	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	3
Mel_sp	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	1
Nan_tes	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	24	25	2
Nan_sp	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2
Oxy_tat	1	-	1	-	14	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	8	26	6
Oxy_sp	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	1	2	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	19	1	-	29	9
Par_ail	6	-	6	-	5	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	18	4
Par_cha	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	25	-	-	25	1	
Par_com	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	1
Par_hel	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	13	13	1
Par_ser	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	2	1	
Par_vic	-	-	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	1
Par_sp	-	-	-	1	5	-	-	2	-	2	4	1	-	-	-	1	-	1	1	-	2	-	-	-	-	1	1	-	-	4	-	1	-	27	14
Ple_dro	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	7	3
Ple_rem	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
Ple_sp	-	-	19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19	1
Pti_lur	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1

Tabela III - continuação

	Araguari	Arizona	Bacaba	Bacabinha	Balsas	Bom Lugar	Buriti	Cajueiro Winnits	Carno	Castiça	Chapadinha	Cocalinho	EEI	Extrema	Faz. São Pedro	Faz. Walter	Feio	Formosa	Gleba Cajueiro	IAB	Jatoba	Macaco	Normasa	Panga	São Lourenço	São Luizinho	São Francisco	Sipauba	Santa Teresa	Tabocal	Urbano Santo	Urubu	USP Ribeirão	n° de ninhos	loais de ocorrência
Espécie																																			
Sca_bip	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	45	51	2	
Sca_dep	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8	-	-	-	-	-	-	-	-	109	121	3	
Sca_pol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8	2
Sca_pos	-	-	15	-	-	1	1	1	2	2	-	1	-	1	1	1	1	1	1	-	3	-	-	-	-	3	1	2	-	-	-	-	-	38	17
Sca_tub	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	-	2	2	
Sca_sp	-	-	-	-	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	42	2	
Scu_lat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	10	11	2	
Scu_lon	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2	
Tet_cla	6	1	13	1	-	-	-	1	-	-	1	-	-	-	-	1	-	-	2	-	-	-	1	-	1	-	1	-	-	2	-	44	75	13	
Tet_dor	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	3	
Tet_qua	2	-	-	-	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6	2	
Tet_sp	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	1	
Tes_ang	7	-	13	1	3	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	1	-	-	3	-	-	1	4	-	-	1	-	1	-	-	-	115	152	13
Tri_ama	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	
Tri_bra	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	4	1	-	10	7	
Tri_ful	2	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	8	7	
Tri_fus	-	-	3	-	-	-	-	-	-	2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9	15	4	
Tri_hya	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	-	-	-	-	2	-	-	-	12	22	5	
Tri_hyp	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	4	2	
Tri_pal	-	2	3	-	4	-	-	1	-	-	2	-	-	1	1	1	1	2	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	3	-	-	22	12	

Tabela III - continuação

Espécie	Araguari	Arizona	Bacaba	Bacabinha	Balsas	Bom Lugar	Buriti	Cajueiro Winnits	Carno	Castiça	Chapadinha	Cocalinho	EEI	Extrema	Faz. São Pedro	Faz. Walter	Feio	Formosa	Gleba Cajueiro	IAB	Jatoba	Macaco	Normasa	Panga	São Lourenço	São Luizinho	São Francisco	Sipauba	Santa Teresa	Tabocal	Urbano Santo	Urubu	USP Ribeirão	n° de ninhos	loais de ocorrência
Tri_rec	2	-	3	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7	4
Tri_spi	2	-	1	-	1	1	-	-	-	1	-	-	35	-	1	-	1	-	-	5	-	-	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	69	119	12
Tri_tru	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	5
Tri_spi	-	-	1	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	4
Trs_nat	-	-	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7	1
Tot_nin	69	8	145	5	110	6	1	6	4	12	26	5	36	6	8	13	7	9	15	12	15	3	17	29	11	12	11	5	4	12	73	14	470	1179	
Tot_spp	20	6	19	5	18	6	1	5	3	7	14	4	2	6	8	10	7	8	12	5	5	3	7	14	5	5	10	3	3	4	14	6	15	63	
(ha)	50	4	40	4	?	4	4	4	4	4	5	4	56	4	4	4	4	4	4	18	4	4	4	100	4	4	4	4	2.2	4	186	4	75		
nin/ha	1.4	2	3.6	1.3	?	1.5	0.3	1.5	1	3	5.2	1.3	0.6	1.5	2	3.3	1.8	2.3	3.8	0.7	3.8	0.8	4.3	0.3	2.8	3	2.8	1.3	1.8	3	0.4	3.5	6.3		
spp/ha	0.4	1.5	0.5	1.3	?	1.5	0.3	1.3	0.8	1.8	2.8	1	0	1.5	2	2.5	1.8	2	3	0.3	1.3	0.8	1.8	0.1	1.3	1.3	2.5	0.8	1.3	1	0.1	1.5	0.2		
div_spp	2.8	1.7	2.5	1.6	2.2	1.8	0	1.6	1	1.9	2.3	1.3	0.1	1.8	2.2	2.1	1.9	2	2.4	1.4	1.5	1.1	1.6	2.3	1.5	1.4	2.3	1.1	1	1.2	2	1.5	2.1		
div_gen	2.2	1.2	2.2	1.6	1.9	1.6	0	1.7	1	1.5	2	1	0.1	1.6	1.7	1.8	1.2	1.6	1.9	1.2	1.1	0.6	1.2	2	1	1.1	2	0.7	1	0.4	1.7	1	1.7		
porte	5	3	4	4	3	2	3	3	3	4	3	4	2	2	2	2	1	2	3	4	2	2	4	5	2	2	1	3	3	4	3	3	3		

Tabela III. Continuação.

Abreviaturas: Tot. nin: total de ninhos; Tot. spp: total de espécies. (ha): tamanho da área amostrada, em hectares; nin/ha: densidade de ninhos por hectare; spp/ha: densidade de espécies por hectare; div_spp: diversidade de espécies (H'); div_gen: diversidade de gêneros (H'). Porte: porte da vegetação, onde 1=campo predominante, com poucas árvores isoladas; 2= campo cerrado, presença de arbustos e poucas árvores; 3=cerrado *sensu stricto*, com predomínio de arbustos e árvores esparsas; 4=cerradão, vegetação arbórea; 5= mata de galeria. Espécies: Cel_lon: *Celetrigona longicornis* (Fries); Cep_cap: *Cephalotrigona capitata* (Smith); Cep_fem: *Cephalotrigona femorata* (Smith); Fri_sch: *Friesella schrotkyii* (Fries); Frm_doe: *Frieseomelitta doederleini* (Fries); Frm_lon: *Frieseomelitta longipes* (Smith); Frm_lan: *Frieseomelitta s. languida* (Moure); Frm_var: *Frieseomelitta varia* (Lepeletier); Frm fla: *Frieseomelitta flavicornis* (Fabricius); Frm_sp: *Frieseomelitta* sp.; Geo_sub: *Geotrigona subnuda* (Moure)*; Les_mon: *Lestrimelitta monodonta* (Camargo & Moure); Les_lim: *Lestrimellita limao* (Smith); Les_sp: *Lestrimelitta* sp.

Leu_mue: *Leurotrigona muelleri* (Friese); Mel_com: *Melipona compressipes* (Friese); Mel_fas: *Melipona fasciculata* (Smith); Mel fla: *Melipona flavolineata* (Friese); Mel_ful: *Melipona fuliginosa* (Lepeletier); Mel_qan: *Melipona quadrifasciata anthidioides* (Lepeletier); Mel_ruf: *Melipona rufiventris* (Lepeletier); Mel_sem: *Melipona seminigra* (Friese); Mel_sp: *Melipona* sp.; Nan_tes: *Nannotrigona testaceicornes* (Lepeletier); Nan_sp: *Nannotrigona* sp.; Oxy_tat: *Oxytrigona tataira* (Smith); Oxy_sp: *Oxytrigona* sp.; Par_ail: *Partamona ailyae* (Camargo); Par_cha: *Partamona chapadicola* (Pedro & Camargo); Par_com: *Partamona combinata* (Pedro & Camargo); Par_hel: *Partamona helleri* (Friese); Par_ser: *Partamona seridoensis* (Pedro & Camargo); Par_vic: *Partamona vicina* (Camargo); Par_sp: *Partamona* sp.; Ple_dro: *Plebeia droryana* (Friese); Ple_rem: *Plebeia remota* (Holmberg); Ple_sp: *Plebeia* sp.; Pti_lur: *Ptilotrigona lurida* (Smith); Sca_bip: *Scaptotrigona bipunctata* (Lepeletier); Sca_dep: *Scaptotrigona depilis* (Moure); Sca_pol: *Scaptotrigona polysticta* (Moure); Sca_pos: *Scaptotrigona postica* (Latreille); Sca_tub: *Scaptotrigona tubiba* (Smith); Sca_sp: *Scaptotrigona* sp.; Scu_lat: *Scaura latitarsis* (Friese); Scu_lon: *Scaura longula* (Lepeletier); Tet_cla: *Tetragona clavipes* (Fabricius); Tet_dor: *Tetragona dorsalis* (Smith); Tet_qua: *Tetragona quadrangula* (Lepeletier); Tet_sp: *Tetragona* sp.; Tes_ang: *Tetragonisca angustula* (Latreille); Tri_ama: *Trigona amazonensis* (Ducke); Tri_bra: *Trigona branneri* (Cockerell); Tri_ful: *Trigona fulviventrīs* (Guérin); Tri_fus: *Trigona fuscipennis* (Friese); Tri_hya: *Trigona hyalinata* (Lepeletier); Tri_hyp: *Trigona hypogea* (Silvestri); Tri_pal: *Trigona pallens* (Fabricius); Tri_rec: *Trigona recursa* (Smith); Tri_spi: *Trigona spinipes* (Fabricius); Tri_tru: *Trigona truculenta* (Almeida); Tri_sp: *Trigona* sp.; Trs_nat: *Trigonisca nataliae* (Moure).

Figura 3. Análise de PCA (1º componente X 2º componente) da ordenação das áreas pelas proporções de áreas naturais (nat), capoeiras (cap), rurais (rur) e construídas (con) nas escalas de 1 km (A), 3 km (B) e 5 km (C). Círculo roxo: São Paulo; triângulo cinza: Minas Gerais; cruz verde: Mato Grosso; quadrado azul: SO do Maranhão; cruz vermelha: NE do Maranhão.

Densidade de ninhos *versus* variáveis ambientais

O levantamento de Balsas (Rego *et al.*, 2008) não trazia o tamanho da área estudada, nem qualquer informação sobre densidade, e portanto foi retirado desta análise. A maior densidade de ninhos foi observada para a USP Ribeirão (6,3 ninhos/ha), seguida por Chapadinha (5,2 ninhos/ha) e Normasa (4,3 ninhos/ha). As menores densidades de ninhos foram observadas para Buriti e Panga (0,3 ninhos/ha), Urbano Santos (0,4 ninhos/ha) e EEI (0,6 ninhos/ha; Tabela IV). A densidade de ninhos apresentou correlação negativa significativa apenas com a proporção de áreas naturais na escala de 3.000 m ($R^2=-0,3618$; $p=0,04$). Para as demais variáveis, não houve correlação significativa (Tabela V).

Riqueza de espécies e diversidade de espécies e gêneros *versus* variáveis ambientais

Quanto à riqueza de espécies por área, os maiores valores foram encontrados para Chapadinha (2,8 espécies/ha), Fazenda Walter e Fazenda São Francisco (2,5 espécies/ha). Os menores para a EEI (0,03 espécies/ha), Panga e Urbano Santos (0,1 espécies/ha). A riqueza de espécies por área apresentou correlação significativa com a proporção de capoeira nas três escalas (1.000 m: $r^2=0,491$ e $p<0,01$; 3.000 m: $r^2=0,6253$ e $p<0,01$; 10.000 m: $r^2=0,6536$ e $p<0,01$). Apresentou ainda correlação significativa negativa com a proporção de área rural nas escalas de 3.000 e 10.000 m ($r^2=-0,6562$ e $p=0,04$ e $r^2=-0,4012$ e $p=0,02$, respectivamente) e com o porte da vegetação ($cc=-0,3503$ e $p<0,05$).

Dentre os locais compilados, a maior diversidade de espécies foi encontrada para Araguari ($H'=2,756$), seguida por Bacaba ($H'=2,526$) e pela Gleba Cajueiro ($H'=2,431$). As menores diversidades foram observadas para Buriti ($H'=0$), EEI (0,127) e Santa Teresa ($H'=1,040$; Tabela IV). A diversidade específica apresentou correlação

significativa negativa com a proporção de áreas naturais nas escalas de 1.000 m e de 5.000 m. Para a escala de 3.000 m, para as demais proporções, para o porte da vegetação e para o tamanho da área amostrada, não houve correlação significativa (Tabela V).

Tabela IV. Proporções (em %) de áreas naturais (nat), capoeiras (cap), rurais (rur) e construídas (con) nas escalas de 1 km, 3 km e 5 km nos levantamentos.

Levantamento	nat 1Km	nat3Km	nat5km	cap1Km	cap3Km	cap5Km	rur1Km	rur3Km	rur5Km	con1Km	con3Km	con5Km
Araguari	58.1	44.3	41.6	29.0	25.5	17.3	0.6	23.9	37.5	0.0	0.3	0.1
Arizona	71.0	49.1	43.1	0.0	6.3	46.2	29.0	44.5	10.6	0.0	0.0	0.0
Bacaba	49.1	31.0	23.3	1.6	10.2	17.8	15.8	40.5	46.8	33.5	16.6	10.7
Bacabinha	26.1	36.6	34.3	46.3	36.9	35.7	20.9	20.9	27.4	4.2	5.2	2.3
Balsas	64.6	73.6	79.4	30.1	22.1	14.1	0.0	2.2	5.2	0.0	0.2	0.2
Bom Lugar	50.1	42.9	29.0	32.6	18.5	22.1	17.3	38.6	48.9	0.0	0.0	0.0
Buriti	59.0	63.1	70.9	36.8	31.4	21.6	4.1	4.0	6.0	0.0	1.5	1.5
Cajueiro Winnits	37.4	46.5	49.4	56.6	38.2	37.8	6.0	14.6	12.6	0.0	0.7	0.1
Carmo	45.5	67.9	63.4	46.8	25.8	29.1	4.4	5.2	6.6	3.3	0.8	0.9
Castiça	36.9	49.2	54.1	63.1	45.9	36.0	0.0	2.2	6.4	0.0	2.8	3.5
Chapadinha	11.7	29.4	39.8	71.8	56.8	43.0	4.0	8.6	15.0	12.5	4.9	1.9
Cocalinho	61.5	57.4	65.9	0.0	22.0	20.9	23.0	18.0	11.7	15.4	2.5	1.3
EEI	88.3	38.4	35.8	0.0	0.0	0.0	3.0	40.7	51.7	8.7	10.0	5.3
Extrema	41.7	52.8	50.5	58.3	46.5	44.0	0.0	0.7	5.1	0.0	0.0	0.4
Faz. São Pedro	87.0	51.9	41.8	13.0	46.5	57.2	0.0	1.1	0.5	0.0	0.5	0.5
Faz. Walter	44.4	43.8	48.0	54.8	51.6	48.7	0.0	3.6	2.7	0.8	1.0	0.6
Feio	36.3	45.4	37.7	5.8	3.3	3.7	57.8	48.2	55.1	0.0	2.5	1.2
Formosa	12.8	39.3	39.3	74.1	50.3	48.1	13.1	10.5	12.4	0.0	0.0	0.1
Gleba Cajueiro	29.4	43.5	41.2	52.1	48.3	43.6	18.5	8.2	15.1	0.0	0.1	0.1
IAB	86.5	29.9	22.4	0.0	0.0	0.0	4.7	46.8	63.7	8.7	11.5	6.2
Jatoba	0.8	18.8	33.2	29.8	56.2	47.8	21.0	17.5	15.6	46.9	7.3	3.3
Macaco	69.8	60.0	48.5	22.1	17.7	16.7	8.1	18.0	32.4	0.0	2.7	1.4
Normasa	13.2	44.9	32.4	0.0	10.1	13.7	75.4	42.9	52.1	11.4	1.6	1.0
Panga	40.3	30.7	25.3	0.0	8.6	8.1	59.7	58.5	64.7	0.0	1.1	1.1

Levantamento	nat 1km	nat3km	nat5km	cap1km	cap3km	cap5km	rur1km	rur3km	rur5km	con1km	con3km	con5km
São Lourenço	100.0	63.2	54.8	0.0	34.9	39.9	0.0	1.4	4.4	0.0	0.4	1.0
São Luizinho	66.0	43.0	49.0	14.5	36.3	34.7	10.9	17.2	13.5	8.6	3.3	2.4
São Francisco	52.6	40.2	41.9	20.3	47.7	46.9	26.6	10.9	10.8	0.4	1.1	0.4
Sipauba	68.7	64.7	72.6	29.4	27.2	16.5	1.9	7.4	10.4	0.0	0.5	0.4
Santa Teresa	61.7	11.6	7.1	0.0	0.0	0.0	31.4	50.0	55.8	6.9	38.2	37.0
Tabocal	59.4	72.0	65.4	40.6	25.6	30.1	0.0	2.3	4.4	0.0	0.0	0.1
Urbano Santos	31.4	50.1	50.2	13.5	25.2	28.8	0.0	7.2	14.4	55.2	17.5	6.6
Urubu	64.0	61.5	57.9	35.2	29.3	33.9	0.8	7.6	6.8	0.0	1.6	1.4
USP Ribeirão	47.3	11.1	7.2	0.0	0.0	0.0	42.2	53.1	53.9	7.1	35.3	38.5

Tabela IV – continuação

Tabela V. Correlações entre os parâmetros de diversidade e as variáveis ambientais. Em vermelho, $p < 0,05$. Em azul, $p = 0,057$

Parâmetros	naturais			capoeiras			rurais			construídas			tamanho	porte
	1 km	3 km	5 km	1 km	3 km	5 km	1 km	3 km	5 km	1 km	3 km	5 km		
densidade de ninhos	-0.349	-0.362	-0.282	0.129	0.238	0.225	0.196	-0.011	-0.074	0.098	0.229	0.321	-0.187	-0.087
riqueza (n° espécies/área)	-0.348	-0.016	0.043	0.491	0.625	0.654	0.039	-0.356	-0.401	-0.278	-0.342	-0.267	-0.556	-0.350
diversidade de espécies	-0.370	-0.323	-0.355	0.132	0.254	0.300	0.200	0.065	0.064	0.075	-0.052	-0.026	0.208	0.086
diversidade de gêneros	-0.409	-0.437	-0.430	0.191	0.279	0.291	0.152	0.085	0.097	0.112	0.039	0.047	0.252	0.163
1° comp. PCA espécies	0.049	-0.468	-0.529	-0.356	-0.478	-0.537	0.259	0.575	0.619	0.076	0.418	0.430	0.479	0.415
1° comp. PCA gêneros	-0.403	-0.380	-0.338	0.128	0.197	0.216	0.108	0.065	0.066	0.250	0.112	0.096	0.402	0.173
ocorrência de <i>Melipona</i>	-0.208	0.085	0.119	0.204	0.364	0.267	-0.073	-0.257	-0.154	0.086	-0.337	-0.344	0.178	-0.074
densidade de ninhos de <i>Melipona</i>	-0.231	0.041	0.158	0.432	0.546	0.438	-0.155	-0.389	-0.340	-0.126	-0.289	-0.236	-0.256	-0.163
riqueza (n° espécies/área) de <i>Melipona</i>	-0.266	0.043	0.108	0.385	0.516	0.442	-0.046	-0.340	-0.292	-0.126	-0.320	-0.266	-0.306	-0.182
1° comp. PCA <i>Melipona</i>	-0.097	0.149	0.150	0.243	0.445	0.436	-0.034	-0.358	-0.334	-0.183	-0.311	-0.236	-0.371	-0.286

Composição de espécies e gêneros *versus* variáveis ambientais

A dispersão dos coeficientes de ordenação pelos dois primeiros componentes da PCA a partir dos dados das espécies mostrou que levantamentos geograficamente próximos tenderam a apresentar distribuição mais próxima. Houve sobreposição da distribuição dos pontos do nordeste e sudoeste do Maranhão. A área dos pontos de São Paulo não se sobrepôs, mas ficou próxima às áreas do Maranhão. Para os pontos de Minas Gerais e Mato Grosso não foi possível desenhar a área por haver menos de três pontos (Figura 4).

Os dois primeiros componentes da PCA explicaram 29% da variância, sendo que o primeiro explicou 18%, com intervalo de confiança entre 11% e 30%. O autovalor do primeiro componente (1,1161) foi superior ao índice de corte de Jolliffe (0,1351). Os autovalores dos seis primeiros componentes ficaram acima da linha de corte no gráfico de autovalores (Figura 5A), mas a linha de corte ficou dentro do intervalo de confiança de todos os componentes. Isso indica que o primeiro componente sozinho é insuficiente para explicar a variância dos dados e que existe uma semelhança muito grande na composição de espécies dos levantamentos. Portanto, a correlação do primeiro componente com as variáveis ambientais, embora interessante, deve ser avaliada com cautela.

Na escala de 5 km, o primeiro componente apresentou correlação significativa com a proporção de áreas construídas ($r^2=0,4161$; $p=0,01$) e rurais ($r^2=0,5873$; $p<0,01$) e correlação negativa significativa com a proporção de áreas naturais ($r^2=-0,4440$; $p=0,01$) e capoeiras ($r^2=-0,5444$; $p<0,01$). O mesmo foi observado na escala de 3 km (construídas: $r^2=0,4006$ e $p=0,02$; rurais: $r^2=0,5398$ e $p<0,01$; naturais: $r^2=-0,4000$ e $p=0,02$; e capoeiras: $r^2=-0,4804$ e $p<0,01$). Na escala de 1 km, só foi significativa a correlação negativa com a proporção de capoeiras ($r^2=-0,3506$; $p=0,04$). O primeiro

componente também apresentou correlação positiva significativa com o porte da vegetação ($CC=0,4148$; $p<0,05$) e com o tamanho da área amostrada ($r^2=0,4881$; $p<0,01$. Tabela V).

Quanto à diversidade de gêneros (tabela IV), as maiores foram encontradas para Bacaba ($H'=2,171$), Araguari ($H'=2,157$) e Panga ($H'=2,028$), e as menores, para Buriti ($H'=0$), EEI ($H'=0,127$) e Tabocal ($H'=0,377$). A diversidade de gêneros apresentou correlação significativa negativa com a proporção de áreas naturais nas três escalas do estudo. Para os demais parâmetros, incluindo o porte da vegetação e o tamanho da área amostrada, não houve correlação significativa (Tabela V).

