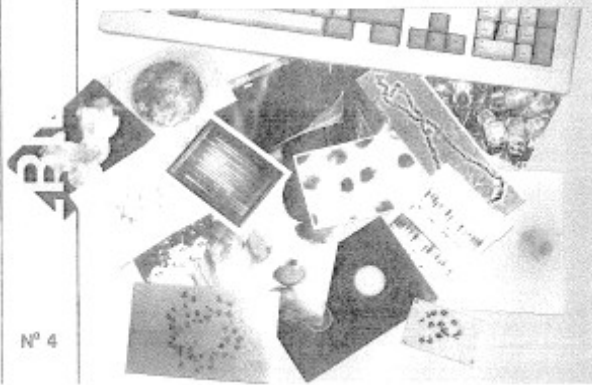


# A MANDAÇAIA

Biologia de abelhas, manejo e multiplicação artificial de colônias de *Melipona quadrifasciata* Lep. (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae)

Davi Said Aidar

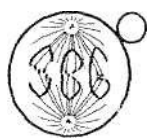


Nº 4

Nota do digitalizador: este livro foi digitalizado a partir de um arquivo pdf baixado da internet, que era um scanner de uma xérox do livro. Por isso as figuras estão com qualidade baixa.

Biologia de abelhas, manejo e multiplicação  
artificial de colônias de *Melipona quadrifasciata*  
Lep, (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae)

**David Said Aidar**



Obra publicada pela SOCIEDADE BRASILEIRA DE GENÉTICA  
Diretoria (1996/1998)

Presidente - João Lúcio de Azevedo

Vice-Presidente - Edmundo Kanan Marques

1º Secretário - Gerhard Bandel

2º Secretário - Carlos Guilherme Gaelzer Porciuncula

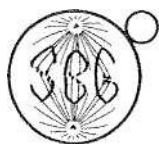
1º Tesoureiro - Catarina Satie Takahashi

2º Tesoureiro - Maria Luiza Petzl-Erler

Editor da Revista Brasileira de Genética: Francisco Alberto de Moura Duarte

Coordenador da publicação de livros:

Fábio de Melo Sene



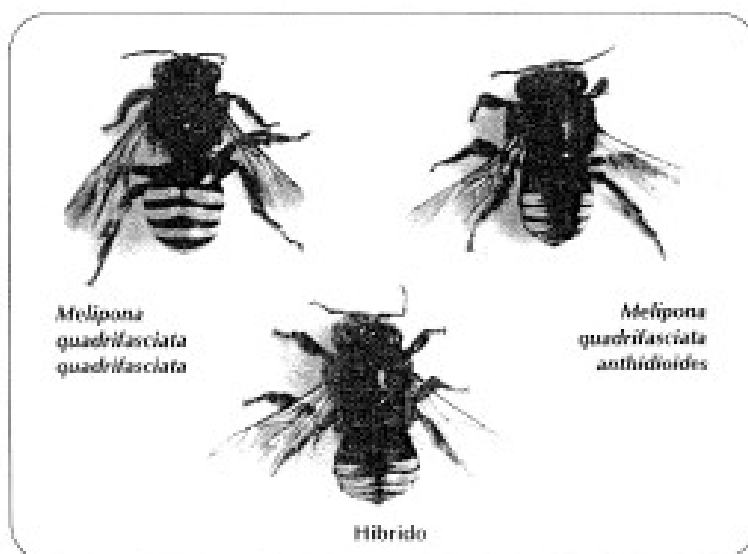
Sociedade Brasileira de Genética

# SERIE MONOGRAFIAS

## Nº4

Biologia de abelhas, manejo e multiplicação  
artificial de colônias de *Melipona quadrifasciata*  
Lep. (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae)

Davi Said Aidar



Copyright © 1996 por Sociedade Brasileira de Genética

Proibida a reprodução dos textos originais, mesmo parcial, e por qualquer processo, sem autorização dos autores e da editora

595.799 A288rn

Aidar, Davi Said

A mandaçaia: biologia de abelhas, manejo e multiplicação artificial de colônias de *Melipona quadrifasciata*/ Davi Said Aidar. - Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1996.  
104 p. ; il. ; 23 cm. Série Monografias, n° 4

1.595.799 - Abelhas. I, Título

Diagramação: Paulo Braga Neto

Capa: Nilda Maria Diniz

Composição: Heloísa Helena Leite Fernandes

Impressão e acabamento: Gráfica e Editora F.C.Â.

Direitos reservados por: SOCIEDADE BRASILEIRA DE GENÉTICA

1996

Impresso no Brasil

# A Mandaçaia

## BIOLOGIA DE ABELHAS, MANEJO E MULTIPLICAÇÃO ARTIFICIAL DE COLÔNIAS DE *Melipona quadrifasciata* Lep. (HYMENOPTERA, APIDAE, MELIPONINAE)

*"Vivemos sobre os alicerces construídos pelas gerações anteriores e só muito vagamente podemos compreender os penosos e prolongados esforços que custaram à humanidade para atingir o ponto, não muito elevado afinal de contas, a que chegamos. Devemos nossa gratidão aos trabalhadores anônimos e esquecidos cuja reflexão paciente, cujos esforços constantes em grande parte contribuíram para fazer de nós o que somos,"*

**James George Frazer**

### O AUTOR

DAVI S. AIDAR nasceu em 15 de março de 1963, em Rio Verde, GO, Brasil.

Em outubro de 1989 graduou-se em Zootecnia, pela Fundação Universidade Estadual de Maringá (FUEM).

Durante a graduação, foi bolsista de iniciação científica pelo CNPq e LBA, sob a orientação dos Profs. Dra. Silvia Lima e Dr. Osvaldo Hidalgo, quando realizou estudos sobre Reprodução Animal e Extensão Rural, respectivamente.

Neste mesmo período foi bolsista do PAEST no projeto "Ação de agentes colinérgicos em ilhotas pancreáticas isoladas de ratos: efeito da idade", com a orientação do Dr. Paulo C. Mathias.

Em 1991 e 1992 foi bolsista de aperfeiçoamento pelo CNPq em Uberlândia, MG, sob orientação do Dr. Warwick Estevam Kerr, tendo realizado estudos sobre genética, biologia e manejo de *Melipona scutellaris* Lep. (uruçudo-nordeste).

Em março de 1993 iniciou o curso de Mestrado em Entomologia na Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, MG, sob orientação do Prof- Dr. Lúcio A.O. Campos, obtendo o título de "Magister Scientiae" em março de 1995. Nesta mesma data iniciou o curso de Doutorado em Entomologia na Universidade de São Paulo (Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto (USP), Ribeirão Preto, SP.

# ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	9
1.1.As abelhas e seu hábitat	9
1.2.A meliponicultura na América Latina	14
1.3.Distribuição Geográfica da Mandaçaia	19
2. TÉCNICAS DE MANEJO NA MELIPONICULTURA	20
2.1.A Nota de uma Colônia	22
2.2.O Peso das Colmeias	24
2.3.Modelos de Colmeias	25
2.4.Multiplicação Artificial de Colônias	30
3. ASPECTOS REPRODUTIVOS EM ABELHAS	34
3.1.Anatomia dos Órgãos Reprodutivos do Zangão	34
3.2.Descrição do Espermatozóide	36
3.3.Produção e Migração dos Espermatozóides para as Vesículas Seminais	37
3.4.Anatomia dos Órgãos Reprodutivos da Rainha	38
3.5.Manutenção dos Espermatozóides na Espermateca	39
3.6.Maturação Sexual	42
3.7.Mecanismos Etológicos de Cópula	43
4. MÉTODOS PARA MULTIPLICAÇÃO ARTIFICIAL DE COLÔNIAS	45
4.1.Método 1: Formação com Rainha Fisogástrica Acasalada Naturalmente	47
4.2.Método 2: Formação em Orfanade	48
4.3.Método 3: Formação com Rainha Fisogástrica Acasalada em Laboratório	49
4.4.Cuidados Iniciais com Colônias Recém Formadas	50
4.5.Avaliação do Desenvolvimento das Colônias	53
4.6.Revisões das Colônias Formadas	54
4.7.Coleta de Zangões, Rainhas e Operárias	56
4.8.Alimentação Artificial	57

4.8.1 Alimentação Energética: XAROPE-A	59
4.8.2 Alimentação Protéica	62
4.9. Observações Gerais	64
5. ACOMPANHAMENTO ESTATÍSTICO DAS COLÔNIAS FORMADAS	65
5.1. Avaliação e Coleta de Dados	65
5.2. Análise dos Resultados	67
5.3. Correlação Nota e Peso	68
5.4. Comportamento das Colônias de Acordo com Variáveis Peso e Nota	68
5.5. Comparação entre os Métodos com Relação ao Desenvolvimento das Colônias	75
5.5.1. Tempo Médio até Atingir Nota 7,0	76
5.5.2. Ajuste de Modelos que Representam o Comportamento das Notas com o Tempo	77
5.5.2.1. Método 1	78
5.5.2.2. Método 2	78
5.5.2.3. Método 3	79
5.5.3. Comparação Entre os Modelos Ajustados	82
5.6. Análise por Época de Início das Leituras	85
5.7. Análise dos Favos das Colônias com Nota 7,0	87
5.8. Número de Colônias Formadas	88
6. MÉTODOS ESTUDADOS	88
7. AS VARIÁVEIS PESO E NOTA	90
8. REVISÕES DAS COLÔNIAS	91
9. CAIXAS CÚBICAS COM ALÇAS	91
10. RESUMO DOS EXPERIMENTOS	92
11. SUMMARY OF <b>EXPERIMENTS</b>	94
12. AGRADECIMENTOS	95
13. BIBLIOGRAFIA	96



# 1 - Introdução

## 1.1. As Abelhas e seu Hábitat

A Mata Atlântica representa hoje 8% do total de origem (mata nativa) e em meio hectare desta mata podem ser encontradas 450 espécies diferentes de árvores, superando as 300 encontradas na Amazônia Peruana (Jornal da Ciência Hoje-18/6/93). Paralelamente a esta diversidade vegetal é grande a diversidade animal. No grupo dos insetos encontram-se as abelhas polinizadoras e portanto, responsáveis em 40 a 90% dos casos pelo sucesso reprodutivo das árvores que têm flor (KERR, 1994) e delas dependem nutricionalmente (pólen e néctar, principalmente).