A distribuição dos coeficientes de ordenação pelos dois primeiros componentes da PCA com os dados dos gêneros revelou uma distribuição espalhada pelo gráfico, sem a formação de agrupamentos pela proximidade geográfica. Houve grande sobreposição das áreas correspondentes a 95% da variância para cada grupo geográfico, indicando uniformidade na composição de gêneros. Os dois primeiros componentes da PCA explicaram 42% da variância, sendo que o primeiro componente da PCA explicou 25% da variância total da ordenação. Seu autovalor (0,6845) foi superior ao índice de corte de Jolliffe (0,098). Os autovalores que ficaram acima da linha de corte no gráfico de autovalores corresponderam aos dois primeiros componentes, somente (Figura 5B).

O primeiro componente da PCA com os dados de gêneros apresentou correlação significativa apenas com o tamanho da área estudada ($r^2=0,4018$; $p=0,02$) e significativa negativa com a proporção de áreas naturais, tanto na escala de 1 km ($r^2=-0,4026$; $p=0,02$) como na escala de 3 km ($r^2=-0,3804$; $p=0,03$). Para as demais variáveis, não houve correlação significativa (Tabela V).

Figura 4. Análise de componentes principais (1° componente X 2° componente) da ordenação das áreas pela presença e ausência das espécies (A) e com delimitação dos pontos por região (B). Círculo roxo: São Paulo; triângulo cinza: Minas Gerais; cruz verde: Mato Grosso; quadrado azul: SO do Maranhão; cruz vermelha: NE do Maranhão.

Figura 5. Distribuição dos autovalores pelos componentes (linha azul), com intervalos de confiança e linha de corte (vermelha). Componentes com autovalor abaixo da linha de corte não são significativos. A: componentes da análise de componentes principais dos dados de presença e ausência de espécies. B: o mesmo, para dados de presença e ausência de gêneros

Ocorrência, densidade dos ninhos, riqueza e composição de espécies de *Melipona* versus variáveis ambientais

Nenhum ninho de *Melipona* foi localizado em doze dos 33 levantamentos (Arizona, Bacaba, Bacabinha, Buriti, Extrema, Feio, IAB, São Luizinho, Sipaúba, Santa Teresa, Tabocal e USP Ribeirão). Araguari foi o estudo com o maior número de ninhos levantados (10), sendo que todos pertenciam à espécie *M. rufiventris* (Tabela III). A ocorrência do gênero *Melipona* correlacionou-se positivamente significativamente com a proporção de capoeiras na escala de 3 Km e negativamente com a proporção de áreas construídas na escala de 5 km. A densidade de ninhos apresentou correlação significativa com a proporção de capoeiras nas três escalas (1 km: $r^2=0,432$ e $p=0,01$; 3 km: $r^2=0,546$ e $p<0,01$; 5 km: $r^2=0,438$ e $p=0,01$) e correlação negativa significativa com a proporção de áreas rurais na escala de 3 km ($r^2=-0,389$ e $p=0,03$). Para as demais variáveis, não houve correlação significativa (Tabela V).

O maior número de espécies diferentes de *Melipona* foi encontrado para o levantamento da Gleba Cajueiro, com quatro espécies. Nos demais estudos, foram encontrados ninhos de uma ou duas espécies de *Melipona* (Tabela III). Todas as espécies foram encontradas em pelo menos dois levantamentos, com exceção de *Melipona quadrifasciata*, que foi localizada apenas na EEI. A riqueza de espécies de *Melipona* por área apresentou correlação significativa com a proporção de capoeiras nas três escalas (1 km: $r^2=0,385$ e $p=0,03$; 3 km: $r^2=0,516$ e $p<0,01$; 5 km: $r^2=0,442$ e $p=0,01$). Para as demais variáveis, não houve correlação significativa (Tabela V).

O primeiro componente da ordenação dos levantamentos a partir dos das espécies de *Melipona* correspondeu a 39% da variância explicada, com intervalo de confiança entre 30 e 55% (Figura 6). O autovalor do primeiro componente (0,3079) foi maior que o índice de corte de Jolliffe (0,0674), indicando que o componente foi

significativo. As maiores contribuições ao primeiro componente foram dadas pelos coeficientes de *M. fasciculata* (0,721) e *M. flavolineata* (0,6045). Todos os levantamentos ficaram dentro da distribuição de 95% da ordenação das variâncias.

O primeiro componente da PCA apresentou correlação significativa com a proporção de capoeiras nas escalas de 3 km ($r^2=0,4446$; $p=0,01$) e de 5 km ($r^2=0,4363$; $p=0,01$). Apresentou, ainda, correlação negativa significativa com a proporção de áreas rurais, na escala de 3 km ($r^2=-0,3577$; $p=0,04$), e com o tamanho da área amostrada ($r^2=-0,3705$; $p=0,04$). Com as demais variáveis, não houve correlação significativa (Tabela V).

Figura 6. A: Análise de componentes principais (1° componente X 2° componente) da ordenação das áreas pela presença e ausência das espécies de *Melipona*. Círculo roxo: São Paulo; triângulo cinza: Minas Gerais; cruz verde: Mato Grosso; quadrado azul: SO do Maranhão; cruz vermelha: NE do Maranhão. B: gráfico de distribuição dos autovalores pelos componentes (linha azul), com intervalos de confiança a linha de corte (vermelha). Componentes com autovalor abaixo da linha de corte não são significativos.

Discussão

Os resultados deste estudo devem ser interpretados levando-se em conta alguns fatores: primeiro, a dificuldade em se encontrar levantamentos de ninhos documentados em artigos científicos. Dos levantamentos de ninhos selecionados, apenas três são provenientes de artigos de periódicos científicos formais. A ausência de estudos de levantamentos de ninhos de meliponíneos no Brasil, e no bioma cerrado particularmente, é preocupante, pois o avanço da antropização sobre os remanescentes de cerrado está mais rápido que o avanço dos estudos.

Em segundo lugar, nos poucos estudos encontrados, a falta de padronização na coleta de dados sobre levantamentos de ninhos entre os trabalhos torna difícil uma comparação efetiva de seus resultados, sendo necessárias padronizações *a posteriori*. Em terceiro lugar, houve uma concentração de levantamentos no estado do Maranhão, devido principalmente ao maior volume de dados oriundos dos dois estudos de impacto ambiental, que contribuíram com 23 dos 33 levantamentos. A proximidade dos pontos oriundos de localização geográfica mais próxima na Figura 1 indica que parte da variância observada na ordenação das espécies pode ser interpretada como influência da localização espacial do levantamento. Além disso, a ausência de levantamentos de ninhos nos estados de Goiás e Tocantins deixa uma grande área de cerrado descoberta neste estudo. Mesmo com essas ressalvas, este trabalho pode contribuir para um melhor entendimento do efeito da antropização do cerrado sobre as comunidades de meliponíneos.

Densidade de ninhos e riqueza de espécies por área *versus* variáveis ambientais

A densidade de ninhos e a riqueza de espécies por área apresentaram forte correlação entre si, o que era esperado, já que alguns levantamentos apresentaram

apenas um ou dois ninhos e, por consequência, apenas uma ou duas espécies. No entanto, esses parâmetros responderam de forma diferente às variáveis ambientais. Enquanto a densidade de ninhos apresentou correlação negativa com a proporção de áreas naturais nas escalas de 1 km e 3 km, a riqueza de espécies por área apresentou correlação negativa com a proporção de áreas rurais nas escalas de 3 km e 5 km.

Esperávamos que, se as áreas construídas e rurais impedissem a movimentação dos meliponíneos entre fragmentos de áreas naturais, a densidade de ninhos seria maior nas áreas com maior proporção de áreas naturais, onde haveria mais cavidades disponíveis. No entanto, com uma disponibilidade de sítios maior nas áreas com maior proporção de áreas naturais do que de capoeiras e de áreas rurais, os ninhos poderiam manter uma distância maior entre si, diluindo a densidade de ninhos. Além disso, áreas naturais, sobretudo aquelas de cerrado mais fechado, dificultam o deslocamento do pesquisador, podendo refletir um número de ninhos levantados menor do que o real. As correlações negativas entre a riqueza de espécies por área com o porte da vegetação e com o tamanho da área amostrada apontam nessa direção.

Por outro lado, as áreas rurais são as que mantêm a menor quantidade de sítios disponíveis, pois as culturas agrícolas das áreas estudadas costumam ser principalmente de cana-de-açúcar, que não abriga ninhos. Mesmo essas áreas agrícolas, entretanto, mantêm algumas árvores de grande porte que poderiam abrigar ninhos de algumas espécies de meliponíneos. Isso poderia explicar porque, embora a densidade de ninhos não tenha se correlacionado com a proporção de áreas rurais, a riqueza de espécies por área se correlacionou negativamente com essas áreas.

Ribeiro *et al.* (2009), por exemplo, encontraram 243 ninhos de nove espécies de meliponíneos nas áreas rurais de Petrolina e Juazeiro, na Bahia, cidades pertencentes ao bioma da caatinga. Os ninhos foram encontrados em poucas espécies de árvores, sendo

que uma delas chegava a apresentar cinco ninhos em uma mesma árvore. Antonini & Martins (2003), por sua vez, constataram que a conservação de uma espécie de árvore em regiões do cerrado mineiro foi suficiente para suportar diversos ninhos de *Melipona quadrifasciata*.

Brown & Albrecht (2001), por outro lado, constataram que diferentes espécies de meliponíneos respondem de maneiras diferentes ao desflorestamento, muitas vezes de forma contrastante. Enquanto algumas espécies são muito sensíveis à perda de habitat, outras apresentam uma plasticidade maior e são capazes de colonizar as áreas desflorestadas. Espécies como *Trigona spinipes*, *Tetragonisca angustula* e *Scaptotrigona postica*, algumas das espécies mais frequentes nos levantamentos estudados, são capazes de ocupar ambientes antropizados. Assim, a densidade de ninhos poderia ser mantida pela capacidade de colonização desses ambientes pelas espécies mais frequentes, mas com perdas das espécies menos plásticas.

Diversidade e composição de espécies e gêneros *versus* variáveis ambientais

A correlação negativa entre a diversidade de espécies e de gêneros com as proporções de áreas naturais podem ser um reflexo da diluição da densidade de ninhos comentada acima. A correlação negativa entre o primeiro componente da ordenação das áreas, pela presença ou ausência das espécies, e as proporções de áreas naturais e capoeiras pode ser um efeito dessa diluição, também, assim como a correlação negativa entre o primeiro componente da ordenação de gêneros e as proporções de áreas naturais. A correlação positiva entre a ordenação das espécies e o tamanho das áreas amostradas e o porte da vegetação também apontam nesse sentido.

Por outro lado, a ausência de correlação entre a diversidade e as demais variáveis, assim como a baixa porcentagem de variância explicada pela ordenação das

áreas pela presença ou ausência das espécies pode ser um efeito da similaridade de espécies entre os levantamentos. As espécies mais frequentes dos levantamentos são espécies comuns de meliponíneos, algumas criadas por meliponicultores, outras frequentes em ambientes antropizados. Dessa forma, ainda que a proporção de áreas naturais diminua, a matriz existente entre fragmentos dessa vegetação pode oferecer conectividade, pelo menos para as espécies mais frequentes.

A conectividade indica a agregação de elementos similares da paisagem. A conectividade ao nível da paisagem é considerada como estrutural, mas há um segundo tipo de conectividade, a funcional. Nesse caso, a matriz e os corredores da estrutura da paisagem podem permitir a mobilidade de um determinado táxon, mas ser proibitiva para outro, ou seja, um determinado fragmento pode estar “isolado” para um determinado animal, mas conectado por elementos da matriz que funcionam como corredores (Forero-Medina & Vieira, 2002). Dessa forma, a fragmentação estrutural nem sempre reflete a perda da conectividade funcional, pois essa perda vai depender da capacidade de mobilidade de cada organismo e do quanto a fragmentação da paisagem representa perda real de habitat (Forero-Medina & Vieira, 2002; d'Eon *et al.*, 2002; Manning *et al.*, 2004). Para as abelhas capazes de nidificar em construções, por exemplo, as áreas construídas não representam uma barreira entre fragmentos de vegetação natural. Pelo contrário, para essas espécies, a urbanização pode significar aumento no número de sítios disponíveis para a nidificação.

Brosi *et al.* (2008) mostraram que a riqueza de meliponíneos diminui conforme aumenta a distância de fragmentos de floresta em relação à mata nativa. Brosi *et al.* (2007) encontraram um padrão semelhante. Ambos os estudos, no entanto, foram realizados em áreas de floresta tropical, onde o contraste entre a vegetação e as áreas agrícolas é muito grande. Para este estudo, foram considerados ambientes cuja

fisionomia é caracteristicamente mais aberta, na maioria das vezes apresentando predomínio de vegetação arbustiva com poucas árvores isoladas. Nos trabalhos selecionados, embora a proporção de área rural fosse grande em algumas áreas, em nenhuma delas foi observado um fragmento de vegetação nativa isolado completamente por áreas agrícolas. Dessa forma, a malha agrícola intercalada com fragmentos de fisionomias campestres pode não diferir das fisionomias naturais em si do ponto de vista do uso de habitat pelas abelhas sem ferrão como um todo. Ou seja, assim como em relação às áreas construídas, pode haver perda de conectividade estrutural, mas não de conectividade funcional.

Brosi *et al.* (2008) também apontaram que os meliponíneos não são sensíveis à perda de áreas naturais como um todo, já que encontraram muitas espécies nidificando em árvores isoladas das áreas de pastagem e em construções. Gouvêa *et al.* (2007), por sua vez, verificaram uma redução de espécies coletadas em armadilhas em fragmentos de floresta Atlântica em regeneração, quando comparado a fragmentos de mata nativa. A espécie *Trigona spinipes* foi uma das que mais se destacaram na paisagem em regeneração, enquanto que espécies de *Melipona* só foram encontradas em fragmentos de floresta primária.

Assim, talvez a perda de áreas naturais tenha um efeito maior sobre algumas espécies mais sensíveis à redução dessas áreas, mas não sobre a comunidade como um todo. A abundância de ninhos das espécies mais frequentes dos estudos selecionados pode ter mascarado o efeito da perda de áreas naturais sobre abelhas de espécies mais exigentes.

Riqueza, densidade de ninhos e composição da fauna de *Melipona* versus variáveis ambientais

Se por um lado, a abundância relativa dos ninhos de abelhas de comportamento plástico na escolha do sítio de nidificação mascarou o efeito da perda de áreas naturais, para os meliponíneos, no geral, pôde-se detectar esse efeito para as espécies do gênero *Melipona*. Essas abelhas, com exceção de *M. quinquefasciata*, que constrói ninhos em cavidades do solo (e.g. Martins *et al.*, 2004), e que não foi encontrada em nenhum dos trabalhos selecionados, necessitam de cavidades grandes para nidificar, encontradas em árvores de grande porte.

Ainda que o porte da vegetação em si não tenha sido correlacionado à riqueza por área ou à densidade de ninhos de *Melipona*, todas as fisionomias vegetais dos levantamentos que continham ninhos dessa espécie continham árvores em sua composição. Antonini & Martins (2003) mostraram que a presença de árvores de grande porte de uma única espécie vegetal foi suficiente para a manutenção de ninhos de *Melipona quadrifasciata* em fragmentos de cerrado de Belo Horizonte. Gouvêa *et al.* (2007), por sua vez, verificaram que em fragmentos de mata Atlântica em regeneração, sem a presença de árvores de grande porte, não foram encontradas forrageiras de *Melipona*.

A correlação negativa entre a proporção de áreas rurais e densidade de ninhos de *Melipona*, bem como com o primeiro componente da PCA, indica que embora possam ser encontradas abelhas desse gênero em locais com maior proporção de áreas rurais, onde há menos árvores de grande porte disponíveis, a longo prazo poderia haver redução das populações de suas espécies. Isso porque é característica dos meliponíneos apresentarem alta longevidade e baixa fecundidade (Eltz *et al.*, 2003), podendo suas colônias permanecerem ativas por mais de uma década. Por sua vez, a substituição das

áreas naturais por áreas agrícolas pode ser bem rápida (CSR-IBAMA, 2009). Dessa forma, a manutenção de árvores de grande porte contendo ninhos de *Melipona* em áreas de grande proporção de área rural pode refletir a sua ocorrência em uma paisagem natural que já não existe mais naquele ponto. Além disso, a correlação positiva entre a densidade de ninhos e a proporção de capoeiras pode indicar um adensamento dos ninhos nos remanescentes de áreas naturais quando há redução no número de árvores. Assim, remanescentes cujo entorno apresentem capoeiras podem provocar um adensamento dos ninhos nas áreas com vegetação mais preservada. Mas a substituição das áreas naturais por rurais pode tornar os remanescentes insuficientes para sustentar uma população de ninhos de *Melipona*, resultando na perda de espécies nesses remanescentes.

Em relação às áreas construídas, observou-se um efeito negativo sobre a presença do gênero. Antonini (2002) verificou a ocorrência de *M. quadrifasciata* em fragmentos inseridos em uma matriz urbanizada em Belo Horizonte. A autora constatou que a presença dessa abelha diminuiu em relação ao aumento da perturbação dos fragmentos e ao aumento da urbanização da matriz, até o seu desaparecimento em fragmentos inseridos em uma matriz 90% urbanizada. No estudo de Freitas *et al.* (2009) não foram encontrados ninhos de *Melipona*. Esse foi também o estudo em que foi encontrada a maior proporção de área urbanizada, além de ter sido o levantamento com tempo mais longo de amostragem (dez anos), com uma área amostral razoável (58 ha), e que resultou em maior número de ninhos de meliponíneos em geral (427). Assim, ainda que áreas construídas possam oferecer conectividade funcional a espécies frequentes de meliponíneos, para espécies do gênero *Melipona*, a substituição de áreas naturais por áreas rurais ou construídas pode ter um efeito deletério sobre suas populações.

Conclusões

Assim, em relação às questões levantadas, se com o aumento das proporções das áreas antropizadas e, conseqüentemente, com a redução das áreas naturais, haveria:

1) aumento na densidade de ninhos?

Em áreas de cerrado, a substituição de áreas naturais por áreas rurais e construídas parece não afetar a densidade de ninhos de Meliponini, provavelmente devido à capacidade das espécies de comportamento mais plástico em nidificarem em árvores isoladas das paisagens rurais;

2) redução na riqueza de espécies e de gêneros?

A riqueza de espécies por área diminui com o aumento da proporção de áreas rurais, indicando que a antropização das áreas naturais de cerrado pode levar à perda de espécies;

3) redução na ocorrência e abundância de espécies do gênero *Melipona*?

Para espécies do gênero *Melipona*, a redução das áreas naturais e sua substituição por áreas rurais ou construídas pode ter um efeito deletério sobre suas populações a longo prazo;

E, em relação às questões:

4) Existe relação entre a composição da comunidade de abelhas de uma área e a proporção de áreas naturais e não naturais?

O fato de as espécies mais frequentes apresentarem um comportamento plástico quanto à escolha dos substratos de nidificação indica que as áreas antropizadas podem apresentar conectividade funcional para essas espécies, mascarando o efeito da supressão de áreas nativas sobre a comunidade de meliponíneos. Áreas de cerrado, de fisionomia mais aberta que áreas de floresta ombrófila, podem não diferir das áreas

naturais fragmentadas por áreas rurais em termos da conectividade funcional para espécies de comportamento mais plástico.

5) O porte da vegetação e o tamanho da área amostrada influenciam a diversidade e composição de gêneros e espécies?

A relação negativa entre o porte da vegetação e o tamanho da área amostrada com a riqueza de espécies pode ser um efeito do pequeno tamanho amostral da maioria dos levantamentos, que localizou um ou dois ninhos. São necessários levantamentos de ninhos em áreas de cerrado de outros estados brasileiros, e de forma padronizada, para que possa ser feita uma avaliação mais refinada do efeito da perda de vegetação natural sobre as populações de meliponíneos.

Referências Bibliográficas

- AGUIAR, A. J. C. & MARTINS, C. F., 2003. The bee diversity of the tabuleiro vegetation in the Guaribas Biological Reserve (Mamanguape, Paraíba, Brazil). *In* G. A. R. Melo & Alves-dos-Santos, I. Apoidea Neotropica: Homenagem aos 90 anos de Jesus Santiago Moure. Editora UNESC, Criciúma
- ALMEIDA, M. C. & LAROCA, S., 1988. *Trigona spinipes* (Apidae, Meliponinae): taxonomia, bionomia e relações tróficas em áreas restritas. *Acta Biologica Paranaense* **17**(1, 2, 3, 4): 67-108.
- ALMEIDA-ANACLETO, D. & MARCHINI, L. C., 2005. Análise faunística de abelhas (Hymenoptera, Apoidea) coletadas no cerrado do Estado de São Paulo. *Acta Scientiarum. Biological Sciences (Online)* **27**: 277-284.
- ALVARENGA, P. E. F., 2008. Levantamento da fauna de abelhas (Hymenoptera, Apidae, Meliponina) na mata Santa Tereza, estação ecológica de Ribeirão Preto – SP, e limitantes da densidade de seus ninhos. Dissertação de mestrado. Universidade de São Paulo. Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto.
- ANDENA, S. R., BEGO, L. R. & MECHI, M. R., 2005. A comunidade de abelhas (Hymenoptera, Apoidea) de uma área de cerrado (Corumbataí, SP) e suas visitas às flores. *Revista Brasileira de Zoociências* **7**(1): 55-91.
- ANDERSSON, E. 2006. Urban landscapes and sustainable cities. *Ecology and Society* **11**(1): 34. (online) URL: <http://www.ecologyandsociety.org/vol11/iss1/art34/>

- ANTONINI, Y., 2002. Efeitos de variáveis ecológicas na ocorrência de *Melipona quadrifasciata* (Apidae: Meliponini) em fragmentos urbanos e rurais. Universidade Federal de Minas Gerais. Tese de doutorado.
- ANTONINI, Y. & MARTINS, R. P., 2003. The values of a tree species (*Caryocar brasiliense*) for a stingless bee *Melipona quadrifasciata quadrifasciata*. *Journal of Insect Conservation* **7**: 167-174.
- ARAUJO, E. D., COSTA, M., CHAUD-NETTO, J. & FOWLER, H. G., 2004. Body size and flight distance in stingless bees (Hymenoptera: Meliponini): inference of flight range and possible ecological implications. *Brazilian Journal of Biology* **64(3B)**: 563-568.
- ARAUJO, V. A.; ANTONINI, Y. & ARAUJO, A. P. A., 2006. Diversity of bees and their floral resources at altitudinal areas in the Southern Espinhaço Range, Minas Gerais, Brazil. *Neotropical Entomology* **35(1)**: 30-40.
- BATISTA, M. A. & RAMALHO, M., 2003. Nesting sites and abundance of Meliponini in heterogeneous habitats of the Atlantic rainforest. *Lundiana International Journal of Biodiversity* **1(2)**: 01-05.
- BIESMEIJER, J. C.; SLAA, E. J.; DE CASTRO, M. S.; VIANA, B. F.; KLEINERT, A. M. P. & IMPERATRIZ-FONSECA, V. L., 2005. Connectance of Brazilian social bee – food plant networks is influenced by habitat, but not by latitude, altitude or network size. *Biota Neotropica* **5(1)**: 1-9.
- BLOCHTEIN, B. & B. HARTER-MARQUES. 2003. Hymenoptera, p. 95-109 In: FONTANA, C.S., BENCKE, G.A., REIS, R.E. (Orgs.). Livro Vermelho da Fauna Ameaçada de Extinção no Rio Grande do Sul, Porto Alegre, EDIPUCRS, 632p.
- BROSI, B. J., DAILY, G. C. & EHRLICH, P. R., 2007. Bee community shifts with landscape context in a Tropical Countryside. *Ecological Applications* **17(2)**: 418-430.
- BROSI, B. J.; DAILY, G. C.; SHIH, T. M.; OVIEDO, F. & DURÁN, G., 2008. The effects of forest fragmentation on bee communities in tropical countryside. *Journal of Applied Ecology* **45**: 773-783.
- BROWN, J. C. & ALBRETCHT, C., 2001. The effect of tropical deforestation on stingless bees of the genus *Melipona* (Insecta: Hymenoptera: Apidae: Meliponini) in central Rondonia, Brazil. *Journal of Biogeography* **28**: 623-634.
- CAMARGO, J. M. F. & MAZUCATO, M., 1984. Inventário da apifauna e flora apícola de Ribeirão Preto, SP, Brasil. *Dusenía* **14(2)**: 55-87.
- CAMERON, E. C.; FRANCK, P. & OLDROYD, B. P., 2004. Genetic structure of nest aggregations and drone congregations of the southeast Asian stingless bee *Trigona collina*. *Molecular Ecology* **13**: 2357-2364.

- CARVALHO, C. A. L.; SANTOS, F. M.; SILVA, R. F. & SOUZA, B. A., 2007. Phenology of bees (Hymenoptera: Apoidea) in a transition area between the cerrado and the Amazon region in Brazil. *Sociobiology* **50**(3): 1177-1190.
- CENTRO DE SENSORIAMENTO REMOTO DO IBAMA, 2009. Relatório técnico de monitoramento do desmatamento do Bioma Cerrado, 2002 a 2008: dados revisados. Acordo de cooperação técnica MMA/IBAMA/PNUD. URL: <http://siscom.ibama.gov.br/monitorabiomas/cerrado/cerrado.htm>
- CENTRO DE SENSORIAMENTO REMOTO DO IBAMA, 2010. Monitoramento do desmatamento nos biomas brasileiros por satélite. Acordo de cooperação técnica MMA/IBAMA/PNUD. Monitoramento do desmatamento do Bioma Caatinga, 2002 a 2008. URL: <http://siscom.ibama.gov.br/monitorabiomas/caatinga/caatinga.htm>
- D'EON, R. G. D.; GLENN, S. M.; PARFITT, I. & FORTIN, M. J., 2002. Landscape connectivity as a function of scale and organism vagility in a real forested landscape. *Conservation Ecology (online)* **6**(2): 10. URL: <http://www.consecol.org/vol6/iss2/art10>.
- DELGADO, J. M., BARBOSA, A. F., SILVA, C. E., ZANCHETA, D., GIANNOTTI, E., PINHEIRO, G. S., DUTRA-LUTGENS, H., FACHIN, H. C., MOTA, I. S., LOBO, M., NEGREIROS, O. C. & ANDRADE, W. J., 2004. Plano de manejo integrado das Unidades de Conservação de Itirapina, SP. Instituto Florestal de São Paulo.
- DRUMMOND, M. S., 2010. Melissofauna. in: Suzano Papel e Celulose S.A. Estudo de Impacto Ambiental - EIA da área de implantação do projeto florestal da Suzano, no Polo Porto Franco, Estado do Maranhão. Relatório Final SPC1108 R00 Volume I/II - Diagnóstico Sócio-Ambiental. Disponível em: URL http://www.stcp.com.br/Volume_I_II_03SPC1108_Rev00.pdf
- DRUMMOND, M. S., 2010 (2). Melissofauna. in: Suzano Papel e Celulose S.A. Estudo de Impacto Ambiental - EIA da área de implantação do projeto florestal da Suzano, na região de Timon, Estado do Maranhão. Relatório Final 03SPC1008 Rev0 Volume I/II - Diagnóstico Ambiental. Disponível em: URL http://www.stcp.com.br/EIA_TIMON_vol_I_II.pdf
- ELLIS, E. E. & RAMANKUTTY, N., 2008. Putting people in the map: anthropogenic biomes of the World. *Frontiers in Ecology and the Environment* **6**, doi: 10.1890/070062. www.frontiersinecology.org.
- ELTZ, T.; BRÜHL, C. A.; IMIYABIR, Z. & LINSSENMAIR, K. E., 2003. Nesting and nest trees of stingless bees (Apidae: Meliponini) in lowland dipterocarp forests in Sabah, Malaysia, with implications for forest management. *Forest Ecology and Management* **172**: 301-313.
- FARIA-MUCCI, G; MELO, A. A. & CAMPOS, L. A. O., 2003. A fauna de abelhas (Hymenoptera, Apoidea) e plantas utilizadas como fonte de recursos florais, em um ecossistema de campos rupestres em Lavras Novas, Minas Gerais, Brasil. In G. A.

- R. Melo & Alves-dos-Santos, I. Apoidea Neotropica: Homenagem aos 90 anos de Jesus Santiago Moure. Editora UNESC, Criciúma. p 241-256.
- FORERO-MEDINA, G. & VIEIRA, M. V., 2007. Conectividade funcional e a importância da interação organismo-paisagem. *Oecologia brasiliensis* **11**(4): 493-502.
- FREITAS, G. S.; ASSIS, A. F.; SOUZA, C. C. M.; SOUSA, J. & SOARES, A. E. E., 2009. O doce lar das baelhas indígenas sem ferrão. Revista Mensagem Doce Online, nº100, artigo 03. URL <http://www.apacame.org.br/mensagemdoce/100/artigo3.htm>
- GOUVÊA, P. C. L.; SILVA, M. D.; FLORENCE, C. T.; ROSA, J. F.; RAMALHO, M.; OLIVEIRA, J. P. L. & MONTEIRO, D., 2007. Efeito da fragmentação sobre a diversidade de Meliponina (Apidae) na escala da paisagem em mosaico no corredor central da Mata Atlântica (BA). *Anais do VII Congresso de Ecologia do Brasil*, Caxambu, MG.
- HAMMER, Ø.; HARPER, D.A.T. & RYAN, P. D., 2001. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Paleontologia Electronica* **4**(1): 9pp.
- KRAUS, F. B.; WEINHOLD, S. & MORITZ, R. F. A., 2008. Genetic structure of drone congregations of the stingless bee *Scaptotrigona mexicana*. *Insects Socieaux* **55**: 22-27.
- KERR, W. E. & MAULE, V., 1964. Geographic distribution of stingless bees and its implications (Hymenoptera: Apidae). *Journal of the New York Entomological Society* **72** (1): 2-18.
- LAROCA, S. & ALMEIDA, M. C., 1994. O relicto de cerrado de Jaguariaíva, (Paraná, Brasil): I. padrões biogeográficos, melissocenoses e flora melissófila. *Acta Biologica Paranaense* **23** (1, 2, 3, 4): 89-122.
- LOPES, L. A.; FREITAS, S. W & IMPERATRIZ-FONSECA, V. L., 2010. Comunidades de abelhas sem ferrão (Meliponini) em fragmentos de floresta ombrófila e campos de altitude , no Município de Cambará do Sul, RS. *Anais do IX Encontro Sobre Abelhas*, Ribeirão Preto, SP.
- MACHADO, A. B. M.; FONSECA, G.A.B; MACHADO, R. B.; AGUIAR, L. M. S. & LINS, L. V., 1998. Livro Vermelho das Espécies Ameaçadas de Extinção da Fauna de Minas Gerais. Biodiversitas, Belo Horizonte.
- MACHADO, A. B. M.; BRESCOVIT, A. D.; MIELKE, O. H.; CASAGRANDE, M.; SILVEIRA, F. A.; OHLWEILER, F. P.; ZEPPELINI, D.; MARIA, M. M. & WIELOCH, A. H., 2008. Invertebrados terrestres. In: Machado, A. B. M.; Drummond, G. M. & Paglia, A. P. (eds.). Livro Vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção. MMA; Fundação Biodiversitas, Belo Horizonte, MG.

- MANNING, A. D.; LINDENMAYER, D. B. & NIX, H. A., 2004. Continua and Umwelt: novel perspectives on viewing landscapes. *Oikos* **104**(3): 621-628.
- MARTINS, C. F., 1984. Comunidade de abelhas (Hym., Apoidea) da caatinga e do cerrado com elementos de campo rupestre do Estado da Bahia, Brasil. *Revista Nordestina de Biologia* **9**(2): 225-257
- MARTINS, C. F.; CORTOPASSI-LAURINO, M.; KOEDAM, D. & IMPERATRIZ-FONSECA, V. L., 2004. Tree species used for nidification by stingless bees in the Brazilian caatinga (Seridó, PB; João Câmara, RN). *Biota Neotropica* **4**(2): 1-8.
- MICHENER, C. D., 1979. Biogeography of bees. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **66**(3): 227-347.
- MIKICH, S. B.; BERNILS, R. S. & PIZZI, P. A., 2004. Livro Vermelho da Fauna Ameaçada no Estado do Paraná. Curitiba: Instituto Ambiental do Paraná. Disponível em <http://www.maternatura.org.br>.
- MORETI, A. C. C. C.; ANACLETO, D. A.; D'AVILA, M.; VIEIRA, G. H. C. & MARCHINI, L. C., 2006. Abelhas visitantes em vegetação de diferentes remanescentes de cerrado. *Magistra, Cruz das Almas* **18**(4): 229-248.
- NOGUEIRA-FERREIRA, F. H. & AUGUSTO, S. C., 2007. Amplitude de nicho e similaridade no uso de recursos florais por abelhas eussociais em uma área de cerrado. *Bioscience Journal* **23** (supp.1):45-51.
- NOGUEIRA-FERREIRA, F. H. & SIQUEIRA, E. N. L., 2008. Mapeamento e monitoramento de ninhos de abelhas sem ferrão no triângulo mineiro. Boletim SOS Abelhas Nativas 9 (ano I): URL: http://www.apisguia.com.br/?pagina=informativo_ver&id=72
- PAXTON, R. J., 2000. Genetic structure of colonies and male aggregation in stingless bee *Scaptotrigona postica*, as revealed by microsatellite analysis. *Insects Sociaux* **47**: 63-69.
- PEREIRA, U. C. R., 2004. Ninhos de Meliponinae (Hymenoptera, Apidae) do Parque Municipal do Bacaba, Nova Xavantina – MT. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade do Estado do Mato Grosso.
- RASMUSSEN, C. & CAMARGO, J. M. F., 2008. A molecular phylogeny and the evolution of nest architecture and behavior in *Trigona* s.s. (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). *Apidologie* **39**: 102–118.
- REGO, M. M. C., 1998. Abelhas silvestres (Hym. Apoidea) em um ecossistema de cerrado s. l. (Chapadinha - MA, Brasil): uma abordagem biocenótica. Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo. Tese de doutorado.
- REGO, M. M. C.; ALBUQUERQUE, P. M. C. & VENTURIERI, G., 2008. Biodiversidade de abelhas sem ferrão (Meliponini) no cerrado de Balsas (Sul do

- Maranhão, Brasil) e seu manejo como alternativa de sustentabilidade e conservação. *IX Simpósio Nacional do cerrado e II Simpósio Internacional de Savanas Tropicais, Brasília*: 1-6.
- RIBEIRO, M. F.; RODRIGUES, F. & FERNANDES, N. S., 2009. Ocorrência de ninhos de abelhas sem ferrão (Hymenoptera, Apoidea) em centros urbanos e áreas rurais do pólo Petrolina (PE) - Juazeiro (BA). *Revista Brasileira de Agroecologia* **4(2)**: 3843-3847.
- ROUBIK, D., 1989. Ecology and natural history of the tropical bees. Cambridge Tropical Biology series. Cambridge University Press.
- ROUBIK, D., 2006. Stingless bee nesting biology. *Apidologie* **37**: 124-143.
- SANTIAGO, L. R.; BRITO, R. M.; MUNIZ, T. M. V. L.; OLIVEIRA, F. F. & FRANCISCO, F. O., 2009. A fauna apícola do Parque Municipal da Cachoeirinha (Iporá, GO). *Biota Neotropica* **9(3)**: 393-397.
- SANTOS, F. M., CARVALHO, C. A. L. & SILVA, R. F., 2004. Diversidade de abelhas (Hymenoptera, Apoidea) em uma área de transição Cerrado-Amazônia. *Acta Amazonica* **34(2)**: 319-328.
- SCHLINDWEIN, C., 1998. Frequent oligolecty characterizing a diverse bee-plant community in a xerophytic bushland of subtropical Brazil. *Studies in Neotropical Fauna & Environment* **33**: 46-59.
- SERRA, B. D. V.; DRUMMOND, M. S.; LACERDA, L. M. & AKATSU, I. P., 2009. Abundância, distribuição espacial de ninhos de abelhas Meliponina (Hymenoptera, Apidae, Apini) e espécies vegetais utilizadas para nidificação em áreas de cerrado do Maranhão. *Iheringia, Série Zoológica* **99(1)**: 12-17.
- SHANNON, C. E. & WEAVER, W., 1949. The mathematical theory of communication. University of Illinois Press, Urbana, IL. 117 pp.
- SILVA, M. D. ; RAMALHO, M.; GURGEL, Z. E. ; FLORENCE, C. T.; OLIVEIRA, J. P. L.; GOUVEA, P. C. L.; MONTEIRO, D. ; ROSA, J. F.; ALMEIDA, M. E., 2008. Diversidade de ninhos de Meliponina (Apidae) na escala da paisagem em mosaico no corredor central da Mata Atlântica (BA). *VIII Encontro sobre abelhas. Biodiversidade e uso sustentado de abelhas*, Ribeirão Preto, SP
- SIQUEIRA, E. L.; MARTINES, R. B. & NOGUEIRA-FERREIRA, F. H., 2007. Ninhos de abelhas sem ferrão (Hymenoptera, Meliponina) em uma região do Rio Araguari, Araguari, MG. *Bioscience Journal* **23(supp.1)**: 38-44.
- TAURA, H. M. & LAROCA, S., 1991. Abelhas altamente sociais (Apidae) de uma área restrita em Curitiba (Brasil): Distribuição dos ninhos e abundância relativa. *Acta Biologica Paranaensis* **20(1,2,3,4)**: 85-101.

- TEIXEIRA, A. F. R. & VIANA, B. F., 2005. Distribuição e densidade dos sítios nidificados pelos meliponíneos do médio São Francisco, Ibiraba, Barra, Bahia. *Revista Nordestina de Zoologia* **2(1)**: 5-20.
- TER BRAAK, C. J. F., 2005. Ordination. *In*: Jongman, R. H. G.; ter Braak, C. J. F. & van Tongeren, O. F. R., eds. Data analysis in community and landscape ecology. Cambridge University Press, 10th ed. 321p.
- VIANA, B. F.; KLEINERT, A. M. P. & IMPERATRIZ-FONSECA, V. L., 1997. Abundance and flower visits of bees in a cerrado of Bahia, Tropical Brazil. *Studies in Neotropical Fauna & Environment* **32**: 212-219.
- ZANETTE, L. R. S.; MARTINS, R. P. & RIBEIRO, S. P., 2005. Effects of urbanization on Neotropical wasp and bee assemblages in a Brazilian metropolis. *Landscape and Urban Planning* **71**: 105-121.

**Capítulo 3- Relacionamento genético entre colônias de
Trigona spinipes da Estação Ecológica de Itirapina (SP) e
distância de forrageamento das operárias**

Capítulo 3: Relacionamento genético entre colônias de *Trigona spinipes* da Estação Ecológica de Itirapina (SP) e distância de forrageamento das operárias

RESUMO:

Espécies agressivas de meliponíneos tendem a se distribuir de maneira uniforme na paisagem, evitando a competição entre colônias aparentadas, o que levaria a uma relação entre a distância física e a distância genética das colônias. *Trigona spinipes* é considerada uma espécie agressiva de Meliponini. Suas operárias são agressivas tanto na defesa do ninho, como na exploração de um recurso. Elas forrageiam em grupos de duas ou mais operárias e podem monopolizar um recurso, expulsando indivíduos de outras espécies e coespecíficos de colônias diferentes. Dada essa agressividade, seria esperado um espaçamento uniforme de suas colônias. No entanto, como sítios de nidificação não são limitantes para essa espécie, não haveria competição entre as colônias por esse recurso. Seria esperada, então, uma distribuição não-uniforme das colônias, refletida em uma ausência de relação entre as distâncias físicas e genéticas. Ainda assim, poderia haver competição por alimento, que poderia se dar pela monopolização de um recurso e pela sua exploração diferencial. O escopo deste trabalho foi verificar o grau de relacionamento genético entre as colônias e entre as campeiras e a distância e direção de forrageamento das operárias de *T. spinipes* na EEI. Para isso, foi realizado um estudo de relacionamento genético baseado em marcadores de microsatélites a partir de seis pares de oligonucleotídeos desenhados para a espécie e um par heterólogo, além de um experimento de marcação e recaptura. Os resultados indicam que: 1) existe um certo grau de relacionamento genético entre as colônias, mas esse grau não é elevado; 2) colônias próximas entre si não são mais aparentadas que colônias mais distantes, indicando que a distribuição das colônias no campo pode se dar não pela limitação de sítios, mas sim pelo padrão de distribuição da vegetação; 3) operárias forrageando em um mesmo recurso provêm todas de um único ninho, indicando monopolização de recurso 4) a distância de forrageamento é maior que a distância entre colônias vizinhas, indicando amplo espectro de busca por recursos alimentares; 5) a direção de forrageamento das operárias em relação à entrada da colônia é aleatória, indicando área circular de procura por alimento; e 6) a linha de entrada de uma colônia raramente intercepta a linha de entrada da colônia vizinha, o que pode minimizar conflitos entre elas.

Palavras-chave: *Trigona spinipes*, relacionamento genético, forrageamento, microsatélite, competição

Chapter 3: Genetic relatedness among *Trigona spinipes* nests at Estação

Ecológica de Itirapina (SP) and worker foraging distance

ABSTRACT:

Aggressive species of stingless bees tend to distribute evenly in the landscape, avoiding competition between kin colonies, leading to a relationship between physical distance and genetic distance of the colonies. *Trigona spinipes* is considered an aggressive species of Meliponini. Its workers are so aggressive in defending the nest, as in exploitation of a resource. They forage in groups of two or more workers and can monopolize a resource by expelling individuals from other species and conspecifics from different colonies. Given that aggression, one could expect a uniform spacing of their nests. However, as nesting sites are not limiting for this species, there would be no competition between colonies for this resource. It would be expected then a non-uniform distribution of the nests, as reflected in a lack of relationship between physical and genetic distances. Still, there could be competition for food, which could happen by the monopolization of a resource and its differential exploitation. The scope of this study was to assess the degree of genetic relationship between colonies and between foraging workers of *T. spinipes*, and to evaluate their foraging distance and direction from the nest. For this, we conducted a study of genetic relatedness based on microsatellite markers from six pairs of primers designed for the species and a heterologous pair, plus a mark-recapture experiment. The results indicate that: 1) there is a degree of genetic relatedness between colonies, though this level is not high; 2) neighboring nests are not more closely related than more distant colonies, indicating that colonies distribution may not be limited by nesting sites, but according to the distribution pattern of vegetation; 3) workers foraging on a same resource arise from a single nest, indicating resource monopolization; 4) foraging distance is greater than the distance between neighboring colonies, indicating a broad spectrum of search for food resources; 5) the direction of foraging workers in relation to nest entrance is at random, indicating a circular area for food search; and 6) the entrance line of a colony rarely intersects the entrance line of the neighboring nest, which can minimize conflicts between them.

Key-words: *Trigona spinipes*, genetic relatedness, foraging, microsatellite, competition

Introdução:

Diferentemente de outras espécies de Apidae altamente eussociais, os meliponíneos produzem enxames que não se dispersam por longas distâncias para a fundação de novas colônias. Quando há reprodução da colônia, as operárias da colônia-mãe preparam um novo ninho, distante até poucas centenas de metros desta. Uma ou mais rainhas virgens migram então com um grupo de operárias para o novo ninho e, de uma semana a seis meses, dependendo da espécie, há contato entre as colônias mãe e filha (referências em Roubik, 2006). Assim, colônias vizinhas tendem a ser mais aparentadas que colônias mais distantes, ou seja, são geneticamente mais relacionadas.

O relacionamento genético, no entanto, não será o mesmo entre as operárias de uma mesma colônia e operárias de colônias aparentadas. Dentro da mesma colônia, o grau de relacionamento médio entre as operárias é de 0,75 (Queller & Strassmann, 1998). Entre as operárias de colônias mãe e filha, depois que se encerra a dependência inicial das duas, o grau de relacionamento médio será de 0,375 (Queller & Strassmann, 1998). Assim, pela regra de Hamilton (1964), é mais vantajoso para as operárias investirem na própria colônia do que na colônia filha. Por isso, a fundação de um novo ninho deve ter o menor custo possível para as operárias da colônia mãe, reduzindo o máximo possível a distância entre as duas colônias. Pois, diminuindo-se a distância que as operárias precisam percorrer para preparar e manter o novo ninho, diminui-se o gasto energético do vôo e o risco de predação sobre as operárias.

Uma vez estabelecida e independente, a colônia-filha passará a procurar alimento por si mesma. A área que uma colônia utiliza para procurar alimento pode variar de acordo com a espécie, com a disponibilidade de alimento em campo ou, ainda, com o tamanho da operária (e.g. Greenleaf *et al.*, 2007). Dependendo do tamanho da área de forrageamento e do espaçamento entre as colônias, poderá haver sobreposição

de áreas, tanto entre as colônias mãe e filha, como entre colônias menos aparentadas. Em caso de limitação de recurso, poderá haver competição entre as colônias.

A competição intraespecífica, seja por alimento ou por locais de nidificação, é um dos aspectos que podem determinar a distribuição espacial das colônias em uma área. Espécies pouco agressivas tendem a apresentar um espaçamento randômico de colônias, enquanto espécies agressivas tendem a apresentar espaçamento uniforme (Hubell & Johnson, 1977; Breed *et al.*, 1999). Do ponto de vista da estrutura populacional, esse espaçamento uniforme levaria a uma relação entre a distância física e a distância genética entre as colônias.

O espaçamento uniforme poderia ser resultado de um conflito entre a necessidade de proximidade entre as colônias mãe e filha, devido à dependência inicial entre elas, e a máxima distância possível, para evitar a competição entre as duas. Isso ocorreria por duas razões: primeiramente, as operárias da colônia mãe devem coletar alimento para sua própria colônia; além disso, deve haver um balanço entre o custo com a defesa e monopolização de um recurso e o custo inicial de manutenção da colônia filha. Se a colônia filha estiver tão próxima da colônia mãe que ambas tenham que competir pelo mesmo recurso, a ponto de afetar a sobrevivência de uma delas, todo o custo de fundação da nova colônia terá sido perdido. Assim, o espaçamento uniforme seria uma otimização entre a manutenção da colônia filha e a evitação da competição.