Pesquisadores como VASIL & HERRERA-ESTRELA (1994) alertaram para a necessidade de se tentar manter a diversidade vegetal de nossos ecossistemas e de se preservarem as espécies vegetais silvestres, ameaçadas de extinção pela crescente destruição das florestas naturais.

Nos Trópicos, onde existe abundância de espécies vegetais e elevado número de meliponíneos, observa-se uma grande variação no tamanho dos indivíduos entre as espécies, o que proporciona grande eficiência destes importantes agentes polinizadores no ciclo reprodutivo dos vegetais tropicais (ROUBIK, 1989).

As abelhas sociais nativas (Apidae) do Brasil são representadas por mais de 200 espécies de Meliponinae (KERR & MAULE, 1964), 7 espécies de mamangavas (Bombinae) (MOURE & SAKAGAMI, 1962) e muitas de Euglossini. Existem ainda mais de 5.000 espécies de abelhas solitárias que realizam a mesma função polinizadora.

O desmatamento, que ocorre principalmente com a expansão da pecuária, exploração de madeira, de carvão e as queimadas indiscriminadas, além de eliminar várias espécies vegetais do planeta, reduz a diversidade de insetos, promovendo um rápido decréscimo na disponibilidade de recursos naturais. Isto afeta, particularmente, as populações de abelhas eussociais, como os Meliponinae (Apidae) que utilizam os ocos de árvores para nidificarem.

A redução na disponibilidade de alimento (flores e água potável) e a escassez de locais para nidificação como ocos de árvores de porte médio a grande, são os principais fatores limitantes para a sobrevivência dos meliponíneos em nossas matas (MICHENER, 1974; RODRIGUES & VALLE, 1964; SOMMER., 1980 e 1994; CAMARGO, 1994). Na maioria dos casos, são eliminadas as árvores com troncos grandes, que podem apresentar ocos de volume adequado às abelhas,

9

onde estão abrigados ninhos ou servirão para entrada de algum enxame de meliponíneo.

Na Amazônia podem ser citados alguns exemplos de árvores que servem de substrato para a nidificação de meliponíneos e que estão sendo freqüentemente derrubadas para o aproveitamento de sua madeira pelo homem: Jauari (*Astrocaryum jauary*) e Samaúma (*Ceiba pentandra*), sendo esta última a mais afetada e bastante procurada por colônias de abelha-cachorro (*Partamona sp*) (CAMARGO, 1994).

A transformação de grandes áreas de florestas em pequenas capoeiras devido ao desmatamento, faz com que o número de colônias de meliponíneos na mesma área de reprodução diminua, ao ponto de as abelhas se tornarem vulneráveis à endogamia e à exploração de seus subprodutos por meleiros e assim, desaparecem com grande rapidez (MENEZES *et al.*, 1993; KERR *et al.*, 1994a; AIDAR, 1995b).

Esta estratificação e descontinuidade da mata, além de exterminar colônias de meliponíneos, impede o fluxo gênico entre colônias de diferentes regiões, devido à distância em que se encontram uma da outra: normalmente mais de 6 Km, o que impede a migração de machos e rainhas virgens para acasalamento, tornando o fluxo gênico muito baixo ou nulo. Nestas populações muitas colônias morrem devido ao "efeito Yokoima e Ney" ou endogamia (acasalamento entre parentes).

Charles Darwin foi um dos primeiros pesquisadores a esclarecer cientificamente o mutualismo entre abelhas e vegetais. Na Amazônia, por exemplo, 60% das árvores são bissexuais e

dependem, portanto, de abelhas e outros polinizadores para a sua reprodução (KERR *et al.*, 1994a).

A importância de se manter um número mínimo de colônias na mesma área, ou no meliponário, está relacionada com a sobrevivência dessas abelhas e manutenção da variabilidade genética na área de reprodução. Esta área foi estimada em 1.000 m de raio (TAMBASCO, 1979). KERR (1951) encontrou 4,5 colônias de meliponíneos por 10.000 m<sup>2</sup> em matas naturais. Hoje, em matas degradadas pela ação do desenvolvimento da pecuária e reflorestamentos, encontramos apenas abelhas africanizadas, do gênero *Apis*.

KERR & VENCOVSKY (1982) mostraram que quando o número de colônias de abelhas numa mesma área de reprodução é inferior a 44, a probabilidade de rainhas acasalarem-se com machos que possuem alelos X<sub>0</sub> iguais a um dos seus é de 17,33%, o que determina a produção de 50% de machos diplóides (MACKENSEN, 1951; CAMARGO, 1974 e 1979; KERR, 1987). Assim, as colônias gradualmente morrem devido à eliminação da rainha pelas operárias e por falta de operárias (CAMARGO, 1977 e 1979).