A competição ocorre quando há limitação de recurso, e pode ser verificada pela forma como dois indivíduos diferentes se comportam frente a um mesmo recurso. Quando duas operárias de colônias diferentes encontram um mesmo recurso, há três formas possíveis de interação entre elas: i) compartilham o recurso, se ele for abundante; ii) exibem *displays* agressivos e uma delas desiste do recurso, sem enfrentamento; ou iii) as duas lutam entre si, havendo enfrentamento físico. Cada uma

das formas apresenta um custo, seja pela divisão do valor do recurso, pelo tempo gasto na procura de um novo recurso, ou ainda pelo risco de injúria, em caso de enfrentamento. A estratégia utilizada por uma abelha, nesse caso, vai depender do valor do recurso, da capacidade de defendê-lo e da espécie de abelha. Espécies agressivas tendem a atacar outras abelhas em uma flor onde procura recurso, enquanto espécies menos agressivas tendem a desistir frente a um indivíduo agressivo (e.g. Nieh *et al.*, 2005). Pode haver ainda diferença no tipo de recurso explorado: enquanto espécies agressivas tendem a dominar recursos agregados e conspícuos, espécies menos agressivas tendem a explorar recursos esparsos e inconspícuos (Hubbell & Johnson, 1978; Johnson, 1981).

Trigona spinipes é um exemplo de espécie agressiva de Meliponini. Operárias dessa espécie são agressivas tanto na defesa da colônia, como na exploração de um recurso. Elas forrageiam em grupos de duas ou mais operárias e podem monopolizar um recurso, expulsando abelhas de outras espécies, inclusive maiores do que elas (Nieh *et al.*, 2005). No caso de coespecíficos, também pode haver luta entre operárias de colônias diferentes, assim como enfrentamento estereotipado (Nieh *et al.*, 2004). Se somada essa agressividade na exploração do recurso alimentar à limitação desse recurso, seria esperado que suas colônias se distribuíssem de maneira uniforme.

Por outro lado, os ninhos dessa espécie são aéreos (Almeida & Laroca, 1988). Por serem aéreos, os ninhos não estão sujeitos à limitação de sítios, já que essas abelhas podem construir suas colônias sobre troncos mortos, mourões de cerca e mesmo sobre postes de iluminação (observação pessoal). Dessa forma, a distribuição das colônias em uma dada área não seria necessariamente uniforme, mas poderia seguir o padrão de distribuição da vegetação. Isso porque, por um lado, seria mais vantajoso para as operárias da colônia mãe prepararem o novo ninho minimizando a distância que teriam

que percorrer para prepará-lo. Por outro lado, sem limitação de sítios, colônias não aparentadas poderiam nidificar próximas umas às outras. Assim, em termos de estrutura populacional, a distância genética entre as colônias não teria relação com a distância física, e colônias vizinhas seriam tão aparentadas entre si como com qualquer outra colônia, resultando em um baixo relacionamento genético entre colônias próximas.

A proximidade entre colônias poderia levar à competição por alimento, caso este fosse um recurso limitante, que poderia ser evitada pela monopolização de um recurso por operárias da mesma colônia. Nesse caso, seria esperado que um grupo de operárias forrageando em uma mesma flor pertencessem todas ao mesmo ninho. Além disso, as colônias poderiam minimizar a competição entre si explorando recursos diferentes. Essa exploração poderia se dar de duas formas: por forrageamento em setor ou pela procura por alimento em uma grande área. No primeiro caso, se a área de forrageio fosse maior na direção da entrada da colônia, e menor ou ausente na área oposta à entrada, haveria competição menor entre abelhas de colônias com pouca ou nenhuma sobreposição de setor. No segundo caso, se o raio de forrageamento fosse maior que a distância entre colônias vizinhas, aumentaria a probabilidade de a colônia encontrar um recurso não explorado pela vizinha, diminuindo a competição e a necessidade de espaçamento uniforme entre colônias.

O objetivo deste trabalho foi verificar: a) se em uma população de colônias de *T. spinipes* distribuídas de maneira não uniforme, as colônias vizinhas possuiriam baixo relacionamento genético entre si e b) se a competição por alimento seria resolvida pela monopolização de recurso, pela busca de recursos diferentes ou por uma composição de ambos. Para isso, procurou-se responder às seguintes perguntas: 1) qual o grau de relacionamento genético entre as colônias de *T. spinipes* da população? 2) a distância física ou geográfica entre as colônias é proporcional à distância genética? 3) operárias

forrageando em um mesmo recurso provêm de um único ninho? 4) a distância média de forrageamento de *T. spinipes* na área estudada é maior que a distância física média entre colônias vizinhas? 5) as entradas de colônias vizinhas são construídas de maneira a evitar a direção da entrada umas das outras? 6) existe direção preferencial de forrageamento das operárias em relação à direção da entrada da colônia?

Materiais e Métodos

Área estudada e levantamento de ninhos

O levantamento e mapeamento das colônias de meliponíneos na Estação Ecológica de Itirapina (EEI) e na área de cerradão do Instituto Arruda Botelho (IAB) estão descritos no capítulo 1. Dos 50 ninhos encontrados, 42 eram de *Trigona spinipes* (37 encontrados na EEI e cinco encontrados no IAB). A distribuição das colônias levantadas apresentou espaçamento aleatório ou agregado, dependendo da fitofisionomia considerada. Dos 42 ninhos, 33 foram utilizados neste estudo (31 da EEI e dois do IAB). Os demais ninhos não foram incluídos porque não foi possível coletar suas operárias devido à altura do ninho, ou porque o material se degradou entre o campo e o laboratório. Os ninhos foram mapeados e a distância entre os vizinhos mais próximos foi medida com auxílio do programa ArcGis® 9.2 (Figura 1).

Figura 1. Ninhos de *T. spinipes* (pontos vermelhos) levantados. Os numerados foram utilizados neste estudo. Barra vermelha: escala (500 m).

Construção de uma biblioteca enriquecida de microssatélites para *Trigona spinipes*

Para a análise do relacionamento genético entre as colônias selecionadas foi realizada a construção de uma biblioteca enriquecida de microssatélites para *T. spinipes*, segundo o método proposto por Billote *et al.* (1999), com modificações de Brito *et al.* (2009), conforme detalhamento a seguir.

Extração de DNA genômico

Para a construção da biblioteca, foram retirados os tóraxes de 21 operárias de *T. spinipes* provenientes de três ninhos da EEI. As operárias coletadas em campo foram acondicionadas em frascos plásticos e mortas e mantidas em congelador até sua utilização. A extração do DNA foi feita por extração com fenol/clorofórmio: os tóraxes foram macerados em tubos de microcentrífuga contendo 300µl de solução composta por Tris 10 mM, NaCl 300 mM e EDTA 5mM, pH 7.0). Acrescentaram-se SDS à concentração final de 0,8% e proteinase-K à concentração final de 100µg/ml e incubou-se a 65°C por 20 minutos. Adicionou-se RNase à mistura e incubou-se por cinco minutos à temperatura ambiente. Em seguida, adicionaram-se 300µl de uma mistura de fenol/clorofórmio, inverteram-se os tubos três vezes e centrifugou-se por cinco minutos. Transferiram-se 300µl do sobrenadante a um tubo limpo e acrescentaram-se 600µl de etanol absoluto. Os tubos foram invertidos algumas vezes e centrifugados por cinco minutos. Acrescentaram-se 200µl de etanol a 70% e centrifugaram-se os tubos por cinco minutos. O etanol foi descartado e os tubos secos em câmara de vácuo. Posteriormente, o DNA foi ressuspenso em 30µl de TE (Tris 10mM e EDTA 1mM, pH 8.0). Uma alíquota do DNA foi digerido com a enzima RsaI, que gera extremidades cegas.

Ligação aos adaptadores Rsa21 e Rsa25 e enriquecimento das amostras

Os fragmentos obtidos com a digestão mencionada foram ligados a 10 μ M de cada um dos adaptadores Rsa21 (5'TCTTGCTTACGCGTGGACTA3') e Rsa25: (5'TAGTCCACGCGTAAGCAAGAGCACA 3'), utilizando 4U da enzima T4 DNA ligase, e incubados a 20°C por duas horas. Posteriormente, os fragmentos foram submetidos a uma reação de PCR para amplificar o número de fragmentos com os adaptadores. Para isso, utilizou-se 5 μ l da ligação, 1,5 μ l de MgCl₂ a 50mM, 4 μ l de dNTP a 2mM cada, tampão da enzima, 2 μ l do oligonucleotídeo (*primer*) Rsa21 (a 10 μ M) e 5U de Taq DNA polimerase Invitrogen®, para volume final de 50 μ l. A reação foi colocada a 95°C por quatro minutos, seguindo-se 20 ciclos (30'' a 94°C, 1' a 60°C, 1' a 72°C) e adicionalmente, oito minutos a 72°C. Os fragmentos obtidos foram purificados através do kit DNA Clean-Up (Promega), conforme instruções do fabricante.

Seleção de fragmentos contendo microssatélites

Para a seleção dos fragmentos contendo microssatélites, foram utilizadas sonda com repetições (GA)₈ e (AGA)₅ marcadas com biotina, de acordo com o método proposto por Hamilton *et al.* (1999). Acrescentou-se 400 μ L de água a 100 μ l do DNA purificado, que foi desnaturado a 95°C por 15 minutos. Acrescentaram-se 13 μ l de SSC 20X e 3 μ L de cada sonda (50 μ M) e incubou-se por 20 minutos à temperatura ambiente, agitando-se ocasionalmente. Acrescentaram-se 100 μ L de estreptavidina magnetizada (Streptavidin Magnesphere-Paramagnetic Particles, Promega®) previamente lavada conforme recomendação do fabricante e agitou-se por 10 minutos, para que a estreptavidina se ligasse à biotina das sondas marcadas. A mistura foi adicionada a colunas magnéticas, que atraíam os fragmentos hibridizados devido à ligação da sonda com a estreptavidina

magnetizada. O sobrenadante foi aspirado e a coluna foi lavada com 300µl de SSC 0,1X por três vezes. Por fim, lavou-se a coluna com água para a recuperação dos fragmentos de interesse. Os fragmentos purificados foram amplificados por PCR novamente, utilizando-se o *primer* específico do adaptador Rsa21.

O produto amplificado foi purificado por precipitação com etanol absoluto/acetato de amônio 7,5µM, lavado e ressuspenso em TE 1X. Os fragmentos foram então ligados aos plasmídeos pGEM-T (Promega), conforme instruções do fabricante. Células competentes de *Escherichia coli* foram transformadas com o plasmídeo ligado e plaqueadas em meio LB-ágar contendo X-Gal e ampicilina e incubados a 37°C por 18 horas. Quarenta e oito colônias brancas foram selecionadas da placa com um palito, inoculadas em 5ml de meio LB líquido com ampicilina e agitadas a 37°C por 18 horas.

Para a recuperação do plasmídeo de interesse, realizou-se a extração através do kit *PureLink Quick Plasmid Miniprep Kit* (Invitrogen), conforme orientações do fabricante. Uma alíquota do produto purificado foi digerida com a enzima *Eco*-RI e submetida a eletroforese em gel de agarose a 0,8%, corado com brometo de etídio, para a confirmação da existência do inserto de interesse, que foi obtida para 32 clones.

Sequenciamento, identificação de loci de microssatélites e desenho dos

primers

Os insertos dos clones obtidos foram sequenciados através do kit *Big Dye Terminator v.3.1* (Applied Biosystems), conforme instruções do fabricante. Como *primer*, foi utilizado o M13-F, complementar a uma região do plasmídeo próxima à região do inserto. O sequenciamento foi realizado no Departamento de Química da Universidade de São Paulo. A procura por sequências com regiões repetitivas tipo

microssatélite foi feita manualmente, através da sua visualização no programa BioEdit (Hall, 1999). As melhores sequências (10) foram selecionadas e suas regiões flanqueadoras foram comparadas a outras sequências através do GeneBank, para certificar-se não se tratar de sequências complementares. As regiões flanqueadoras das repetições foram utilizadas para o desenho dos *primers*, que foi feito com o auxílio do programa Primer3 (Rozen & Skaletsky, 1998). As sequências desenhadas foram sintetizadas pela empresa Prodimol e os *primers* sintetizados foram ressuspensos em Tris 10mM para concentração final de 200 μ M.

Padronização das condições de PCR para análise de fragmentos em gel de poliacrilamida e avaliação do polimorfismo dos loci obtidos

Para a padronização das condições de PCR, os *primers* desenhados foram utilizados para amplificar DNA genômico extraído pelo método de Chelex (Walsh *et al.*, 1991) do tórax de operárias de *T. spinipes* provenientes de ninhos da EEI.

Os *primers* obtidos foram utilizados em reações de PCR com diferentes temperaturas de hibridização, para verificar qual a melhor temperatura para cada par de *primer*. Os fragmentos obtidos foram separados por eletroforese em gel de poliacrilamida a 5,6%, corados com nitrato de prata e fotografados para posterior análise de seus tamanhos. Dos 10 pares de *primers*, foi possível a padronização de oito.

Para verificar o polimorfismo dos loci obtidos, foram coletadas operárias em flores de 12 localidades diferentes do Estado de São Paulo (Analândia, Brotas, Jardim Botânico de São Paulo, Araçariguama, Piracicaba, Cananéia, Santa Gertrudes, Itupeva, Pirassununga, Cidade Universitária de São Paulo, Parque Ecológico do Tietê), além de três ninhos provenientes de Itirapina, sendo um da EEI, um do IAB e um da cidade. Seis

dos oito *primers* padronizados apresentaram polimorfismo e foram utilizados neste estudo.

Padronização das condições de PCR para análise em sequenciador automático

A possibilidade de utilização de um sequenciador automático para a obtenção dos fragmentos de microssatélites mostrou-se mais viável que o uso dos géis de poliacrilamida, reduzindo o tempo de bancada e aumentando a precisão dos resultados. Dessa forma, os seis *primers* polimórficos obtidos pela análise com os géis foram redesenhados para seu uso com o sequenciador automático. Na extremidade 5' do par *forward* (complementar ao sentido 5'-3') de cada *primer* foi acrescentada uma cauda (5'-TGTAACGACGGCCAGT-3') complementar ao *primer* universal M13 que, por sua vez, foi marcado com fluoróforos de cores diferentes (NED, amarelo; HEX, verde; e FAM, azul). Devido à adição da cauda, a temperatura ótima para a hibridização teve que ser padronizada novamente. Para isso, foram feitas diversas reações de PCR com diferentes temperaturas de hibridização e concentrações de MgCl₂.

Análise do relacionamento genético entre as colônias da EEI

Foram coletadas cinco operárias de cada ninho para a genotipagem. De dois ninhos da EEI que apresentavam duas entradas foram coletadas cinco operárias de cada entrada, tratadas nas análises iniciais como ninhos diferentes.

O DNA genômico de cada operária foi obtido por extração com Chelex, a partir do tórax. Dos 175 indivíduos coletados, oito foram descartados por não apresentarem amplificação para nenhum loco, provavelmente devido à degradação do DNA entre a coleta e o laboratório.

O perfil de microssatélites de cada indivíduo foi obtido por amplificação por PCR com os seis *primers* desenhados para *T. spinipes* e um desenhado para *Tetragonisca angustula* (Loco Tang60, repetição (AG)₂₇, conforme especificado em Brito *et al.*, 2009). Para as reações, feitas em volume final de 5µl, foram utilizados 1µl de DNA genômico de cada indivíduo, 0,5µM do *primer forward* adicionado da cauda, 5µM do *primer reverse*, 5µM do *primer* M13 marcado com um fluoróforo, 0,5U de Taq DNA polimerase Invitrogen® (e seu respectivo tampão) e 0,4µl de MgCl₂ (a 50mM). As temperaturas de hibridização e os tamanhos esperados dos fragmentos estão resumidos na Tabela I. Para o loco Tang60, a temperatura de anelamento utilizada foi de 54°C. O produto da PCR foi diluído 1:10 e 2µl da diluição foram adicionados a formamida misturada com um marcador de peso molecular marcado com um fluoróforo de cor diferente. As análises foram feitas em sequenciador automático, no Centro de Estudos do Genoma Humano do IB-USP.

Tabela I. Característica dos locos microssatélites isolados de *Trigona spinipes* e utilizados na análise de relacionamento genético de indivíduos de 33 colônias. TA: temperatura de anelamento; k: número de alelos encontrados; TO: variação de tamanho observada.

Loco	Repetição	Seqüência do <i>primer</i> 5'-3'	TA	K	TO
Trig1B	AGA(GG) ₄ (AG) ₇ GG(AG) ₂	F: TGGACTAACCGGCTGTGG R: ATTCTCTCGCTCGCGTCT	54°C	13	162-180
Trig1D	(CT) ₄ CC(CT) ₁₂	R: CGCAAGTCACACGCCATC F: CTTCTCGTCCGACCGAACT	54°C	18	151-188
Trig2A	(GA) ₂₂	F: TTGAGAGGCCACCGTATTG R: ACGTCTGGCTCTTCAGGTT	48°C	13	149-174
Trig2F	(GA) ₁₄ (AGG) ₂	F: AAGGATGTTTGGGTGATCC R: CCGAGTGATGCGAGTTGA	54°C	13	201-217
Trig3G	(CT) ₂ (AA) ₈	F: GCATTCCCCATTGGATTT R: GCGGACGTCTTCTTGATTG	54°C	8	182-200
Trig4D	(GA) ₈ AA(GA) ₁₀	F: GAAAGCGATTAACGCTCAAA R: CGTTCAACCACACCGACA	54°C	11	111-138

Distância e direção de forrageamento das operárias

A distância de forrageamento das operárias foi determinada pelos dados moleculares e por um experimento de marcação e recaptura. Para a análise da distância de forrageamento pelos dados moleculares, foram traçados dois transectos (1.700 m e 2.300 m) de formato espiral em torno de dois ninhos da EEI, localizados em áreas com outros ninhos nas proximidades (Figura 2). Os transectos foram percorridos entre 8:00 h e 17:00 h simultaneamente por dois coletores. Todas as operárias de *T. spinipes* localizadas forrageando foram coletadas com puçá e tiveram sua posição marcada por GPS. As abelhas capturadas foram congeladas. Foram coletadas 52 operárias, em 24 pontos diferentes. A extração do DNA e a caracterização de seus loci de microssatélites foram feitos da mesma forma descrita anteriormente.

Para o experimento de marcação e recaptura, foi construída uma armadilha composta por um funil invertido acoplado a uma placa de espuma e conectado a um segundo funil por uma mangueira de borracha transparente, conforme sugestão e com o auxílio do técnico Paulo César Fernandes. Da ponta do segundo funil partia uma outra mangueira, conectada a uma garrafa pet. O funil invertido era acoplado à entrada do ninho, de forma que as abelhas eram forçadas a sair e retornar pelo funil. O aparato foi mantido em três ninhos por três semanas, para que as abelhas se acostumassem a ele. Para os experimentos, o segundo funil era substituído por um terceiro funil, cuja extremidade era conectada a uma garrafa pet (Figura 3). Dessa forma, as abelhas que retornavam ao ninho ficavam retidas na garrafa.

Dos três ninhos em que o aparato foi mantido, em apenas um foi possível realizar o experimento de marcação e recaptura, pois em dois ninhos as abelhas abriram entradas alternativas e tamparam com cera a entrada do funil. No ninho em que o aparato funcionou, o funil com a garrafa foi colocado na entrada do ninho no início da manhã e

mantido por duas horas, para a coleta das forrageiras em retorno. As abelhas coletadas foram anestesiadas com gelo e levadas à base de pesquisa, onde foram marcadas com tinta plástica atóxica no tórax. Foram marcadas 90 operárias com combinações de cores de acordo com a distância (300 m, 600 m e 900 m) e a direção (em frente à entrada, atrás da entrada e a 90° da entrada) em que seriam liberadas. Em cada ponto foram liberadas 10 operárias. A garrafa vazia foi acoplada à entrada novamente e mantida por duas horas. Após esse período, a garrafa foi recolhida e mantida no congelador para a contagem das abelhas marcadas que retornaram.

Para avaliar a sobreposição da direção das entradas dos ninhos, a posição geográfica de cada entrada foi determinada em campo. Os ninhos foram mapeados e para cada um desenhou-se a direção geográfica da sua entrada e o seu prolongamento em linha reta. Verificou-se se o prolongamento da linha da entrada interceptaria ou não o prolongamento da entrada do ninho mais próximo. Os valores resultantes foram submetidos a um teste de χ^2 .

Figura 2. Ninhos de *T. spinipes* (pontos vermelhos) levantados, sendo os numerados os utilizados neste estudo, e pontos de coleta (asteriscos azuis) das operárias nas flores para medição da distância de forrageio. As espirais negras representam os transectos percorridos. Barra vermelha: escala (500 m).

Figura 3. Armadilhas utilizadas nos experimentos de marcação e recaptura. 1: ninho de *Trigona spinipes*; 2: elástico prendendo a armadilha ao ninho; 3: espuma para vedar a entrada do ninho; 4: funil invertido, encaixado na entrada do ninho; 5: funil de escape ligado ao funil invertido, permitindo o livre fluxo das operárias; 6: garrafa com funil, substituindo o funil de escape, com abelhas capturadas em seu interior; 7: abertura com tela para retirada das abelhas e refrigeração da garrafa.

Análise dos dados

A diversidade genética dos ninhos amostrados foi verificada através do número de alelos por loco, da análise do polimorfismo dos loci, do desequilíbrio de ligação e pelo desvio ao equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE), medido através de teste de probabilidade (H_0 = sem desvio) e por teste de deficiência de heterozigotos (H_1 = deficiência de heterozigotos). A significância do desvio foi inferida pelo método de cadeia de Markov, com pelo menos 100 iterações (o número de iterações foi aumentado até que o erro padrão fosse próximo ou inferior a 0,01). Foram calculados também o índice de fixação e a estatística F_{is} dos loci e da população como um todo, para avaliar o grau de consanguinidade (Weir & Cockerham, 1984). Essa estatística varia de -1 a +1. Valores negativos indicam ausência de consanguinidade, enquanto valores positivos indicam consanguinidade intra-populacional. Quanto mais próximo de +1, maior a consanguinidade. Os cálculos foram feitos considerando-se um indivíduo de cada ninho, sorteado ao acaso. Procedeu-se dessa forma porque acrescentar na análise cinco indivíduos da mesma colônia separadamente, com genótipos semelhantes, poderia ocasionar um viés no HWE, já que o mesmo ninho seria computado cinco vezes. Para o número de alelos foram utilizados todos os indivíduos amostrados de cada ninho. As análises foram feitas com auxílio dos programas Genalex6.4 (Peakal & Smouse, 2006) e GenePop 4.0.10 (Raymond & Rousset, 1995; Rousset, 2008).

Para avaliar a probabilidade das colônias apresentarem algum grau de parentesco, utilizou-se o teste de hipótese de frequências alélicas baseado em algoritmo de verossimilhança através do programa Kingroup v2 (Konovalov *et al.*, 2004). Neste teste, é calculado o índice de relacionamento entre cada par de indivíduos a partir do algoritmo de verossimilhança. Posteriormente, são filtrados os pares baseado em um critério de teste de hipótese que leva em conta o grau de relacionamento esperado por

grau de parentesco entre os pares. Foi utilizada como H_0 , a probabilidade das colônias serem primas, irmãs ou mãe e filha e como H_1 a probabilidade de cada par ser não-relacionado. Um segundo teste foi feito, tendo H_0 como não relacionadas, mãe e filha ou irmãs completas e H_1 como meio-irmãs. Por fim, contrapôs-se H_0 como não relacionadas ou meio-irmãs e H_1 como mães e filhas. A porcentagem de parentesco foi inferida a partir de cada teste.

Para verificar se haveria relação entre o relacionamento genético e a distância geográfica das colônias, foram feitas três matrizes. A primeira foi baseada no relacionamento genético entre cada par de colônias, aferido através da estatística de relacionamento de Lynch & Ritland (1990), feito com base no genótipo de um indivíduo sorteado de cada colônia. A segunda matriz foi baseada na distância genética entre cada colônia, com base no índice de distância genética de Nei (1972). Cada ninho foi considerado uma “população” e todos os indivíduos coletados de cada ninho foram considerados os “indivíduos” da população. A terceira matriz foi baseada na distância geográfica entre os ninhos a partir das coordenadas de latitude e longitude de cada um. As três matrizes foram construídas a partir do programa Gene do pacote GeneticStudio (Dyer, 2009). As matrizes de relacionamento e de distância genética foram correlacionadas com a matriz de distâncias geográficas pelo teste de Mantel, com 1000 permutações, através do programa PAST (Hammer *et al.*, 2001). Foi feito ainda um teste de autocorrelação espacial entre as distâncias genéticas entre os indivíduos sorteados de cada ninho e as distâncias geográficas, para avaliar se haveria estruturação na população com a formação de agrupamentos genéticos-geográficos. O teste foi realizado através do programa Genalex.

Para verificar a distribuição da variação genética na paisagem, foi feito um gráfico estrutural com base nos genótipos dos indivíduos, através do programa Graph do

pacote GeneticStudio (Dyer, 2009). Este gráfico é construído a partir de uma matriz de distância entre os nódulos, neste caso, os ninhos. As linhas que conectam os nódulos indicam a covariância genética entre eles. Acrescido das coordenadas geográficas dos ninhos, o gráfico foi exportado em formato .kml para o Google Earth®, permitindo avaliar se a distância genética entre as colônias seria proporcional à distância física, bem como identificar as colônias com padrão de covariância diferente do esperado.

Para determinar a colônia de origem das operárias capturadas nas flores e de quantos ninhos as forrageiras coletadas na mesma flor pertenciam, utilizou-se o algoritmo de máxima verossimilhança entre as colônias, calculado pelo programa Colony 2.0.1.1. (Jones & Wang, 2009). Foram utilizados os genótipos de todos os indivíduos coletados nos ninhos e nas flores para a realização do cálculo. A partir do resultado obtido, foi medida a distância e a direção do ponto amostral à colônia, com auxílio do programa ArcGis® 9.2. A distância média obtida foi comparada à distância média entre colônias vizinhas pelo teste de Mann-Whitney, descartando-se o menor e o maior valor para cada distância.

Resultados

Relacionamento genético entre as colônias e distância física

Foram amplificados 13 ± 1 alelos para cada locus. A frequência alélica dos alelos mais comuns de cada loci foi inferior a 90%, indicando polimorfismo para os marcadores desenvolvidos. O número efetivo de alelos foi de 5 ± 1 alelos, indicando que a maioria dos alelos apresenta baixa frequência na população. A diferença entre o número de alelos observados e o número de alelos efetivos pode ser um reflexo da pequena diferença de tamanho entre os alelos de alguns loci, de apenas um par de bases. Erros de genotipagem poderiam ser causados por erros de interpretação no resultado da

PCR, dado que diferenças em um par de bases poderiam ser decorrência de erro da Taq Polimerase, principalmente porque a temperatura de hibridização de alguns loci foi relativamente baixa (Tabela I). Para minimizar a interpretação errônea, além de se repetir as reações de PCR de casos ambíguos, procurou-se verificar o padrão de picos de cada loco entre os indivíduos de um mesmo ninho para se escolher o tamanho do alelo. Em alguns casos, a escolha foi feita entre um heterozigoto com cada alelo diferindo em dois pares de bases ou um homozigoto com um alelo de tamanho intermediário. A escolha foi feita com base nos resultados de melhor qualidade de picos (Figura 4).

Figura 4. Exemplo de gráfico de saída do programa GeneMarker 1.95. Os picos representam alelos amplificados para um indivíduo heterozigoto para o loco Trig4d. Os picos marcados representam a leitura de maior intensidade. Padronizou-se a escolha pelo pico da direita. Indivíduos homozigotos apresentam apenas um par de picos.

O resultado do desequilíbrio de ligação indicou segregação independente para todos os loci, indicando independência na informação gerada para cada loco (Tabela II). Houve desvio em relação ao HWE para seis dos sete loci e deficiência de heterozigotos para a população ($p < 0,01$), indicando alto relacionamento genético entre as colônias. Quando analisado loco a loco, só não houve deficiência de heterozigotos para o loco Trig2a. A estatística F_{is} apresentou valores positivos para seis dos sete loci (todos, exceto Trig2a), indicando haver certa consangüinidade na amostra de ninhos. Para a população de colônias, a estatística F_{is} resultou em 0.1276. O índice de fixação

apresentou valor negativo somente para o loco Trig2a. Para os demais loci e para a população, o índice de fixação foi positivo, indicando consanguinidade na amostra de colônias (Tabela II).

Tabela II. Parâmetros de diversidade alélica. Na: número de alelos. Ne: número de alelos efetivos ($1/(1-H_e)$). Ho: Heterozigose observada. He: Heterozigose esperada. HWE (p): desvio ao equilíbrio de Hardy-Weinberg, sendo H_0 = equilíbrio. dHe(p): desvio ao equilíbrio de Hardy-Weinberg por deficiência de heterozigotos, sendo H_1 =deficiência de heterozigotos. e.p.: erro padrão estimado pelo método de cadeia de Markov com 100 iterações. F: índice de fixação ($1 - (H_o / H_e)$). F_{is} : estatística F_{is} pelo método de Weir & Cockerham (1984). Considerou-se significativo $\alpha < 0,05$.

Loco	Na	Ne	Ho	He	HWE		dHe (p)	e.p.	F	F_{is}
					(p)	e.p.				
Trig1b	13.000	5.655	0.870	0.823	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	-0.057	0.019
Trig1d	18.000	8.921	0.796	0.888	0.030	0.010	0.035	0.013	0.103	0.149
Trig2a	13.000	3.555	0.830	0.719	0.030	0.012	0.988	<0.01	-0.155	-0.154
Trig2f	13.000	4.534	0.702	0.779	0.090	0.017	0.014	<0.01	0.100	0.058
Trig3g	8.000	3.689	0.479	0.729	<0.01	<0.01	0.030	<0.01	0.343	0.289
Trig4d	11.000	3.045	0.473	0.672	0.010	<0.01	<0.01	<0.01	0.295	0.215
Tang60	14.000	3.945	0.470	0.746	<0.01	0.000	0.030	0.013	0.371	0.323
média	12.857	4.763	0.660	0.765	0.000	0.000	0.000	0.000	0.143	0.128
desvio padrão	1.143	0.762	0.069	0.027	-	-	-	-	0.077	-

Tabela III. Desequilíbrio de ligação entre os pares de loci. P: probabilidade de haver ligação entre os loci, sendo H_0 =sem ligação. E.p.: erro padrão obtido pelo método de cadeia de Markov com 400 iterações.

Loco1	Loco2	p	e.p.
Trig1b	Trig1d	0.09	0.01
Trig1b	Trig2a	0.47	0.02
Trig1d	Trig2a	0.20	0.02
Trig1b	Trig2f	0.76	0.02
Trig1d	Trig2f	1.00	0.00
Trig2a	Trig2f	0.63	0.02
Trig1b	Trig3g	0.10	0.01
Trig1d	Trig3g	0.18	0.02
Trig2a	Trig3g	0.54	0.02
Trig2f	Trig3g	0.90	0.01
Trig1b	Trig4d	0.47	0.02
Trig1d	Trig4d	0.48	0.02
Trig2a	Trig4d	0.50	0.02
Trig2f	Trig4d	0.18	0.02
Trig3g	Trig4d	0.07	0.01
Trig1b	Tang60	0.43	0.02
Trig1d	Tang60	0.69	0.02
Trig2a	Tang60	0.53	0.02
Trig2f	Tang60	0.11	0.01
Trig3g	Tang60	0.87	0.01
Trig4d	Tang60	0.76	0.02

A proporção de colônias com algum grau de parentesco, inferida com base no teste de hipóteses, resultou em uma média de $72 \pm 6\%$ de colônias aparentadas entre si ($p < 0,05$, $\beta = 71\%$). A proporção de colônias meio-irmãs foi bem menor: $11 \pm 5\%$ ($p < 0,05$, $\beta = 47\%$). O relacionamento de mãe e filha pôde ser inferido para apenas dois pares de colônias: colônia 3 e colônia 4; e colônia 6 e colônia 12 ($p < 0,05$, $\beta = 45\%$). A distância geográfica entre esses pares de colônias foi respectivamente de 138 m e 570 m.

O teste de Mantel entre as matrizes de distâncias genéticas de cada ninho e as matrizes de distâncias geográficas revelou ausência de correlação entre elas ($R = 0,06524$

e $p=0,13$), indicando que as colônias mais próximas entre si não são, necessariamente, as mais próximas geneticamente. O teste realizado entre a matriz de relacionamento genético e as distâncias geográficas entre os ninhos sorteados encontrou resultado semelhante, sem correlação ($R=-0,03681$ e $p=0,77$). O teste de autocorrelação espacial não rejeitou a hipótese de ausência de estruturação dentro da população (Figura 5), indicando não haver formação de agrupamentos geográficos baseados em proximidade genética.

Figura 5. Autocorrelação espacial entre a distância genética e a distância geográfica dos pares de colônias. Linha contínua: índice de correlação. Linhas tracejadas: limites do intervalo de confiança gerado por *Bootstrap* com 999 repetições.

A análise de covariância (Figura 6) dividiu a amostra em dois grupos de colônias, um contendo oito colônias pouco relacionadas entre si (nódulos com apenas duas conexões) e o outro contendo as demais colônias, que apresentaram um relacionamento maior entre si (nódulos com três ou mais conexões). Quando transposto no mapa (Figura 7), a distância geográfica entre as colônias não apresenta a mesma separação: colônias sem covariância genética apresentaram grande proximidade geográfica. Para a maioria das colônias, a covariância genética foi proporcional à distância física (linhas brancas na Figura 7). Para as conexões entre as colônias da EEI e do IAB, a distância física foi maior que a esperada pela distância genética (linhas

vermelhas). Algumas colônias apresentaram distância genética maior que a esperada para a distância física (linhas azuis).

Figura 6. Estrutura populacional baseada nas covariâncias genéticas. Os nódulos representam os ninhos e as linhas representam a covariância. São conectados os nódulos que apresentam covariância genética.

Figura 7. Estrutura populacional baseada nas covariâncias genéticas e dados espaciais. Os nódulos representam os ninhos e as linhas representam a covariância. São conectados os nódulos que apresentam covariância genética. Linhas brancas: covariância genética esperada pela distância geográfica. Linhas azuis: distância geográfica menor que a esperada para covariância genética. Linhas vermelhas: distância geográfica maior que a esperada para a covariância genética.

Parentesco entre forrageiras e distância e direção da forrageira à colônia mãe

Em nove pontos, foram coletadas mais de uma operária nas flores (Tabela IV).

Em seis desses pontos, todas as operárias eram provenientes de um mesmo ninho. Em dois pontos, as operárias pertenciam a dois ninhos diferentes e, em um ponto, a três ninhos diferentes.

Tabela IV. Número de operárias coletadas nas flores em cada ponto amostral e número de ninhos de origem.

Ponto de coleta	nº de operárias coletadas	nº de ninhos de origem
A1	3	1
A2	3	1
A3	1	1
A4	1	1
A5	5	3*
A6	1	1
A7	1	1
A8	1	1
A9	1	1
A10	1	1
A11	1	1
A12	1	1
A13	1	1
A14	3	1
A15	3	2*
A16	1	1
A17	1	1
A18	1	1
A19	1	1
A20	5	2*
A21	5	1
A22	5	1
A23	5	1
A24	1	1
A1b	1	1

*: abelhas coletadas em diferentes inflorescências de uma mesma árvore com florada abundante

Foi possível inferir o ninho de origem das operárias coletadas em onze dos 24 pontos nas flores, com probabilidade maior que 20%, sendo que para sete pontos a probabilidade foi maior que 95% (tabela V). A menor distância encontrada foi entre o ponto amostral A-6 e o ninho 3 (81 m, $p=30\%$). A maior distância, muito superior ao encontrado por Almeida & Laroca (1988), foi entre o ponto A7 e o ninho 1 (2.254 m, $p=100\%$). A distância média das abelhas coletadas aos seus ninhos de origem foi de

669 $\pm$ 613 m. Desconsiderados o menor e o maior valores, o valor médio da distância foi de 559 $\pm$ 314 m. A distância de vôo foi significativamente maior que a distância entre as colônias vizinhas (U=80; p=0,03).

Tabela V. Ninho de origem das operárias capturadas nas flores, distância e direção ao ninho e direção da entrada do ninho em relação aos pontos cardeais.

Operária	Ninho	Distância em relação ao ninho (m)	Direção ao ninho	Direção da entrada do ninho
A7	1	2254	OSO	O
A1B	3	865	OSO	OSO
A6	3	81	N	OSO
A8	3	179	NE	OSO
A5-1	4	117	SO	NNO
A17	8	169	N	S e O
A15	21	701	ESE	ENE
A20	22	758	NE	S
A10	40	898	ENE	S
A16	42	628	NO	SO
A19	42	713	NNO	SO

Direção das entradas de colônias vizinhas e distância de forrageamento

A orientação da entrada foi aleatória em relação aos pontos cardeais ($\chi^2=22,67$; GL=15; p=0,1). No entanto, a interceptação da linha de entrada entre as colônias vizinhas mais próximas só foi observada em três casos (entre as colônias 5 e 33; 23 e 35; e 28 e 37), indicando que as colônias podem construir suas entradas evitando a linha de entrada da colônia vizinha mais próxima, independentemente da sua orientação ($\chi^2=28,9$; GL=1 ; p<0,01). Das operárias capturadas nas flores, para as quais foi possível inferir o ninho de origem, no entanto, apenas uma foi localizada na mesma direção da entrada do ninho (Tabela V).

O experimento de marcação e recaptura só teve sucesso em um dos três ninhos. No segundo ninho, as abelhas fecharam a saída pelo funil e abriram uma nova

entrada, imediatamente ao lado da placa de espuma. Tentou-se fechar a entrada alternativa com papel molhado e reabriu-se a entrada original, mas as abelhas tornaram a fechar o funil e a abrir a segunda entrada, abrindo um buraco pelo papel. No terceiro ninho, as abelhas também fecharam o funil e abriram uma entrada por baixo do limite da placa de espuma. Essa entrada foi fechada com papel e fita silvertape[®], mas as abelhas tornaram a abrir uma entrada por baixo da fita. Para o ninho em que a armadilha funcionou, houve retorno somente de quatro operárias: uma que foi liberada a 180° da entrada do ninho, a 300 m, e três operárias a 600 m do ninho, sendo uma em direção à entrada e duas a 90° da entrada.

Discussão

Grau de parentesco entre as colônias

Os dados indicam que, apesar de haver consanguinidade entre as colônias de *T. spinipes* estudadas, ela não é muito elevada. Os indicativos de consanguinidade foram o desvio em relação ao HWE, provocado pela deficiência de heterozigotos, e o índice de fixação positivo, que indica excesso de homozigotos. O excesso de homozigotos (ou deficiência de heterzigotos) pode ser um efeito da proximidade geográfica entre as colônias, dado que todas foram amostradas em uma área com cerca de 2Km de raio. Como a colônia filha não pode estar situada a uma distância maior do que o raio de vôo das operárias da colônia, dada a dependência inicial entre as duas (e.g. Roubik, 2006), é esperado que colônias próximas apresentem um certo grau de parentesco. Além disso, o próprio sistema haplodiplóide de reprodução pode levar a uma redução na variabilidade genética, que seria refletida no excesso de homozigotos (Cook & Crozier, 1995).

No entanto, a ausência de desequilíbrio de ligação entre os loci e o valor de F_{is} mais próximo de “zero” do que de “um” indicam um certo grau de parentesco, mas reduzido. A baixa proporção de colônias que poderiam ser consideradas irmãs também indica um afrouxamento no compartilhamento genético entre as colônias e, por consequência, uma diversidade genética maior que a esperada para colônias aparentadas. A variabilidade genética alta entre colônias próximas já havia sido notada por Cameron *et al.* (2004) para colônias agregadas de *Trigona collina*. Os autores verificaram haver baixo relacionamento genético entre as rainhas dessas colônias. Eles também verificaram que os enxames de machos dessa espécie eram compostos por indivíduos vindos de diferentes ninhos e de diferentes agregados, e propuseram que essa movimentação dos machos contribuiria para a redução da endogamia entre as colônias.

A dispersão dos machos e o baixo grau de relacionamento entre os membros de seus enxames foram demonstrados também para *Scaptotrigona postica* (Paxton, 2000) e *S. mexicana* (Kraus *et al.*, 2008). Dessa forma, pode-se supor que o aporte de genes provenientes de machos oriundos de colônias distantes dos limites da área estudada seja um fator responsável pelo relativamente baixo grau de relacionamento genético entre os ninhos.

Considerando ainda que *T. spinipes* é uma espécie com nicho trófico amplo (Almeida & Laroca, 1988; Cortopassi-Laurino & Ramalho, 1988), que independe de cavidades para nidificar, é de se supor que existam colônias fora dos limites da área estudada que possam contribuir para o aporte de fluxo gênico. Zayed *et al.* (2005) verificaram que abelhas generalistas apresentam uma perda de variabilidade genética menor que abelhas especialistas, o que se deveria, em parte, à capacidade de dispersão da espécie generalista.

Distância geográfica *versus* distância genética entre as colônias

Pela análise estrutural (Figura 7), pôde-se ver que a covariância genética só foi maior que a esperada pela distância geográfica pelas conexões com os nódulos correspondentes aos ninhos de dentro e de fora da EEI. No entanto, como algumas colônias levantadas na EEI ficaram de fora da amostra, é possível que haja colônias aparentadas situadas entre as colônias de dentro e de fora da EEI que poderiam fazer conexões mais curtas entre os nódulos do gráfico, reduzindo a diferença entre as distâncias físicas e genéticas.

Por outro lado, para algumas colônias as distâncias físicas foram menores que as esperadas pelas covariâncias genéticas. Essas colônias estão situadas nas bordas da EEI, o que pode indicar maior proximidade com colônias externas à EEI, não amostradas, do que com as colônias amostradas. Dessa forma, e dada a amplitude de nicho de *T. spinipes*, reforça-se a hipótese de fluxo gênico entre colônias da EEI e de fora.

A ausência de correlação entre o relacionamento genético entre os ninhos e sua distância geográfica e a ausência de autocorrelação genética e espacial, por sua vez, indicam que embora haja um certo grau de parentesco entre a maioria das colônias, os ninhos mais próximos não são os mais geneticamente relacionados. Ou seja, uma colônia pode estar tão próxima de sua mãe ou filha como de qualquer outra não relacionada, apontando um espaçamento não-uniforme das colônias. Isso confirma a ausência de competição por locais de nidificação, indicando que o padrão de distribuição dos ninhos no campo pode seguir o padrão de distribuição da vegetação do cerrado, que pode ser agregada (Tartaglia *et al.*, 2004).

Parentesco entre forrageiras

Dos nove pontos em que foram coletadas mais de uma abelha nas flores, em seis as abelhas pertenciam ao mesmo ninho de origem. Nesses pontos, as abelhas foram coletadas em plantas com floradas maciças, mas em uma única inflorescência (*Syagrus* sp., Arecaceae e *Bromelia balansae*, Bromeliaceae). Nos três casos em que as operárias coletadas nas flores pertenciam a ninhos diferentes, o ponto de coleta correspondera a uma árvore com florada maciça (*Vochysia tucanorum*, Vochysiaceae), sendo que as operárias foram coletadas em diferentes inflorescências.

A agressividade e a capacidade de expulsar outras abelhas de um recurso alimentar são conhecidas para *T. spinipes*. Além disso, as operárias desta espécie apresentam uma alta capacidade de recrutamento. Cortopassi-Laurino & Ramalho (1988), por exemplo, observaram que, apesar de operárias de *T. spinipes* visitarem um grande número de flores diferentes, elas concentram suas coletas em poucas flores abundantes. Nas inflorescências maciças de *Syagrus* e *Bromelia*, nesse estudo, era possível facilmente contar mais de 50 forrageiras, o que demonstra a capacidade das colônias dessa espécie em dominar um recurso.

O recrutamento de outras operárias para um mesmo recurso pode oferecer uma vantagem em termos de ganho maior para a colônia do que se as operárias procurassem alimento isoladamente. Nesse estudo, embora o grau médio de relacionamento entre as colônias tenha sido baixo, operárias de uma mesma colônia possuíam o mesmo pai e a mesma mãe, e logo um grau médio de relacionamento alto ($r=0,75$, Queller & Strassmann, 1998). Assim, o recrutamento garantiria o monopólio do recurso por operárias da mesma colônia.

Distância de forrageamento *versus* distância entre vizinhos

Outro fator que aponta para a existência de competição por alimento foi a diferença observada entre a distância de forrageamento e a distância entre colônias vizinhas. A média observada para a distância de forrageamento esteve dentro do valor máximo estimado para a espécie (Roubik & Aluja, 1983; Almeida & Laroca, 1988), podendo chegar a 895 m. A distância de forrageamento é proporcional ao tamanho do corpo dos meliponíneos (Nieuwstadt & Iraheta, 1996; Araujo *et al.*, 2004. Greenlaf *et al.*, 2006) que tendem a maximizar a distância possível dado o comprimento de suas asas (Araujo *et al.*, 2004). Mas, se o alimento no campo fosse abundante, não haveria necessidade de buscá-lo a centenas de metros do ninho, pois a busca nas proximidades reduziria o custo do forrageamento, como o risco de predação, por exemplo (e.g. Jones & Dornhaus, 2011). Porém, com várias colônias situadas a poucas centenas de metros entre si, a ampliação da área de forrageamento aumentaria a possibilidade de se encontrarem recursos não explorados pelas vizinhas, reduzindo a necessidade de enfrentamentos.