## 10

WHITING (1940, 1943) mostrou que *Bracon hebetor* produz 50% de machos diplóides quando há cruzamento entre irmãos, devido a uma série de 8 alelos múltiplos xo<sup>1</sup>, xo<sup>2</sup> a xo<sup>8</sup>.

MACKENSEN (1951) ao cruzar rainhas de *Apis mellifera* com irmãos ou filhos, obteve 50% de esterilidade. O mesmo autor (1956) encontrou 11 heteroalelos, isto é, xo<sup>1</sup> a xo<sup>11</sup>. Doze alelos foram encontrados numa população de *Apis mellifera mellifera* (LAIDLAW *et al.*, 1956)

Em 1963, WOIKE concluiu que as operárias comiam as larvas de machos diplóides de *Apis mellifera* ocasionando 50% de sobrevivência à cria. Criando esses machos diplóides em estufa, para que não fossem mortos pelas operárias, foi possível cruzá-los com rainhas normais e obter operárias triplóides (CHAUD-NETO, 1980a, 1980b).

O número de alelos sexuais numa população de abelhas africanizadas, *Apis mellifera*, foi estudado por ADAMS *et al.* (1977). Este número foi estimado em 18,9 pela determinação da porcentagem de machos diplóides em 90 colônias de uma população de 500 colônias. PAGE *et al.* (1983) estudaram a distribuição dos alelos xo em populações fechadas de *Apis mellifera*.

KERR *et al.* (1977) sugerem que a determinação do sexo em abelhas ocorre em duas fases, sendo a primeira poucas horas após a postura e a segunda no final da fase de pré-pupa, anteriormente à determinação de todos os discos imaginais. Existindo um equilíbrio entre os genes reguladores que atuam sobre um conjunto de genes aditivos (não compensados) determinadores do sexo feminino, e sobre genes parcialmente não aditivos ou não aditivos (compensados), determinadores de masculinidade.

Com relação à origem dos alelos xo na Ordem Hymenoptera, KERR *et al.* (1988) acreditam no modelo de HARTL & BROWN (1970), já que, todas as espécies de ordens conhecidas e geneticamente próximas aos Hymenoptera têm fêmeas XX (Strepsiptera, Coleoptera, Diptera, Megaloptera e Siphonaptera); os grupos haplodiplóides conhecidos e os parentes haplodiplóides filogeneticamente mais próximos, têm fêmeas XX: *Micromelthas depilis* (Coleoptera) e Acarina; ainda, Coccoidea e Aleyroidea, próximos de Hemiptera, apresentam fêmeas XX (KERR, 1996).

KERR (1996) estima que o gene em questão seja curto, visto que o número de heteroalelos encontrado foi entre 7 a 24. Estudando *Apis mellifera*, MACKENSEN (1955), LAIDLAW *et al.* (1956) e ADAMS *et al.* (1977) encontraram 11, 12 e 17,2 alelos xo, respectivamente. CARVALHO *et al.* (1995) encontraram de 7 a 24 alelos em *Melipona scutellaris* e KERR (1987) encontrou 20 alelos em *Melipona compressipes fasciculata*.

Para que as perdas de colônias por endogamia não comprometam a população, o número de alelos X<sub>0</sub> na população geneticamente ativa deve ser no

mínimo 6, e isto só se consegue quando estão distribuídas na mesma área de reprodução o mínimo de 44 colônias de meliponíneos da mesma espécie (KERR & VENCOVSKY, 1982; CARVALHO *et al* 1995).

Dentre os insetos sociais, mais especificamente os Hymenoptera, estima-se que quase 50% das espécies na Inglaterra já se encontram em processo de extinção (FALK, 1991 citado por KERR *et al*, 1994a).

Hoje, quando é necessária a utilização de colônias para estudos científicos nas Universidades, os meliponíneos são trazidos de distâncias cada vez maiores e com um custo financeiro e ecológico elevados, já que o extrativismo, sem a reposição dessas colônias na natureza, é uma forma de se contribuir para o desaparecimento de algumas espécies ainda não estudadas e que têm sua importância ambiental confirmada pela própria existência e a interação com a flora do meio ambiente em que vivem (MICHENER, 1974; ROUBIK, 1989).

Ao contrário das abelhas africanizadas (*Apis mellifera*), que se defendem do homem com mais facilidade, devido a presença do ferrão e do veneno (SHIMANUKI *et al.*, 1991), os meliponíneos sofrem ataques freqüentes de pessoas que buscam saborear ou comercializar o seu mel. Não se importando com a sobrevivência da colônia após a destruição de sua habitação (SOMMER, 1980 e 1994; KERR *et al.*, 1994a). Quando ocorre a tentativa de preservar a colônia após a extração de seu mel, o não conhecimento das modernas técnicas de manejo para uma correta transferência para caixas racionais e adequada acomodação desta em seu local definitivo, provocam a morte da colônia após alguns dias de manipulação.