Um único ponto amostrado apresentou uma distância ao ninho de origem muito superior ao estimado para a espécie. Nesse ponto foi coletada uma única operária, cujo genótipo foi o que apresentou o maior erro de genotipagem, com dois loci sem amplificação e os demais todos homozigotos. Dessa forma, é bem possível que a distância aberrante encontrada para esse ponto seja devido a um artefato do programa, devido ao excesso de “zeros”, e não tenha um significado biológico.

Direção da entrada das colônias e direção de forrageamento

A captura das operárias em direções diferentes às da entrada de seus ninhos de origem descarta a hipótese de forrageamento por setor. A diferença entre a distância

de forrageamento e a distância entre colônias pode ser uma estratégia para minimizar encontros agonísticos, aumentando a possibilidade de se encontrar um recurso não explorado por outra colônia. Assim, a procura por alimento em uma área circular pode maximizar as possibilidades de encontro de bons recursos.

No entanto, a direção da entrada em relação à entrada da colônia vizinha pode ter um significado biológico, dado que na amostra houve interceptação em somente três casos. O fluxo de operárias na entrada do ninho de *T. spinipes* é elevado. No experimento de marcação e recaptura, em duas horas, foram capturadas mais de 500 operárias forrageiras que retornaram ao ninho. A amostra de operárias capturadas nas flores foi pequena se comparada ao fluxo de indivíduos de um único ninho em um curto período. Assim, ainda que as operárias não tenham sido coletadas na direção da entrada, é possível que a construção desta evitando interceptar a entrada do ninho vizinho ajude a minimizar potenciais conflitos entre as operárias.

Conclusões

Com os resultados obtidos, chegamos às seguintes respostas às perguntas levantadas:

1) Qual o grau de relacionamento genético entre as colônias de *T. spinipes* da EEI?

Existe um certo grau de relacionamento genético entre as colônias, indicado pela deficiência de heterozigotos, pelo F_{is} positivo e pela proporção de ninhos que apresentam algum grau de parentesco com os demais. No entanto, esse grau não é elevado, demonstrado pela baixa proporção de colônias irmãs e pelo F_{is} próximo de zero, apesar de positivo.

2) Colônias próximas entre si são mais aparentadas que colônias mais distantes?

Não houve correlação entre relacionamento genético e distância geográfica, nem autocorrelação espacial entre distância genética e distância geográfica. As

colônias estão tão próximas das mais relacionadas geneticamente como de qualquer outra. A distribuição das colônias no campo pode seguir o padrão de distribuição da vegetação, indicando ausência de competição por sítios de nidificação.

3) Operárias forrageando em um mesmo recurso provêm de um único ninho?

Sim. Embora operárias coletadas em uma árvore pudessem ser de colônias diferentes, operárias coletadas em uma inflorescência pertenciam todas ao mesmo ninho, indicando que há monopolização de recurso alimentar.

4) A distância média de forrageamento de *T. spinipes* na área estudada é maior que a distância física média entre colônias vizinhas?

Sim, o que reforça a hipótese de que o alimento é um recurso limitado e que há competição por ele.

5) Existe direção preferencial de forrageamento das operárias em relação à direção da entrada da colônia?

Não, a direção é aleatória, não acompanhando a linha da entrada, indicando que as operárias utilizam uma área circular para a procura de alimento, maximizando as possibilidades de encontrar um recurso não explorado.

6) As entradas de colônias vizinhas são construídas de maneira a evitar a direção da entrada umas das outras?

Sim, a linha de entrada de uma colônia raramente intercepta a linha de entrada da colônia vizinha. O fluxo de entrada e saída do ninho é elevado. Assim, ainda que não haja direção preferencial de forrageamento, a não interceptação poderia minimizar conflitos entre colônias vizinhas.

Referências Bibliográficas

- ALMEIDA, M. C. & LAROCA, S., 1988. *Trigona spinipes* (Apidae, Meliponinae): taxonomia, bionomia e relações tróficas em áreas restritas. *Acta Biologica Paranaense* **17**(1, 2, 3, 4): 67-108.
- ARAUJO, E. D., COSTA, M., CHAUD-NETTO, J. & FOWLER, H. G., 2004. Body size and flight distance in stingless bees (Hymenoptera: Meliponini): inference of flight range and possible ecological implications. *Brazilian Journal of Biology* **64**(3B): 563-568.
- BREED, M. D., MCGLYNN, T. P., SANCTUARY, M. D., STOCKER, E. M. & CRUZ, R., 1999. Distribution and abundance of colonies of selected meliponine species in a Costa Rican tropical wet forest. *Journal of Tropical Ecology* **15**: 765-777.
- BRITO, R. M., FRANCISCO, F. O., DOMINGUES-YAMADA, A. M., GONÇALVES, P. H. P., PIOKER, F. C., SOARES, A. E. E. & ARIAS, M. C., 2009. Characterization of microsatellite loci of *Tetragonisca angustula* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). *Conservation Genetics Resources* **1**(1): 183-187.
- BILLOTTE N., LAGODA, P.J.R., RISTERUCCI, A.M., BAURENS, F.C., 1999. Microsatellite-enriched libraries: Applied methodology for the development of SSR markers in tropical crops. *Fruits*. **54**: 277-288.
- CAMERON, E. C.; FRANCK, P. & OLDROYD, B. P., 2004. Genetic structure of nest aggregations and drone congregations of the southeast Asian stingless bee *Trigona collina*. *Molecular Ecology* **13**: 2357-2364.
- CORTOPASSI-LAURINO, M. & RAMALHO, M., 1988. Pollen harvest by africanized *Apis mellifera* and *Trigona spinipes* in São Paulo Botanical and Ecological Views. *Apidologie* **19**(1): 1-24.
- COOK, J. M. & CROZIER, R. H., 1995. Sex determination and population biology of the Hymenoptera. *Trends in Ecology and Evolution* **10**: 281-286.
- DYER, R. J., 2009. GeneticStudio: a suite of programs for spatial analysis of genetic-marker data. *Molecular Ecology Resources* **9**: 110-113.
- GLOAG, R., HEARD, T. A., BEEKMAN, M. & OLDROYD, B. P., 2008. Nest defence in a stingless bee: What causes fighting swarms in *Trigona carbonaria* (Hymenoptera, Meliponini)? *Insectes Sociaux* **55**: 387-391.
- GREENLEAF, S. S., WILLIAMS, N. M., WINFREE, R. & KREMEN, C., 2007. Bee foraging ranges and their relationship to body size. *Oecologia* **153**: 589-596.

- JONES, O. & WANG, J., 2009. COLONY: a program for parentage and sibship inference from multilocus genotype data. *Molecular Ecology Resources* **10**: 551–555.
- HAMMER, Ø.; HARPER, D.A.T. & RYAN, P. D., 2001. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Paleontologia Electronica* **4**(1): 9pp.
- HAMILTON W. D., 1964. The genetical evolution of social behavior (I-II). *Journal of Theoretical Biology* **7**: 1-52.
- HAMILTON M. B., PINCUS E. L., DI-FIORE A. & FLEISCHER, R.C., 1999. Universal linker and ligation procedures for construction of genomic DNA libraries enriched for microsatellites. *Biotechniques*, **27**: 500-507.
- HUBBELL, S. P. & JOHNSON, L. K., 1977. Competition and nest spacing in a tropical stingless bee community. *Ecology* **58**(5): 949-963.
- HUBBELL, S. P. & JOHNSON, L. K., 1978. Comparative foraging behavior of six stingless bee species exploiting a standardized resource. *Ecology* **59**: 1123–1136.
- JOHNSON, L. K., 1981. Flower clumping on defense of artificial flowers by aggressive stingless bees. *Biotropica* **13**(2): 151-157.
- JOHNSON, L.K. & HUBBELL, S.P., 1974. Aggression and competition among stingless bees: field studies. *Ecology* **55**: 120–127.
- JONES, E. I. & DORNHAUS, A., 2011. Predation risk makes bees reject rewarding flowers and reduce foraging activity. *Behavior Ecology and Sociobiology* (online first): DOI 10.1007/s00265-011-1160-z
- KRAUS, F. B.; WEINHOLD, S. & MORITZ, R. F. A., 2008. Genetic structure of drone congregations of the stingless bee *Scaptotrigona mexicana*. *Insects Sociaux* **55**: 22-27.
- KONOVALOV, D. A.; MANNING, C. & HENSHAW, M. T., 2004. Kingroup: a program for pedigree relationship reconstruction and kin group assignments using genetic markers. *Molecular Ecology Notes* **4**: 779-782.
- LYNCH, M. & RITLAND, K., 1999. Estimation of pairwise relatedness with molecular markers. *Genetics* **152**: 1753-1766.
- NEI, M., 1972. Genetic distance between populations. *American Naturalists* **106**: 283-292.
- NIEH, J. C., BARRETO, L. S., CONTRERA, F. A. L. & IMPERATRIZ-FONSECA, V. L., 2004. Olfactory eavesdropping by a competitively foraging *Trigona spinipes* stingless bee. *Proceedings of The Royal Society of London* **271**: 1633-1640.

- NIEH, J. C., KRUIZINGA, K., BARRETO, L. S., CONTRERA, F. A. L. & IMPERATRIZ-FONSECA, V. L., 2005. Effect of group size on the aggression strategy of an extirpating stingless bee, *Trigona spinipes*. *Insectes Sociaux* **52**: 147-154.
- NIEUWSTADT, M. G. L. van & IRAHETA, C. E. R., 1996. Relation between size and foraging range in stingless bees (Apidae, Meliponinae). *Apidologie* **27**: 219-228.
- PAXTON, R. J., 2000. Genetic structure of colonies and male aggregation in stingless bee *Scaptotrigona postica*, as revealed by microsatellite analysis. *Insectes Sociaux* **47**: 63-69.
- PEAKALL, R. & SMOUSE, P. E., 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes* **6**: 288-295.
- QUELLER, D. C. & STRASSMANN, J. E., 1998. Kin selection and social insects. *BioScience* **48**(3): 165-175.
- RAYMOND M. & ROUSSET F, 1995. GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity* **86**:248-249.
- ROUBIK, D., 2006. Stingless bee nesting biology. *Apidologie* **37**: 124-143.
- ROUSSET, F., 2008. Genepop'007: a complete reimplementation of the Genepop software for Windows and Linux. *Molecular Ecology Resources* **8**: 103-106.
- ROZEN S., SKALETSKY H. J., 1998. Primer3. Code available at http://www-genome.wi.mit.edu/genome_software/other/primer3.html.
- SHEPPARD, W. S.; ARIAS, M.C., SHIMANUKI, H., 1994. Determination of mitochondrial DNA haplotypes from sting remnants of the honeybee *Apis mellifera* (Hymenoptera, Apidae). *Bulletin of Entomological Research* **84**: 551-554.
- TARTAGLIA, D., 2004. Florística e fitossociologia das espécies lenhosas no cerrado da Fazenda Chanchim (São Carlos, SP). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de São Carlos.
- WALSH, P.S., METZGER, D.A. & HIGUCHI, R., 1991. Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *Biotechniques* **10**: 506-513.
- ZAYED, A.; PACKER, L.; GRIXTI, J. C.; RUZ, L.; OWEN, R. E. & TORO, H., 2005. Increased genetic differentiation in a specialist versus a generalist bee: implications for conservation. *Conservation Genetics* **6**: 1017-1026.

Discussão Geral e Conclusões

Discussão Geral

Diferenças estruturais entre fitofisionomias *versus* composição de espécies de Meliponini

Devido ao maior número de árvores, seria esperada uma quantidade maior de ninhos de Meliponini dependentes de cavidades em ambientes florestados do que em ambientes campestres. Nossos resultados do capítulo 1 indicam, porém, que a abundância relativa de ninhos pode ser maior nas fitofisionomias campestres do que no cerradão, uma fitofisionomia florestal. No entanto, a abundância de ninhos e a riqueza de espécies não foram equivalentes, pois a maioria dos ninhos encontrados nas fitofisionomias campestres pertencia a uma só espécie, *Trigona spinipes*, enquanto a maior riqueza de espécies foi encontrada no cerradão. Assim, uma alta densidade de ninhos não necessariamente corresponde a uma alta diversidade.

Um adensamento de ninhos em fitofisionomia mais aberta foi encontrado também por Teixeira & Viana (2005), sendo que a maioria dos ninhos pertencia a uma espécie, *Frieseomelitta silvestrii*, capaz de ocupar pequenas cavidades. Grundel *et al.* (2010), por sua vez, encontraram uma abundância maior de abelhas, como um todo, e um número maior de abelhas que nidificam no solo em fitofisionomia aberta, em contraposição à floresta. Dessa forma, as fitofisionomias campestres podem apresentar uma alta densidade de ninhos, composta, porém, de poucas espécies, capazes de construir ninhos externos ou de ocupar pequenas cavidades em substratos lenhosos ou, ainda, de ocupar cavidades no solo.

Por outro lado, uma densidade menor de ninhos pode esconder uma riqueza de espécies maior do que a amostrada, sobretudo em fitofisionomias florestais. No capítulo 2, na maioria dos levantamentos realizados em áreas com tamanho amostral

de 4 ha foram encontrados apenas um ou dois ninhos, e foi verificada uma correlação negativa entre a riqueza de espécies e o porte da vegetação, indicando que a densidade de ninhos pode estar diluída nas fitofisionomias mais fechadas. Além disso, a não estabilização da curva de rarefação de espécies para o cerradão do IAB, no capítulo 1, indica que o tamanho de amostra para uma avaliação adequada da riqueza de ninhos em fitofisionomias florestais deve ser maior que 18 ha. O efeito da amostra sobre a riqueza de espécies foi verificado também por Grundel *et al.* (2010): enquanto a riqueza de espécies foi semelhante para abelhas coletadas em flores entre fitofisionomias campestres e florestais, o número de espécies por amostra foi menor nas fitofisionomias florestais.

Porém, encontramos uma correlação positiva entre a composição de espécies de abelhas e o porte da vegetação, indicando que pode haver preferência de certas espécies por determinado porte de vegetação. Grundel *et al.* (2010) também encontraram uma associação positiva entre a cobertura vegetal e a composição da fauna de abelhas em uma área de savana dos Estados Unidos, considerando Apoidea como um todo. No entanto, diferentemente do trabalho desses autores, a variância explicada pelo primeiro componente de ordenação das espécies no capítulo 2 foi relativamente baixa, provavelmente devido à ubiquidade das espécies mais frequentes. Essas espécies, além de ser encontradas em diferentes levantamentos, eram encontradas também em diferentes fitofisionomias. Por exemplo, a abundância relativa de *Scaptotrigona postica*, a espécie mais frequente nos levantamentos de ninhos utilizados foi maior no levantamento de Bacaba (Pereira, 2004), cuja vegetação predominante foi a de cerradão. No entanto, ninhos dessa espécie foram encontrados também em levantamentos cujo porte predominante da vegetação era o campestre, como nos levantamentos de Feio e São Francisco (Drummond, 2010).

Assim, ainda que possa haver preferência de algumas espécies por uma determinada estrutura de vegetação, para outras basta que existam sítios disponíveis para que suas populações se estabeleçam, estejam eles em fitofisionomias campestres ou florestais. Esses sítios podem ser árvores de grande porte, ainda que esparsas na paisagem.

Espécies de *Melipona*, por exemplo, costumam nidificar em cavidades de árvores de grande porte, de forma que seria esperada uma maior quantidade de ninhos em fitofisionomias florestais. No entanto, o único ninho de *Melipona* encontrado no levantamento do capítulo 1 estava situado na fitofisionomia de campo cerrado. Além disso, nenhum dos parâmetros relacionados aos ninhos de espécies desse gênero apresentou correlação com o porte da vegetação, no capítulo 2. Porém, a correlação negativa entre a composição de espécies de *Melipona* e a proporção de áreas rurais indica que a qualidade da vegetação ao redor dos ninhos pode ser mais relevante para a manutenção das populações dessas abelhas do que o porte da vegetação em si.

Antropização das áreas de cerrado *versus* nidificação dos Meliponini

A qualidade da vegetação, do ponto de vista dos Meliponini, pode ser traduzida em recursos, tanto em relação à disponibilidade de sítios de nidificação como de alimento. Para garantir a viabilidade das populações de Meliponini, uma área deve oferecer locais de nidificação suficientes para permitir a reprodução das colônias e alimento suficiente para garantir sua sobrevivência. A substituição de áreas naturais por áreas antropizadas, portanto, pode afetar negativamente as populações de Meliponini, se não puderem fornecer esses recursos às colônias. Winfree *et al.* (2009) e Williams *et al.* (2010) verificaram que a antropização afetou negativamente a abundância das abelhas, em geral, independentemente do bioma, e que a perturbação

do habitat afetou significativamente a riqueza de espécies de abelhas sociais mais que a de solitárias.

A substituição das áreas naturais de cerrado por áreas rurais pode tornar a paisagem semelhante às fitofisionomias campestres de cerrado, a princípio, em relação à disponibilidade de sítios de nidificação, por deixar algumas árvores esparsas em meio ao cultivo. Porém, em relação aos recursos alimentares, a paisagem rural pode ser muito diferente das fitofisionomias campestres. No capítulo 1, vimos que a maior proporção de plantas floridas estava no campo sujo. Já no caso da paisagem rural, sobretudo no caso das monoculturas, a vegetação entre as árvores é composta basicamente de uma espécie vegetal, que poderá não fornecer alimento aos Meliponini. No capítulo 1, vimos que a localização dos ninhos no cerradão estava concentrada principalmente na borda sul, próximo a jardins artificiais, e longe da borda norte, próximo às plantações de cana-de-açúcar. No capítulo 2, encontramos correlação negativa entre a riqueza de espécies por área e a proporção de áreas rurais, indicando haver perda de espécies com o aumento da proporção dessas áreas.

A disponibilidade de alimento foi apontada como um fator determinante para a estrutura das populações de Meliponini por diferentes estudos. Brosi (2009), por exemplo, verificou que a composição de espécies de Meliponini de uma área de floresta tropical na Costa Rica apresentou forte correlação com a riqueza de espécies vegetais floridas. Roulston & Goodell (2011) revisaram os diversos fatores que influenciam o tamanho das populações de abelhas e também verificaram que a disponibilidade de alimento foi o fator mais determinante.

O efeito da substituição das áreas naturais por áreas antropizadas, porém, não se dá de maneira equivalente para todas as espécies de Meliponini. A antropização das áreas naturais favorece a expansão das espécies de comportamento mais plástico,

em detrimento de espécies de comportamento mais restritivo. Heard (1999), por exemplo, apontou que a abundância de abelhas do gênero *Trigona*, na Austrália, se correlacionou positivamente com a redução de áreas naturais. Batista *et al.* (2003), por sua vez, verificaram que a maioria dos ninhos de Meliponini localizados em fragmentos de mata Atlântica, imersos em uma matriz antropizada, pertencia a espécies frequentemente encontradas em ambientes antropizados, como *Tetragonisca angustula*. Além disso, verificaram que duas espécies de Meliponini, *Scaptotrigona xanthotricha* e *S. tubiba*, só foram encontradas em floresta estruturada, enquanto *Nannotrigona punctata* fora provavelmente excluída de área de floresta em recuperação devido à competição com *Tetragonisca angustula*. Tanto as espécies de Meliponini encontradas no levantamento do IAB, como as espécies mais frequentes encontradas nos diversos levantamentos do capítulo 2, são espécies que apresentam comportamento plástico, frequentemente encontradas em ambientes antropizados, como *Tetragonisca angustula* e espécies de *Plebeia*.

Relacionamento genético e recursos alimentares *versus* nidificação dos Meliponini

O efeito da antropização das áreas naturais sobre as populações de Meliponini vai depender, portanto, do comportamento de nidificação e de forrageamento de cada espécie e da sua capacidade de utilizar recursos existentes em ambientes antropizados. Para espécies capazes de ocupar as áreas antropizadas, as áreas entre os remanescentes de vegetação nativa formarão uma matriz permeável, sem que haja alteração no fluxo gênico entre os fragmentos. Estudos realizados com outros grupos de abelhas apontam resultados diversos dependendo da espécie estudada. Para *Bombus pascuorum* (Apidae: Bombini), por exemplo, embora operárias coletadas em

uma paisagem agrícola fragmentada tenham apresentado valores elevados de F_{is} , a endogamia não pôde ser associada a fatores ambientais decorrentes da fragmentação (Hermann *et al.* 2007). Já para *Colletes floraris* (Colletidae), a matriz urbanizada foi apontada como uma barreira para o fluxo gênico entre as populações fragmentadas (Davis *et al.* 2010).

No presente estudo, o baixo grau de relacionamento genético entre colônias próximas de *Trigona spinipes* indica que há fluxo gênico entre as colônias da Estação Ecológica e colônias do entorno. Para essa espécie, não há limitação de sítios de nidificação, e foram observados ninhos na beira das estradas, em Itirapina, e mesmo na praça central da cidade, o que ilustra sua capacidade de ocupar ambientes antropizados. Para espécies de comportamento mais restritivo, no entanto, as consequências da fragmentação de áreas naturais podem ter um efeito negativo sobre suas populações, se os machos das colônias de um fragmento forem incapazes de atravessar a matriz e trocar genes com as colônias de outros fragmentos.

Alguns autores apontam o tamanho das abelhas como uma restrição à sua dispersão, indicando que abelhas generalistas de pequeno porte podem sofrer mais com a fragmentação do que abelhas generalistas de porte maior (Bommarco *et al.*, 2010). Porém, essa limitação de tamanho se dará apenas se a matriz gerada pela fragmentação oferecer limitações de recursos às abelhas. Espécies como *Tetragonisca angustula*, por exemplo, são capazes de ocupar cavidades artificiais, de forma que uma matriz antropizada não seria um impedimento para o fluxo gênico das suas colônias entre fragmentos, mesmo sendo uma abelha menor que espécies de *Melipona*, por exemplo. Para essas últimas, embora árvores isoladas possam fornecer cavidades para a fundação de novas colônias, vimos no capítulo 2 que a substituição de áreas naturais por áreas rurais pode afetar negativamente suas populações. Assim,

mesmo tendo um raio de forrageamento maior que *Tetragonisca angustula* (Araújo *et al.*, 2004), abelhas *Melipona* poderão ser mais afetadas pela fragmentação das áreas naturais.

O comportamento de forrageamento, por sua vez, pode contribuir para o efeito da antropização sobre as populações de Meliponini, independentemente do tamanho das operárias. Nas áreas rurais, principalmente naquelas com monoculturas, como cana-de-açúcar, as plantas que podem oferecer alimento às abelhas ficam restritas a beiras de estrada e capoeiras abandonadas. Essa característica pode resultar em limitação de recursos florais para as abelhas. Frente a uma limitação de recursos, poderá haver competição entre as colônias pelas flores disponíveis, e o sucesso da colônia na exploração do recurso vai depender da sua capacidade competitiva. Espécies agressivas de Meliponini tendem a explorar e dominar recursos abundantes e conspícuos, enquanto espécies menos agressivas tendem a explorar recursos esparsos e inconspícuos (Johnson, 1981). Além disso, espécies de comportamento menos agressivo tendem a evitar flores visitadas por espécies agressivas (Biesmeijer & Slaa, 2004).

Por outro lado, espécies competitivas, como *Trigona spinipes*, podem dominar o recurso floral que encontram, como visto no capítulo 3 e por outros autores (Nieh *et al.*, 2004; 2005), além de conseguirem multiplicar suas colônias em ambientes antropizados. Em um cenário onde as flores são restritas e as espécies capazes de dominar recursos florais conseguem fundar colônias na matriz antropizada, tornando-se numerosas, as espécies menos competitivas poderão enfrentar falta de recursos florais, devido à redução desses recursos pelas monoculturas e pela competição com as espécies mais agressivas. Dessa forma, a fragmentação das áreas naturais poderá ter um efeito negativo para as espécies menos competitivas de Meliponini.

O principal efeito que a fragmentação pode ter nas populações de abelhas para as quais a matriz antropizada não ofereça recursos suficientes é o isolamento das populações nos fragmentos remanescentes. Esse isolamento pode se dar pela impossibilidade de a colônia encontrar novos sítios de nidificação, de conseguir alimento suficiente para sustentar a colônia filha ou, ainda, de não conseguir atrair um enxame de machos para acasalar com a nova rainha. Para que um ninho atraia enxames de machos, é necessário que existam outros ninhos dentro da área em que os machos são capazes de se dispersar. Além disso, enxames de machos são compostos, em geral, por indivíduos provindos de diferentes colônias (e. g. Cameron *et al.* 2004). No entanto, os enxames só poderão ser compostos por machos de várias colônias se existirem colônias suficientes para produzi-los. Se uma população de colônias está isolada em um fragmento, de forma que os machos oriundos de fragmentos mais distantes não consigam atravessar a matriz, a rainha virgem estará sujeita a copular com machos oriundos de colônias do mesmo fragmento. Dessa forma, reduz-se cada vez mais a variabilidade genética das colônias no fragmento. A perda de variabilidade genética, por sua vez, teria por consequência a redução no tamanho efetivo da população (Zayed, 2005). Dessa forma, espécies incapazes de transpor a matriz das áreas fragmentadas ficariam sujeitas ao isolamento, o que levaria a uma redução ainda maior das suas populações.

Conclusões

Assim, três fatores podem ser determinantes para a nidificação dos Meliponini nas áreas de cerrado, considerando a antropização desse bioma: a disponibilidade de sítios de nidificação, a disponibilidade de alimento e a capacidade das espécies em obter recursos nas áreas antropizadas, mantendo o fluxo gênico entre os

remanescentes de áreas naturais. Portanto, políticas de conservação eficientes que visem a proteção das espécies de Meliponini devem levar em conta não apenas a quantidade de árvores de uma região, mas também a qualidade e a heterogeneidade da vegetação, tanto nas áreas de proteção ambiental quanto nas áreas entre elas.

Quanto às perguntas levantadas:

a) Diferenças estruturais entre fitofisionomias de cerrado refletem-se em diferenças na composição de espécies?

Sim. Fitofisionomias campestres podem apresentar uma abundância de ninhos maior do que fitofisionomias florestais, mas as fitofisionomias florestais podem apresentar uma riqueza maior de espécies. O tamanho da amostra pode subestimar a riqueza de espécies das fitofisionomias florestais. A relação positiva entre a composição de espécies de Meliponini e o porte da vegetação indica que há preferência de algumas espécies por determinada fitofisionomia. No entanto, a detecção de um padrão torna-se difícil dada a ubiquidade das espécies de comportamento mais plástico.

b) Como a antropização das áreas de cerrado afeta as populações de ninhos de meliponíneos?

A antropização pode ter um efeito negativo sobre as populações de Meliponini, podendo levar à perda de espécies. Para espécies de comportamento mais plástico, as áreas antropizadas não oferecem limitação de recursos, mas para espécies de comportamento mais restritivo, a substituição das áreas naturais pode ter um efeito deletério sobre suas populações.

c) Como o relacionamento genético e a obtenção de recurso alimentar afetam a distribuição das colônias em uma área de cerrado?

O baixo grau de relacionamento genético entre colônias próximas indica que não há limitação de fluxo gênico para *Trigona spinipes*. A capacidade de suas operárias em dominar um recurso floral pode excluir competitivamente abelhas de espécies menos agressivas dos recursos. Se a matriz antropizada apresentar limitação de recursos, espécies de comportamento menos agressivo poderão não conseguir obter recursos alimentares, ficando isoladas em fragmentos de áreas naturais. O isolamento pode levar à perda de variabilidade genética e, conseqüentemente, à perda de espécies.

Referências Bibliográficas

- ARAÚJO, E. D.; COSTA, M.; CHAUD-NETTO, J. & FOWLER, H. G., 2004. Body size and flight distance in stingless bees (Hymenoptera, Meliponini): inference of flight range and possible ecological implications. *Brazilian Journal of Biology* **64**(3B): 563-568.
- BATISTA, M. A.; RAMALHO, M. & SOARES, A. E. E., 2003. Nesting sites and abundance of Meliponini (Hymenoptera: Apidae) in heterogeneous habitats of the Atlantic Rain Forest, Bahia, Brazil. *Lundiana* **4**(1): 19-23.
- BIESMEIJER, J. C. & SLAA, E. J., 2004. Information flow and organization of stingless bee foraging. *Apidologie* **35**: 143-157.
- BOMMARCO, R.; BIESMEIJER, J. B.; MEYER, B.; POTTS, S. G.; PÖYRY, J. ROBERTS, S. P. M.; STEFFAN-DEWENTER, I. & ÖCKINGER, E., 2010. Dispersal capacity and diet breadth modify the response of wild bees to habitat loss. *Proceedings of The Royal Society Biological Sciences* **277**: 2075-2082.
- BROSI, B. B., 2009. The complex responses of social stingless bees (Apidae: Meliponini) to tropical deforestation. *Forest Ecology and Management* **258**(9): 1830-1837.
- CAMERON, E. C.; FRANCK, P. & OLDROYD, B. P., 2004. Genetic structure of nest aggregations and drone congregations of the southeast Asian stingless bee *Trigona collina*. *Molecular Ecology* **13**: 2357-2364.

- DAVIS, E. S.; MURRAY, T. E.; FITZPATRICK, U.; BROWN, M. J. F. & PAXTON, R. J., 2010. Landscape effects on extremely fragmented populations of a rare solitary bee, *Colletes floraris*. *Molecular Ecology* **19**: 4922-4935.
- DRUMMOND, M. S., 2010. Melissofauna. in: Suzano Papel e Celulose S.A. Estudo de Impacto Ambiental-EIA da área de implantação do projeto florestal da Suzano, no Polo Porto Franco, Estado do Maranhão. Relatório Final SPC1108 R00 Volume I/II - Diagnóstico Sócio-Ambiental. Disponível em: URL . http://www.stcp.com.br/Volume_I_II_03SPC1108_Rev00.pdf
- GRUNDEL, R.; JEAN, R. P.; FROHNAPPLE, K. J.; GLOWACKI, G. A.; SCOTT, P. E. & PAVLOVIC, N. B., 2010. Floral and nesting resources, habitat structure, and fire influence bee distribution across an open-forest gradient. *Ecological Applications*, **20**(6): 1678–1692.
- HEARD, T. A., 1999. The role of stingless bees in crop pollination. *Annual Review of Entomology* **44**: 183-206.
- HERRMANN, F.; WESTPHAL, C.; MORITZ, R. F. A. & STEFFAN-DEWENTER, I., 2007. Genetic diversity and mass resources promote colony size and foragers densities of a social bee (*Bombus pascuorum*) in agricultural landscapes. *Molecular Ecology* **16**: 1167-1178.
- JOHNSON, L. K., 1981. Flower clumping on defense of artificial flowers by aggressive stingless bees. *Biotropica* **13**(2): 151-157.
- NIEH, J. C., BARRETO, L. S., CONTRERA, F. A. L. & IMPERATRIZ-FONSECA, V. L., 2004. Olfactory eavesdropping by a competitively foraging *Trigona spinipes* stingless bee. *Proceedings of The Royal Society of London* **271**: 1633-1640.
- NIEH, J. C., KRUIZINGA, K., BARRETO, L. S., CONTRERA, F. A. L. & IMPERATRIZ-FONSECA, V. L., 2005. Effect of group size on the aggression strategy of an extirpating stingless bee, *Trigona spinipes*. *Insectes Sociaux* **52**: 147-154.
- PEREIRA, U. C. R., 2004. Ninhos de Meliponinae (Hymenoptera, Apidae) do Parque Municipal do Bacaba, Nova Xavantina – MT. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade do Estado do Mato Grosso.
- ROULSTON, T. H. & GOODELL, K., 2011. The role of resources and risks in regulating wild bee populations. *Annual Review of Entomology* **56**: 293-312.
- TEIXEIRA, A. F. R. & VIANA, B. F., 2005. Distribuição e densidade dos sítios nidificados pelos meliponíneos do médio São Francisco, Ibiraba, Barra, Bahia. *Revista Nordestina de Zoologia* **2**(1): 5-20.
- WILLIAMS, N. M.; CRONE, E. E.; ROULSTON, T. H.; MINCKLEY, R. L.; PACKER, L. & POTTS, S. G., 2010. Ecological and life-history traits predict

bee species responses to environmental disturbances. *Biological Conservation* **143**: 2280–2291.

WINFREE, R.; AGUILAR, R.; VÁZQUEZ, D. P.; LEBUHN, G. & AIZEN, M. A., 2009. A meta-analysis of bees' responses to antropogenic disturbance. *Ecology* **90**(8): 2068-2076.

ZAYED, A.; PACKER, L.; GRIXTI, J. C.; RUZ, L.; OWEN, R. E. & TORO, H., 2005. Increased genetic differentiation in a specialist versus a generalist bee: implications for conservation. *Conservation Genetics* **6**: 1017-1026.

Resumo Geral & Abstract

Resumo

A pressão antrópica sobre o cerrado vem transformando sua paisagem em um mosaico de fragmentos naturais imersos em uma matriz antropizada. A qualidade da vegetação dos fragmentos remanescentes depende em grande parte das populações de polinizadores, dos quais as abelhas são o grupo mais representativo. As abelhas sem ferrão (Apidae: Meliponini) compõem a maior biomassa de polinizadores nesse bioma. Seus ninhos são feitos usualmente em cavidades de troncos ou no solo e algumas espécies constroem ninhos expostos. Os fatores que levam os meliponíneos a nidificarem em uma determinada região são, a princípio, a disponibilidade de recursos (sítios de nidificação e alimento) e o comportamento competitivo intra e interespecífico. Mas esses não são os únicos determinantes, pois os fatores que levam as populações a se manterem, se expandirem ou se reduzirem nessa região estão ligados também à resposta de cada espécie ao grau de antropização da paisagem. O objetivo geral dessa tese foi investigar como fatores naturais e antrópicos afetam a nidificação de meliponíneos em ambiente de cerrado, visando responder às seguintes questões: a) Diferenças estruturais entre fitofisionomias de cerrado se refletem na composição de espécies? b) Como a redução das áreas naturais de cerrado e sua substituição por paisagens rurais e urbanas afetam as populações de ninhos de meliponíneos? e c) Como o relacionamento genético e a obtenção de recurso alimentar afetam a distribuição das colônias em uma área de cerrado? Para responder a essas questões, esta tese foi dividida em três capítulos: No capítulo 1, o objetivo foi compreender se e como a distribuição dos ninhos de Meliponini variaria entre três fisionomias de cerrado, campo sujo, campo cerrado e cerradão em Itirapina, SP, e como essa variação estaria relacionada a diferenças na disponibilidade de sítios de nidificação e de alimento em cada uma delas. Foi realizado um levantamento dos ninhos e uma avaliação da quantidade e composição de espécies de árvores em cada uma dessas fisionomias, além da contagem de plantas floridas durante 20 meses. Foram localizados 50 ninhos de Meliponini, sendo 17 no campo sujo (todos de *Trigona spinipes*), 19 no campo cerrado (18 de *T. spinipes* e um de *Melipona quadrifasciata*), 12 no cerradão (cinco de *T. spinipes*, três de *Tetragonisca angustula*, dois de *Leurotrigona muelleri*, um de *Trigona hyalinata* e um de *Plebeia droryana*) e dois de *T. spinipes* fora da área amostrada. A maior quantidade de árvores foi encontrada no cerradão, enquanto o maior número de plantas floridas foi encontrado no campo sujo. No capítulo 2, o objetivo foi avaliar o efeito da substituição das áreas naturais de cerrado por paisagens agrícolas e urbanizadas sobre as populações de Meliponini como um todo, e particularmente sobre abelhas *Melipona*. Os resultados obtidos em 31 levantamentos de ninhos em áreas de cerrado, além do levantamento feito em Itirapina, foram relacionados ao grau de antropização da paisagem. A avaliação da paisagem foi feita por meio da análise e classificação de imagens de satélite do entorno dos levantamentos. A riqueza de espécies de Meliponini se correlacionou negativamente com a proporção de áreas rurais, mas a composição de espécies se correlacionou positivamente. A composição de espécies se relacionou positivamente ao porte da vegetação também. Por sua vez, a densidade de ninhos e a composição de espécies de *Melipona* se correlacionaram negativamente com a proporção de áreas rurais. No capítulo 3, o objetivo foi verificar o grau de relacionamento genético e sua influência na distribuição das colônias de *T. spinipes* na paisagem, a distância utilizada para o forrageamento e o compartilhamento ou não de alimento entre colônias. Para isso, realizamos um estudo com marcadores de

microssatélites entre as colônias levantadas no capítulo 1, além um experimento de distância de forrageamento. As colônias vizinhas apresentaram um baixo grau de relacionamento genético entre si, mas as operárias coletadas em uma mesma flor apresentaram alto grau. A distância de forrageamento foi maior que a distância entre colônias vizinhas. Concluiu-se que: a) Fitofisionomias campestres podem apresentar uma abundância de ninhos maior do que fitofisionomias florestais, mas as fitofisionomias florestais podem apresentar uma riqueza maior de espécies. O tamanho da amostra pode subestimar a riqueza de espécies das fitofisionomias florestais. A relação positiva entre a composição de espécies de Meliponini e o porte da vegetação indica que há preferência de algumas espécies por determinada fitofisionomia. No entanto, a detecção de um padrão torna-se difícil dada a ubiquidade das espécies de comportamento mais plástico. b) A antropização pode ter um efeito negativo sobre as populações de Meliponini, podendo levar à perda de espécies. Para espécies de comportamento mais plástico, as áreas antropizadas não oferecem limitação de recursos, mas para espécies de comportamento mais restritivo, a substituição das áreas naturais pode ter um efeito deletério sobre suas populações. c) O baixo grau de relacionamento genético entre colônias próximas indica que não há limitação de fluxo gênico para *T. spinipes*. A capacidade de suas operárias em dominar um recurso floral pode excluir competitivamente abelhas de espécies menos agressivas. Se a matriz antropizada apresentar limitação de recursos, espécies de comportamento menos agressivo poderão não conseguir obter recursos alimentares, ficando isoladas em fragmentos de áreas naturais. O isolamento pode levar à perda de variabilidade genética e, conseqüentemente, à perda de espécies. Portanto, políticas de conservação que visem a proteção das espécies de Meliponini devem levar em conta não apenas a quantidade de árvores de uma região, mas também a qualidade e a heterogeneidade da vegetação, tanto nas áreas de proteção ambiental quanto nas áreas entre elas.

Abstract

The antropic pressure over the Cerrado has been transforming its landscape into a mosaic of fragments surrounded by an antropized matrix. The quality of the vegetation of the remaining fragments largely depends on the pollinators populations, which the bees are the most representative. The stingless bees (Apidae: Meliponini) compound the biggest biomass of this biome. Their nests are usually made inside trunk or soil cavities, but some species make exposed nests. The factors that lead Meliponini to nest in a given region are, at first, the resources availability (nest sites and food) and the intra- and interspecific competitive behavior. However, these are not the sole determinants, because the factors that lead to maintain, expand or reduce populations sizes are also related to the response of each species to the landscape antropization degree. The main general goal of this thesis was to investigate how natural and antropic factors affect the Meliponini nesting in Cerrado areas, seeking to answer the following questions: a) Do structure differences among cerrado phytophysognomies reflect in Meliponini species composition? b) How do the reduction of Cerrado natural areas and their replacement by rural and urban landscapes affect the Meliponini nest populations? and c) How do the genetic relationship and the obtaintion of food resources affect colony distribution in a Cerrado area? To answer these questions, this thesis was split in three chapters: In chapter 1, the objective was to understand if and how the Meliponini nest distribution would vary among three Cerrado phytophysognomies, namely campo sujo, campo cerrado and cerradão in Itirapina, SP, and how this variation would be related to differences in nesting sites and food availability in each one of them. A nest survey and an evaluation of the trees amount and species composition were undertaken in each phytophysognomie, besides flowering plants count over 20 months. We found 50 Meliponini nests, being 17 in campo sujo (all belonging to *Trigona spinipes*), 19 in campo cerrado (18 of *T. spinipes* and one of *Melipona quadrifasciata*), 12 in cerradão (five of *T. spinipes*, three of *Tetragonisca angustula*, two of *Leurotrigona muelleri*, one of *Trigona hyalinata* and one of *Plebeia droryana*) and two nests of *T. spinipes* outside the sampled area. The highest amount of threes was found in cerradão while the highest amount of flowered plants was found in campo sujo. In chapter 2, the objective was to evaluate the effect of replacement of natural Cerrado areas by rural and urban landscapes over general Meliponini populations and particularly over *Melipona* bees. The results of 31 nests surveys in Cerrado areas besides those conducted in Itirapina were correlated to the antropization degree of the landscape. Landscape evaluation was undertaken by analysis and classification of satellite images from the surveyed surrounding areas. The Meliponini species richness was negatively related to the proportion of rural areas, but species composition was positively related. Species composition was positive related to vegetation size too. I turn, both *Melipona* nests density and *Melipona* species composition were negatively related to the proportion of rural areas. In chapter 3, the objective was to verify the degree of genetic relationship and its influence over *T. spinipes* colony distribution in the landscape, the foraging distance and if there was or was not sharing food among colonies. To accomplish this, a microsatellite markers study was undertaken among colonies found in chapter 1, plus a foraging range experiment. Neighbor nests shown a low genetic relationship degree among them, but workers collected at the same flower showed a high degree of genetic relationship. Foraging distance was farther

than the distance between neighbor colonies. We conclude that: a) Grassland phytophysionomies may show a nest abundance higher than forest phytophysionomies, but these can show a higher species richness. Sample size can underestimate species richness in forest phytophysionomies. The positive relationship between Meliponini species composition and vegetation size indicates that there are preferences of some species to some phytophysionomies. However, the ubiquity of species with a plastic behavior may difficult the finding of a pattern. b) Antropization may have a negative effect over Meliponini population, leading to species loss. To the species with a more plastic behavior, antropized areas do not offer resources limitation, but to species with a more restrictive behavior, the replacement of natural areas may have a deleterious effect on their populations. c) The low degree of genetic relationship among neighbor nests indicates that there is no genetic flow limitation to *T. spinipes*. The ability of *T. spinipes* workers to dominate a flower resource may competitively exclude less aggressive bees. If the antropized matrix presents resource limitation, less aggressive species may not obtain food resources, becoming isolated in fragments of natural areas. The isolation may lead to loss of genetic variability and consequentially to species loss. Thus, conservation policies aiming at Meliponini species protection must take in account not only the amount of trees of a given region, but also the quality and heterogeneity of vegetation, as much in areas of environmental protection as the areas among them.

Apêndices

Apêndice 1: Lista de espécies lenhosas identificadas no campo sujo e campo cerrado

Família	Espécie	Nome popular	Campo Sujo	Campo Cerrado
Annonaceae	<i>Annona dioica</i> A. St. -Hil.	Araticum grande	X	X
Annonaceae	<i>Annona coriaceae</i> Mart.	Marolinho	X	X
Annonaceae	<i>Annona crassiflora</i> Mart.	Araticum-do-cerrado		X
Annonaceae	<i>Xylopia aromatica</i> (Lam.) Mart.	Pimenta-de-macaco		X
Apocynaceae	<i>Hancornia speciosa</i> Gomes	Mangabeira	X	X
Apocynaceae	<i>Himatanthus obovatus</i> (M. Arg.) Woods.	Angélica	X	X
Araliaceae	<i>Schefflera macrocarpa</i> (Seem.) Frodin	Mandiocão		X
Asteraceae	<i>Gochnatia pulchra</i> Cabrera	Cambará		X
Asteraceae	<i>Piptocarpha rotundifolia</i> (Less.) Baker	Candeia	X	X
Bignoniaceae	<i>Tabebuia aurea</i> (Vahl.) Nich.	Ipê-amarelo	X	X
Bombacaceae	<i>Eriotheca gracilipes</i> (K. Schum.) Robyns	Paineira-do-cerrado	X	X
Cesalpiniaceae	<i>Dimorphandra mollis</i> Benth.	Faveira	X	X
Chrysobalanaceae	<i>Couepia grandiflora</i> (Mart. & Zucc.) Benth. & Hook.	Oiticica	X	X
Clusiaceae	<i>Kielmeyera coriacea</i> (Spreng.) Mart.	Pau-Santo	X	X
Clusiaceae	<i>Kielmeyera grandiflora</i> (Wawra) Saddi	---		X
Connaraceae	<i>Connarus suberosus</i> Planch	Pau-Ferro		X
Ebenaceae	<i>Diospyrus hispida</i> Baker	Caqui-do-cerrado	X	X
Erythroxylaceae	<i>Erythroxylum deciduum</i> St. Hil.	Cocão		X
Erythroxylaceae	<i>Erythroxylum tortuosum</i> Mart.	Mercúrio-do-campo	X	X
Euphorbiaceae	<i>Croton floribundus</i> Spreng	Capixingui	X	X
Fabaceae	<i>Dalbergia miscolobium</i> Benth.	Jacarandá-do-cerrado	X	X
Lauraceae	<i>Ocotea corymbosa</i> (Myers.) Mez.	Canela		X