Normalmente, os meliponíneos fazem seus ninhos em ocos de árvores vivas (IHERING, 1903; CAMARGO, 1994) e esta interação está associada à existência de árvores com diâmetro maior ou igual a 10,0 cm, o que corresponde a 32% das árvores na região próxima a Manaus (RODRIGUES & VALLE, 1964; WALKER, 1991) e 27% nos campos e cerrados (KERR, 1978 e 1994). O desaparecimento de espécies de meliponíneos, por desmatamento ou extrativismo, implica na extinção de espécies vegetais importantes em nossos ecossistemas, desencadeando um ciclo de desequilíbrio ecológico destas espécies inter-relacionadas (KERR, 1978 e 1994; ROUBIK, 1989; KERR *et al*, 1994a). A associação inseto-planta também é discutida em ABSY & KERR (1977) e ABSY *et al.* (1980 e 1984), mais especificamente a respeito de meliponas e vegetais nativos na região de Manaus, AM.

Em KERR (1987) encontram-se tabelas com 79 espécies de plantas visitadas por *Melipona compressipes fasciculata*, no Maranhão, enfatizando a meliponicultura migratória como sendo um possível instrumento de polinização em áreas carentes desses insetos e em processo de recuperação de sua flora.

## 12

GUIBU *et al.* (1988) estudaram a exploração de recursos florais por *Melipona quadrifasciata* Lep. em São Paulo, SP, e concluíram que as operárias desta espécie visitam preferencialmente flores que produzem grandes quantidades de pólen.

A preocupação de se preservar as várias espécies de meliponíneos que se encontram hoje em perigo de extinção; a necessidade de se aumentar o número de colônias; a sua rusticidade e facilidade de acasalamento controlado entre indivíduos desta espécie em laboratório (CAMARGO, 1976; AIDAR, 1995b) foram fatores que estimularam o desenvolvimento dos estudos aqui apresentados com *Melipona quadrifasciata* Lep. O objetivo principal é o de facilitar a multiplicação artificial de colônias de meliponíneos em centros de pesquisas e em propriedades rurais, ou seja: apicultores, meliponicultores e agricultores que cultivam espécies vegetais bissexuais dependentes das abelhas para a produção de seus frutos. O morango (*Tragaria vesca* L.), por exemplo, pode ter sua produção melhorada com o auxílio de abelhas da espécie *Nannotrigona testaceicornis* Lep. (iraí) quando cultivado em casas de vegetação (BEGO *et al*, 1989 e MAETA *et al.*, 1992).

Em Urbano Santos, MA, há mais de 200 colônias de *Melipona compressipes fasciculata* (tiúba) em eucaliptais para fins de polinização e produção de sementes. KERR (c.p.) em Uberlândia,

MG, utiliza a *Scaptotrigona postica* (mandaguari) na polinização de flores de cenoura e chuchu nos estudos de melhoramento genético dessas hortaliças.

"Se houver o forte objetivo de perenizar muitas espécies de árvores precisamos preocupar-nos, seriamente, com a polinização cruzada de suas flores para a produção de sementes férteis que, além de manter a diversidade genética, garantam a segunda, terceira e mais gerações. Portanto, quaisquer medidas destinadas a conhecer, e estudar a biologia das abelhas e a produzir detalhes sobre o seu correto manejo, especialmente no que diz respeito à reprodução controlada e divisão de suas colônias, são da mais alta importância para a conservação das espécies de abelhas, das florestas remanescentes e da fauna desta dependente" (KERR *et al.*, 1994a) e do homem que é parte integrante-dependente deste ecossistema.

Embora, popularmente, a produção de mel ainda seja o principal atrativo para a criação de abelhas, sabemos que a importância desta atividade está difundida em vários setores agrícolas e estudos científicos, dos quais dependem os homens para a perpetuação das espécies. A polinização nos vegetais tal como a cópula nos animais representam um importante mecanismo utilizado pela natureza para dar continuidade à vida no planeta.

A meliponicultura deve ser compreendida como atividade vital em nossa sociedade, não apenas para a produção de mel e outros subprodutos, mas também para a manutenção da vida vegetal nos trópicos por meio da polinização

de plantas nativas e manutenção da diversidade genotípica deste importante ecossistema.

## 1.2. A Meliponicultura na América Latina

A criação de meliponíneos, objetivando produção de mel, já era abordada por IHERJNG (1932), que comenta a simplicidade e facilidade em se manter cortiços de abelhas indígenas ao redor de casa. Descreve várias espécies que são acondicionadas em cortiços no norte do Brasil, principalmente em Pernambuco. O autor descreveu uma tentativa de divisão de enxame de Uruçu (*Melipona scutellaris* Lep.) e alguns aspectos relacionados à estrutura de ninho e biologia, comparados com abelhas do gênero *Apis*, no qual muitas diferenças podem ser observadas: posição dos favos de crias, armazenamento de alimento, entre outras.