Apêndice 1 – Continuação

Família	Espécie	Nome popular	Campo Sujo	Campo Cerrado
Malpighiaceae	<i>Byrsonima intermedia</i> A. Juss.	Murici	X	X
Malpighiaceae	<i>Byrsonima verbascifolia</i> (L.) Rich. ex A. L. Juss.	Muricizinho	X	X
Melastomataceae	<i>Miconia albicans</i> (Sw.) Triana	Folha-branca		X
Melastomataceae	<i>Miconia ligustroides</i> (DC.) Naud.	Jacatirão-do-brejo		X
Mimosaceae	<i>Enterolobium gummiforum</i> (Mart.) Macb.	Timburi-do-cerrado		X
Mimosaceae	<i>Stryphnodendron adstringens</i> (Mart.) Cov.	Barbatimão	X	X
Mimosaceae	<i>Stryphnodendron obovatum</i> Benth.	Barbatimão		X
Myrcinaceae	<i>Rapanea guianensis</i> Aubl.	Pororoca	X	X
Myrtaceae	<i>Campomanesia pubescens</i> (DC.) Berg	Gabirola		X
Myrtaceae	<i>Eugenia aurata</i> Berg	Eugenia	X	X
Myrtaceae	<i>Eugenia punicifolia</i> (H. B. & K.) DC.	Pitanguinha	X	X
Myrtaceae	<i>Eugenia</i> sp	---		X
Myrtaceae	<i>Myrcia tomentosa</i> (Aubl.) DC.	Goiaba-brava		X
Myrtaceae	<i>Myrcia lingua</i> (Berg) Mattos & Legrand	Brasa-viva		X
Myrtaceae	<i>Myrcia</i> sp	---		X
Sapotaceae	<i>Pouteria torta</i> (Mart.) Radlk	Guapeva	X	X
Styracaceae	<i>Styrax ferrugineus</i> Nees & Mart.	Laranjinha-do-cerrado		X
Styracaceae	<i>Styrax camporum</i> Pohl	Benjoeiro		X
Verbenaceae	<i>Aegiphila lhotzkyana</i> L.	Pau-de-sebo		X
Verbenaceae	<i>Lippia corymbosa</i> Cham.	---		X
Volchysiaceae	<i>Qualea</i> sp.	---		X
Volchysiaceae	<i>Vochysia tucanorum</i> Mart.	Pau-de-tucano		X

Apêndice 2: Ninhos de Meliponini levantados na EEI e no IAB

Leurotrigona muelleri – ninho 1

Leurotrigona muelleri – ninho 2

Melipona quadrifasciata anthidioides

Plebeia droryana

Tetragonisca angustula – ninho 1

Tetragonisca angustula – ninho 2

Apêndice 2 - continuação

Tetragonisca angustula – ninho 3

Trigona hyalinata – ninho e entrada

Trigona spinipes – ninho 1 e entrada

Trigona spinipes – ninho 2 e entrada

Trigona spinipes – ninho 3 e entrada

Trigona spinipes – ninho 4 e entrada

Apêndice 2 - continuação

Trigona spinipes – ninho 5

Trigona spinipes – ninho 6 e entrada

Trigona spinipes – ninho 7 e entrada

Trigona spinipes – ninho 8. Setas: entradas

Trigona spinipes – ninho 9. Setas: entradas

Trigona spinipes – ninho 10 e entrada

Apêndice 2 - continuação

Trigona spinipes – ninho 11 e entrada

Trigona spinipes – ninho 12. Seta: entrada

Trigona spinipes – ninho 13 e entrada

Trigona spinipes – ninho 14 e entrada

Trigona spinipes – ninho 15 e entrada

Trigona spinipes – ninho 16

Apêndice 2 - continuação

Trigona spinipes – ninho 17 e entrada

Trigona spinipes – ninho 18 e entrada

Trigona spinipes – ninho 19 e entrada

Trigona spinipes – ninho 20 e entrada

Trigona spinipes – ninho 21 e entrada

Trigona spinipes – ninho 22 e entrada

Apêndice 2 - continuação

Trigona spinipes – ninho 23 (entrada)

Trigona spinipes – ninho 24 e entrada

Trigona spinipes – ninho 25 e entrada

Trigona spinipes – ninho 26 e entrada

Trigona spinipes – ninho 27 e entrada

Trigona spinipes – ninho 28 e entrada

Apêndice 2 - continuação

Trigona spinipes – ninho 29 e entrada *Trigona spinipes* – ninho 30 e entrada *Trigona spinipes* – ninho 31 e entrada *Trigona spinipes* – ninho 32 e entrada *Trigona spinipes* – ninho 33 e entrada *Trigona spinipes* – ninho 34 e entrada

Apêndice 2 - continuação

Trigona spinipes – ninho 35 (entrada)

Trigona spinipes – ninho 36 e entrada

Trigona spinipes – ninho 37 e entrada

Trigona spinipes – ninho 38 (restos)

Trigona spinipes – ninho 39 e entrada

Trigona spinipes – ninho 40 e entrada

Apêndice 2 - continuação

Trigona spinipes – ninho 41

Trigona spinipes – ninho 42

Apêndice 3: Lista de alelos amplificados para cada operária de *T. spinipes*. O primeiro número corresponde ao número da colônia. “A” indica amostra e corresponde aos indivíduos coletados em flores.

indivíduo	Par de alelos amplificados por loco												Tang60
	Trig1B		Trig1D		Trig2A		Trig2F		Trig3G		Trig4D		
1-1	162	162	166	188	159	174	201	201	195	195	122	122	167 169
1-2	162	162	176	188	159	174	201	201	195	195	122	122	167 169
1-3	162	166	166	188	159	174	201	201	195	195	122	122	167 169
1-5	162	162	166	188	159	174	201	201	195	195	122	122	167 169
2-1	163	167	166	172	153	174	201	201	194	194	122	122	148 169
2-2	0	0	166	172	149	174	201	204	194	199	122	122	167 169
2-3	163	167	166	172	153	174	201	204	194	194	111	122	148 169
2-4	163	167	168	172	149	174	201	201	194	199	111	122	167 169
2-5	163	167	166	172	153	174	201	201	194	199	122	122	167 169
3-1	163	170	166	176	169	174	201	206	195	195	122	129	165 175
3-2	163	166	166	176	169	169	201	206	195	195	112	129	167 175
3-3	163	166	166	170	169	174	203	206	195	195	112	129	167 175
3-4	163	170	166	176	169	174	203	206	195	195	112	129	167 175
3-5	163	170	166	170	169	174	201	206	195	195	122	129	167 175
4-1	163	166	166	170	174	174	201	206	195	195	112	122	165 170
4-2	163	166	166	170	169	174	201	206	195	195	112	129	170 175
4-3	163	163	166	170	174	174	201	206	195	195	112	122	170 175
4-4	163	166	166	170	169	174	201	206	195	195	122	129	165 170
4-5	163	163	166	170	169	174	203	206	195	195	122	129	170 175
5-1	163	163	158	166	151	174	201	201	194	194	122	129	168 170

Apêndice 3 - continuação

indivíduo	Par de alelos amplificados por loco													
	Trig1B		Trig1D		Trig2A		Trig2F		Trig3G		Trig4D		Tang60	
5-2	0	0	158	166	151	174	201	201	194	194	122	129	168	170
5-3	163	170	158	164	151	174	201	203	194	194	122	122	166	170
5-4	163	170	158	164	151	174	201	203	194	194	122	122	168	170
5-5	0	0	158	166	151	174	201	201	194	194	122	129	166	170
6-1	163	166	162	170	149	174	201	217	196	200	122	138	169	169
6-2	163	166	162	176	149	174	201	217	196	196	122	138	169	169
6-3	166	173	162	176	151	174	201	217	196	200	122	122	169	169
6-4	163	166	162	170	149	174	205	217	196	200	122	122	169	169
6-5	163	166	162	176	151	174	205	217	196	200	122	122	169	169
7-1	163	166	168	170	151	171	201	201	182	194	125	129	170	170
7-2	163	166	168	168	151	174	201	201	182	194	125	129	170	172
7-3	0	0	168	168	151	174	201	201	182	194	125	129	170	170
7-4	0	0	168	170	151	174	201	201	182	194	125	129	170	170
7-5	166	172	168	170	151	174	201	201	182	194	125	129	170	170
8s-1	163	166	155	162	151	174	201	205	195	195	122	122	170	170
8s-2	0	0	151	155	151	174	201	203	195	195	122	122	170	176
8s-3	166	173	0	0	151	151	201	205	195	195	122	122	170	176
8s-4	166	173	151	155	151	174	201	205	195	195	122	122	170	170
8s-5	166	173	151	155	151	151	201	203	195	195	122	122	170	176
8w-1	166	166	151	155	151	174	201	205	195	195	122	122	170	170
8w-2	166	173	155	162	151	151	201	203	195	195	122	122	170	170
8w-3	163	166	155	162	151	174	201	203	195	195	122	122	170	176
8w-4	0	0	0	0	151	174	201	203	195	200	122	122	170	170
8w-5	166	173	0	0	151	174	201	205	195	195	122	122	170	170

Apêndice 3 - continuação

indivíduo	Par de alelos amplificados por loco												
	Trig1B		Trig1D		Trig2A		Trig2F		Trig3G		Trig4D		Tang60
9-1	0	0	168	170	151	174	201	206	194	194	133	133	169 171
9-2	0	0	168	170	151	174	201	201	194	194	133	133	169 171
9-3	163	173	168	170	151	174	201	206	194	194	133	133	169 171
9-4	0	0	168	170	151	174	201	206	194	194	133	133	169 171
9-5	163	167	168	170	151	174	201	201	194	194	0	0	169 169
9b-1	163	173	168	170	151	151	201	201	194	194	0	0	169 171
9b-2	163	173	170	170	151	174	201	206	194	194	133	133	169 171
9b-3	0	0	168	170	151	151	201	206	194	194	133	133	169 171
9b-4	163	173	168	170	151	151	201	201	194	194	133	133	169 171
9b-5	0	0	168	170	151	174	201	201	194	194	133	133	169 171
10-1	0	0	162	162	151	163	201	209	195	195	0	0	169 169
10-2	0	0	162	166	151	163	201	209	195	195	129	129	169 169
10-3	166	173	162	162	151	163	201	209	195	195	129	129	169 169
10-4	162	173	162	162	151	163	201	209	195	195	129	129	169 169
10-5	162	173	162	162	151	163	201	209	195	195	129	129	169 169
11-1	166	173	158	158	151	174	199	201	196	196	128	128	170 170
11-2	0	0	158	158	151	174	199	201	196	196	128	128	170 170
11-3	166	173	158	166	151	174	199	201	196	196	0	0	170 170
11-4	166	173	158	166	151	151	199	201	196	196	0	0	170 170
11-5	0	0	158	166	151	174	199	201	196	196	129	129	170 170
12-1	169	169	151	168	151	174	203	205	194	200	122	122	169 169
12-2	163	169	151	162	151	174	203	205	194	200	122	122	169 169
12-3	0	0	151	162	151	174	203	205	194	200	122	127	169 169
12-4	0	0	151	162	151	174	200	203	194	200	122	122	169 169

Apêndice 3 - continuação

indivíduo	Par de alelos amplificados por loco													
	Trig1B		Trig1D		Trig2A		Trig2F		Trig3G		Trig4D		Tang60	
12-5	163	169	151	162	151	174	200	203	194	200	122	122	169	169
13-1	163	166	159	166	151	165	197	201	187	200	0	0	168	173
13-2	163	166	159	168	151	165	197	201	195	200	0	0	168	173
13-3	0	0	159	168	159	165	197	201	187	200	127	131	168	173
13-4	163	163	159	166	151	165	197	201	195	200	129	131	168	173
13-5	0	0	159	168	159	165	197	201	195	200	127	131	168	173
14-1	172	180	164	176	151	163	201	206	196	196	122	122	170	170
14-2	172	180	164	171	151	163	201	201	196	200	122	122	170	170
14-3	172	180	164	176	151	163	201	206	196	200	122	122	170	170
14-4	0	0	164	176	151	163	201	201	196	200	122	122	170	170
14-5	166	180	164	176	151	163	201	206	196	200	122	122	170	170
15-1	0	0	166	168	151	174	206	206	195	195	122	129	170	170
15-2	165	173	166	168	151	174	206	206	195	195	127	129	170	170
15-3	165	173	166	166	151	151	206	206	195	195	122	129	170	170
15-4	165	165	166	166	151	174	201	206	195	195	122	129	170	170
15-5	165	173	166	168	151	151	201	206	195	195	127	129	170	177
16-1	163	163	157	164	169	174	203	203	194	196	122	129	166	177
16-2	163	163	164	164	169	174	203	203	194	196	0	0	168	177
16-3	163	163	164	164	169	174	203	203	194	196	122	129	168	177
16-4	163	167	157	164	169	174	203	203	194	196	122	129	168	177
16-5	163	167	157	164	169	174	203	203	194	196	122	129	168	177
17-1	160	166	156	170	151	174	201	201	194	196	122	122	168	171
17-2	166	173	156	170	151	174	201	201	194	196	122	122	168	171
17-3	0	0	156	170	151	174	201	201	194	196	122	122	168	171

Apêndice 3 - continuação

Par de alelos amplificados por loco														
indivíduo	Trig1B		Trig1D		Trig2A		Trig2F		Trig3G		Trig4D		Tang60	
17-4	160	166	156	170	151	151	201	201	194	196	122	122	171	171
17-5	160	166	156	170	151	174	201	201	194	196	122	122	171	171
18-1	162	173	174	176	151	170	200	203	194	196	129	129	169	169
18-2	162	173	168	176	170	174	200	203	196	196	122	129	169	173
18-3	0	0	168	176	170	174	200	203	196	196	129	129	169	173
18-4	162	173	174	176	151	170	200	203	196	196	129	129	169	169
18-5	162	173	168	176	151	170	200	203	194	196	122	129	169	173
19-1	162	173	166	170	151	174	203	213	195	195	122	122	168	180
19-2	0	0	166	170	174	174	203	213	195	200	122	122	168	180
19-4	162	173	166	170	174	174	203	213	195	195	122	122	168	168
19-5	162	169	166	170	174	174	203	213	195	195	122	122	168	180
20 velho	166	173	151	164	151	174	204	204	195	200	122	129	168	168
20a	166	173	164	168	151	151	201	204	195	200	122	129	168	168
20b	166	173	151	164	151	174	204	204	195	200	122	129	168	176
20c	166	173	151	164	151	174	204	204	195	200	122	129	168	176
21-1	0	0	164	164	151	174	203	203	195	195	122	122	170	170
21-2	166	173	164	164	151	174	203	205	195	200	122	129	170	170
21-3	0	0	164	164	151	174	203	205	195	195	122	129	170	170
21-4	166	173	164	164	174	174	203	203	195	195	122	122	170	170
21-5	166	173	164	168	151	174	0	0	195	200	0	0	170	170
22-c	164	166	168	176	151	174	201	205	182	195	122	127	170	170
23-a	162	173	178	180	169	174	206	209	195	195	129	129	170	170
23-b	162	173	166	180	167	169	201	209	195	195	0	0	170	170
23-c	162	173	166	180	167	169	206	209	195	195	122	129	170	170

Apêndice 3 - continuação

indivíduo	Par de alelos amplificados por loco													
	Trig1B		Trig1D		Trig2A		Trig2F		Trig3G		Trig4D		Tang60	
24-a	162	173	166	166	151	174	206	206	193	195	120	122	170	170
29-1	0	0	162	172	151	174	203	205	195	195	127	127	170	170
29-2	162	173	162	164	151	174	203	205	195	195	127	129	165	170
29-3	162	173	0	0	151	174	203	205	195	195	127	129	165	170
29-4	0	0	162	164	151	174	203	205	195	195	127	129	165	170
29-5	162	173	162	172	151	174	203	205	195	195	127	129	170	170
31-1	162	173	168	176	151	174	203	205	194	196	129	129	170	170
31-2	162	173	168	168	151	151	203	205	194	196	122	129	168	170
31-3	162	173	168	168	151	174	203	205	194	196	129	129	170	170
31-4	0	0	168	176	151	174	205	205	194	194	122	129	170	170
31-5	0	0	168	176	151	174	205	205	194	196	122	129	170	170
33-1	162	173	162	166	151	169	209	209	195	200	122	129	168	171
33-2	166	173	166	166	0	0	202	209	195	200	122	129	168	171
33-3	162	173	166	166	169	171	202	209	195	200	122	129	168	171
33-4	0	0	166	166	151	169	209	209	195	200	122	122	168	171
33-5	0	0	166	166	151	169	0	0	195	200	122	129	168	171
34-1	0	0	162	162	151	163	202	205	196	196	122	129	165	170
34-2	0	0	155	162	151	163	203	205	194	196	122	129	165	170
34-3	0	0	155	162	151	163	202	205	194	196	122	129	165	170
34-4	162	173	155	162	151	163	0	0	194	196	122	129	165	170
34-5	0	0	162	162	151	163	203	205	196	196	122	129	165	170
35-1	0	0	170	170	0	0	198	200	195	195	0	0	169	169
35-2	0	0	168	170	151	151	198	201	195	195	122	127	169	169
35-3	0	0	170	176	151	151	198	201	195	195	122	122	169	169

Apêndice 3 - continuação

indivíduo	Par de alelos amplificados por loco													
	Trig1B		Trig1D		Trig2A		Trig2F		Trig3G		Trig4D		Tang60	
35-4	0	0	168	170	151	151	198	200	195	195	122	122	169	169
35-5	173	173	168	170	151	151	198	200	195	195	122	122	169	169
36-1	0	0	164	166	151	159	201	203	194	196	0	0	170	170
36-2	0	0	164	166	151	153	201	203	194	196	0	0	170	170
36-3	0	0	151	164	151	153	201	203	194	196	127	127	170	170
36-4	0	0	151	164	151	153	201	203	194	196	0	0	170	170
36-5	162	173	164	166	151	153	199	201	194	196	0	0	170	170
37-1	0	0	164	180	157	159	201	205	187	196	129	129	0	0
37-2	0	0	0	0	151	157	201	205	194	196	0	0	169	177
37-3	0	0	178	180	151	157	201	205	187	196	129	129	169	177
37-4	0	0	0	0	151	157	201	205	187	196	129	129	169	177
37-5	164	173	0	0	151	157	201	205	194	196	127	129	167	177
39-1	0	0	166	166	151	159	205	205	196	200	120	128	170	170
39-2	0	0	166	166	159	163	205	205	194	200	128	128	170	170
39-3	164	175	166	174	159	163	203	205	194	200	120	128	170	170
39-4	0	0	166	166	151	159	203	205	194	200	128	128	170	170
39-5	0	0	166	166	159	163	203	205	196	200	128	128	170	170
40-1	167	173	164	180	161	163	201	203	194	196	122	129	170	170
40-2	164	173	164	180	161	163	201	203	194	200	0	0	170	170
40-3	0	0	176	180	151	161	201	203	194	196	122	129	170	170
40-4	0	0	164	180	161	163	201	201	194	196	122	129	170	170
40-5	0	0	164	180	151	161	201	203	194	196	122	129	170	170
42-1	0	0	0	0	151	151	0	0	195	195	129	129	170	170
42-2	0	0	156	166	151	151	0	0	195	195	129	129	170	170

Apêndice 3 - continuação

	Par de alelos amplificados por loco													
indivíduo	Trig1B		Trig1D		Trig2A		Trig2F		Trig3G		Trig4D		Tang60	
42-3	166	173	0	0	151	151	201	205	195	195	129	129	170	170
42-4	0	0	166	166	151	151	201	205	195	195	129	129	170	170
42-5	166	175	0	0	151	151	0	0	195	195	122	129	170	170
A1-1	0	0	0	0	151	157	201	206	182	195	122	122	170	170
A1-2	0	0	0	0	151	157	201	206	182	195	122	129	170	173
A1-B	0	0	170	180	151	167	201	201	195	195	122	122	170	170
A2-1	166	173	0	0	151	163	201	206	194	196	129	129	170	170
A2-2	166	166	156	166	151	163	199	201	194	196	129	129	170	175
A2-3	0	0	166	166	151	163	0	0	194	196	129	129	170	170
A3	0	0	166	170	0	0	201	206	194	196	122	122	169	169
A4	0	0	0	0	151	163	201	201	196	196	129	129	165	170
A5-1	0	0	0	0	0	0	201	206	0	0	122	129	165	170
A5-2	0	0	0	0	171	171	201	206	196	196	122	122	0	0
A5-3	0	0	0	0	0	0	201	201	196	196	122	122	165	170
A5-4	0	0	170	170	0	0	201	201	196	196	122	129	165	170
A5-5	0	0	0	0	0	0	201	201	196	196	129	129	0	0
A6	0	0	0	0	0	0	201	201	195	195	122	129	0	0
A7	0	0	0	0	0	0	201	201	195	195	122	122	167	167
A8	0	0	166	172	166	166	201	203	195	195	122	129	170	170
A9	0	0	0	0	0	0	201	201	194	196	120	122	170	172
A10	0	0	0	0	151	151	201	201	194	200	122	129	170	170
A11	0	0	155	172	151	169	0	0	194	200	125	129	170	172
A12	0	0	176	176	0	0	201	201	194	196	120	122	169	175
A13	0	0	176	176	151	151	199	201	194	194	120	120	169	175

Apêndice 3 - continuação

indivíduo	Par de alelos amplificados por loco													
	Trig1B		Trig1D		Trig2A		Trig2F		Trig3G		Trig4D		Tang60	
A14-1	173	173	164	170	0	0	203	205	195	200	122	127	167	169
A14-2	0	0	0	0	0	0	203	205	195	200	122	127	167	169
A14-3	173	180	164	176	171	171	203	205	195	200	122	127	169	169
A15-1	163	173	164	176	151	174	203	205	195	200	122	127	169	169
A15-2	173	180	164	176	151	170	203	205	195	200	122	127	167	169
A15-3	0	0	0	0	151	174	203	205	195	195	122	129	0	0
A-16	173	173	166	170	151	151	204	206	195	195	122	129	170	170
A17	173	173	0	0	151	151	0	0	195	195	122	122	170	170
A18	173	173	0	0	0	0	201	203	0	0	122	122	169	176
A19	173	173	0	0	0	0	200	204	195	195	122	127	170	170
A20-1	163	174	166	176	151	157	201	205	0	0	122	122	0	0
A20-2	0	0	0	0	151	157	205	205	182	200	122	129	170	170
A20-3	0	0	166	170	151	157	201	205	0	0	122	122	170	170
A20-4	0	0	0	0	151	151	205	205	0	0	122	122	170	170
A20-5	0	0	0	0	151	151	205	205	182	195	122	122	170	170
A21-1	0	0	0	0	151	159	201	201	0	0	122	127	167	172
A21-2	0	0	0	0	151	159	201	201	0	0	122	127	0	0
A21-3	0	0	0	0	151	159	0	0	194	194	122	129	167	167
A21-4	0	0	0	0	151	159	201	201	0	0	122	129	167	167
A21-5	0	0	168	174	151	151	0	0	194	194	122	127	167	172
A22-1	0	0	162	178	0	0	201	201	0	0	122	129	167	171
A22-2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	122	122	167	171
A22-3	0	0	0	0	151	151	201	201	0	0	122	122	167	167
A22-4	0	0	0	0	0	0	201	203	0	0	122	122	167	167

Apêndice 3 - continuação

Par de alelos amplificados por loco														
indivíduo	Trig1B		Trig1D		Trig2A		Trig2F		Trig3G		Trig4D		Tang60	
A22-5	0	0	0	0	151	151	201	203	0	0	0	0	167	171
A23-1	0	0	0	0	0	0	201	201	200	200	120	120	171	178
A23-2	169	177	0	0	151	151	201	201	0	0	120	120	167	178
A23-3	0	0	0	0	151	151	201	201	195	200	0	0	167	178
A23-4	0	0	162	162	151	151	201	201	0	0	120	122	171	178
A23-5	0	0	0	0	151	151	201	201	195	200	0	0	167	178
A24	0	0	164	170	151	174	202	202	194	200	128	128	170	170