Índios utilizavam-se dos subprodutos coletados de colônias de meliponíneos abrindo janelas no tronco da árvore em que se alojava a colônia e, assim, realizavam a colheita do pólen e do mel armazenados pelas abelhas (VELLARD, 1939). As tribos indígenas, segundo o autor, alimentavam-se dos subprodutos desses insetos e utilizavam a cera para auxiliar na confecção de objetos de caça, como flechas, e na impermeabilização de cestos e outros utensílios feitos de fibras vegetais. Esta prática foi constatada entre os Paliukur, no Amapá (KERR, 1995, c.p.). MARIANNO FILHO escreveu tese sobre o assunto em 1911 e no trabalho de Herman von Ihering de 1903 (IHERING, 1932) são encontradas várias ilustrações que mostram colônias de meliponíneos e diferentes tipos de colmeias utilizadas para a criação de abelhas nativas sem ferrão.

Assim, há aproximadamente um século, os meliponíneos vêm sendo alvo de interesse de cientistas e agricultores no sentido de criação, produção de mel e mais recentemente, em trabalhos de polinização, biologia, manejo, genética e evolução. Considero a polinização como a mais importante atividade para o futuro da meliponicultura brasileira, já que, algumas plantas nativas cultivadas pelo homem têm sua reprodução basicamente associada às abelhas tropicais.

Trabalhos mais recentes sobre manejo e multiplicação de colônias com abordagens mais específicas vêm sendo publicados a partir da década de 40. Período em que as características reprodutivas, biológicas e genéticas das abelhas nativas começaram a ser estudadas e esclarecidas pelos primeiros trabalhos sobre os assuntos: manejo de criação de abelhas indígenas (a partir de KERR, 1945); formação de castas nos meliponíneos (a partir de KERR, 1946); processos de enxameagem e pilhagem (NOGUEIRA-NETO, 1948); estudos de biologia e genética do gênero melipona (KERR, 1948); arquitetura de ninhos de

## 14

meliponíneos (KERR *et al.*, 1967); acasalamento controlado em laboratório com *Melipona quadrifasciata* (CAMARGO, 1976; AIDAR, 1995a e b); alimentação artificial (KERR, 1987; NOGUEIRA-NETO, 1993; AIDAR *et al.*, 1994; ZUCOLOTO, 1994); colmeias racionais (NOGUEIRA-NETO, 1993; KERR, 1995), entre outros. As pesquisas nesta área têm tido maior difusão nos últimos 10 anos, principalmente nas principais Universidades do país, já que o interesse comercial dos subprodutos de abelhas nativas ainda não é reconhecido.

Com o objetivo de criação e produção de mel, KERR (1967) cita a *Melipona seminigra merrillae* Cock como a espécie com maior número de qualidades dentre as abelhas sem ferrão, para a região de Manaus, AM. Em Ribeirão Preto e regiões próximas, recomendo a *Melipona quadrifasciata*. Em cada região do país há espécies de ocorrência natural bem adaptadas às condições locais e adequadas à criação.

A espécie a ser criada deve ser selecionada de acordo com sua região de ocorrência, respeitando seus atributos ecológicos de melhor adaptação ambiental decorrente dos processos naturais de evolução. Desta forma, melhores resultados poderão ser obtidos na domesticação, produção e manejo.

No Litoral Baiano e Chapada Diamantina encontra-se a Uruçu-do-Nordeste (*Melipona scutellaris* Lep.), a mais comum nos meliponários da região e ótima produtora de mel. Na região de

Domingos Martins, ES, a uruçu-preto (*Melipona capixaba*) (MOURE & CAMARGO, 1995) adaptou-se bem à coleta de pólen na sua região de ocorrência (Figura 1).

Na região de Viçosa, MG, encontra-se bem adaptada a mandaçaia (*Melipona quadrifasciata anthidioides* Lep.). No México, Península de Yucatan, existe uma grande produção de mel de *Melipona beecheii* e famílias de agricultores têm este subproduto das abelhas como principal fonte de renda (QUEZADA-EUAN & GONZALEZ-ACERETO, 1994, WEAVER & WEAVER, 1981).

A região do Brasil onde a meliponicultura é mais praticada é a Nordeste. São encontrados meliponicultores com até 1.500 colmeias e que sobrevivem apenas do comércio de mel. As principais espécies criadas por eles são: *Melipona compressipes fasciculata* Smith (Uruçu), *Melipona scutellaris* Lep. (KERR, 1987) e *Melipona subnitida*.

KERR (1987) descreve a meliponicultura no norte do país e nas regiões de maior ocorrência como na Zona da Mata de Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte, Bahia - Chapada Diamantina e regiões próximas ao litoral, Sergipe, Alagoas e no Maranhão. No entanto, o número de colônias por meliponicultor vêm decrescendo ano após ano.

Durante os sete anos que W.E. KERR trabalhou no Maranhão, em estudos de biologia, genética e manejo de *Melipona compressipes fasciculata* Smith, achou-se a média de 60 cortiços por criador. O máximo encontrado foi 200 colônias. Embora estimativas de 30 a 40 anos atrás, na região do Maranhão

15

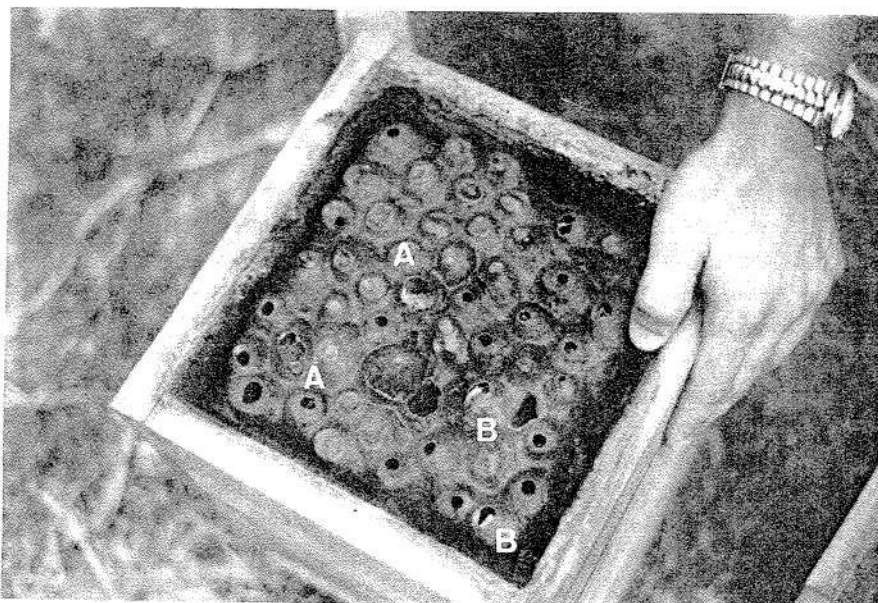


Figura 1. Vista superior da alça de colmeia vertical preenchida internamente com potes de pólen (A) e potes de mel (B): *Melipona capixaba* Moure e Camargo (Foto A.M. WALDSCHMIDT).

(Região da Baixada: Vitória do Mearim, Pinheiro e Arari) quando ainda haviam grandes florestas, esse número chegava a 2.000 colônias desta mesma espécie (KERR, 1987). Descreve o autor: "...Em duas viagens que fizemos a esta área em 1981, conseguimos localizar 15 criadores dessas abelhas com número variando de 3 a 200 colmeias cada um..."

Com esses dados, percebe-se claramente que as estimativas propostas nas décadas de 30 e 40 estão já alteradas e as meliponas reduzidas a pequenas populações à medida que o tempo passa e o desmatamento aumenta.

Na região central do Espírito Santo, no município de Domingos Martins, em altitudes entre 1.000 e 1.500 m, encontra-se a uruçu-preto, espécie recém classificada como *Melipona capixaba* (MOURE & CAMARGO, 1994), mas há muito tempo vem sendo criada pelos camponeses da região; a maioria são imigrantes italianos ou descendentes destes.

Em viagem realizada em maio de 1993 (Aidar, D.S.; Pompolo, S.G. e Waldschmidt, A.M.)

foram encontrados alguns meliponicultores. O Sr. Alvino Pianzoli e família, tinham 8 colônias que estavam alojadas em troncos (cortiços), tal como foram cortados no mato e sem as técnicas modernas já estabelecidas por pesquisadores brasileiros para uma perfeita conservação e aumento da população de melíponíneos.

## 16

Conta o Sr. Alvino Pianzoli que há 12-15 anos atrás possuía 18 cortiços de *Melipona capixaba*. Porém, sem o conhecimento adequado sobre o manejo e as técnicas para criação racional, vinha perdendo colônias a cada ano que passava. Das 8 colônias que possuía, 4 morreram entre 1993 e 1994, sem que soubessem o motivo. O desmatamento na região ainda é relativamente lento (município e arredores de Domingos Martins, ES, quando comparado às regiões em direção ao litoral capixaba onde o cultivo de bananas e do café vêm se sobrepondo à paisagem natural da região.

Com as técnicas de manejo, criação racional e aumento da população geneticamente ativa do meliponário, estão sendo realizados projetos no sentido de aumentar o número de colônias na região e garantir a sobrevivência desta espécie (KERR *et al.*, 1994a). Hoje, vários meliponicultores da região estão envolvidos no projeto tendo aumentado o número de colônias de *Melipona capixaba* nos meliponários, contribuindo para o desenvolvimento da atividade na região e aumento da população geneticamente ativa de abelhas desta espécie.

Sob a orientação de funcionários da EMATER regional de Anchieta, ES, tivemos a oportunidade de visitar várias pequenas propriedades e casas, onde apenas 1 a 3 cortiços de meliponíneos eram mantidos nas varandas das casas. Principalmente de *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lep. (mandaçaia) e *Melipona rufiventris* Lep. (uruçu-amarelo), mais algumas trigonas como *Tetragonisca angustula* (jatai) e *Plebeia* sp. (jatai-mirim), principalmente.

Na meliponicultura, o conhecimento de que 44 colônias na mesma área de reprodução é o mínimo necessário para evitar a endogamia e morte de colônias por nascimento de machos diplóides e eliminação da rainha pelas operárias (CAMARGO, 1976), é fundamental para a manutenção da população de melíponíneos. Na região do litoral do Espírito Santo, as abelhas nativas estão condenadas à desaparecerem nesta década, caso a sua população não seja aumentada antes deste período.

Nessa região o desmatamento, para o cultivo tradicional de café e mais recentemente da banana, deixa apenas a parte superior dos morros com matas nativas. E mesmo assim, as árvores maiores são cortadas para utilização da madeira. Se não forem providenciadas as medidas necessárias nos próximos 10 anos, a morte de colônias por endogamia (KERR & VENCOVSKY, 1982) ou "Efeito Yokoima e Nei" (YOKOYAMA e NEI, 1979) inviabilizará a meliponicultura nesta região. A predominância das pequenas áreas de florestas, não maiores que 2 ha e o corte das árvores mais velhas que apresentam osos e ninhos de meliponíneos, agravam o problema.

As técnicas de criação e extração do mel são rudimentares sendo os cortiços os principais substratos para alojarem os meliponíneos (Figura 2). A produção de mel é muito menor do que a potencial. A extração do mel é

## 17

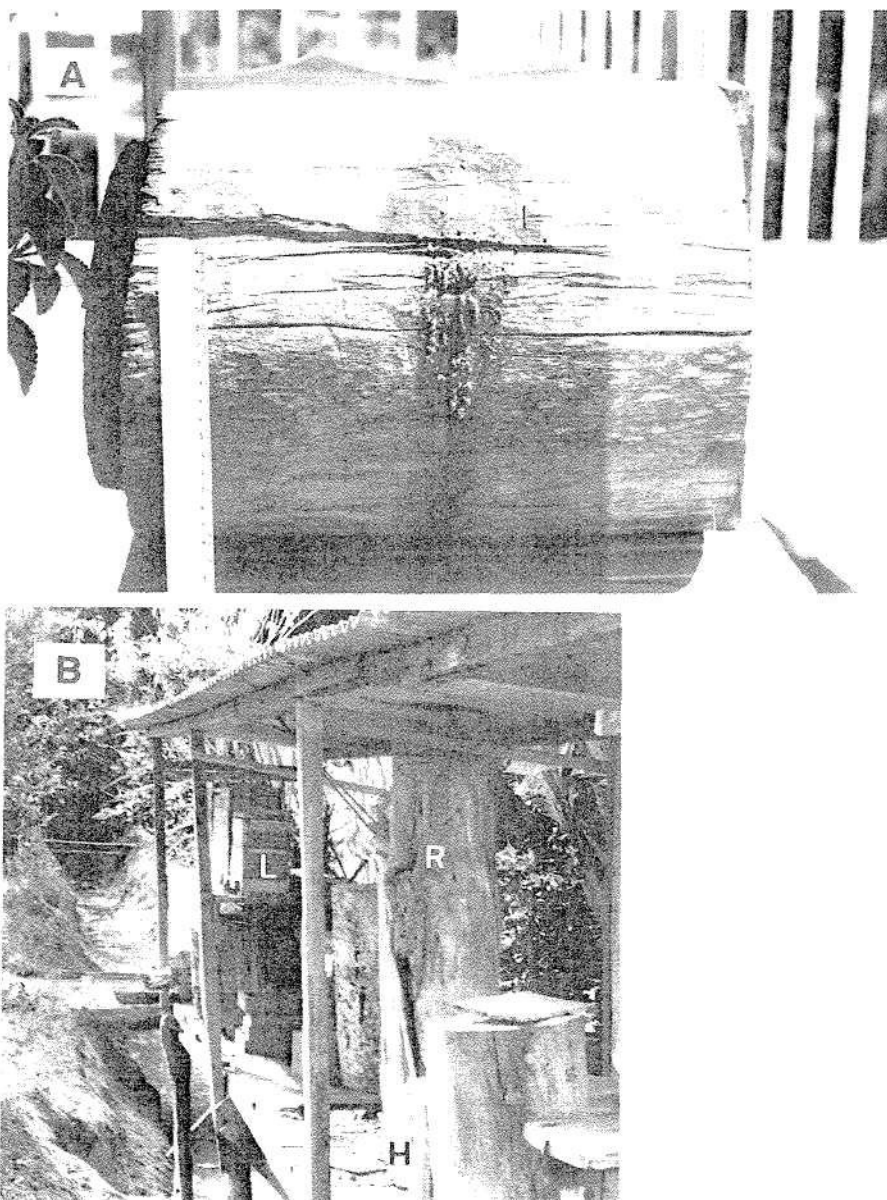


Figura 2. (A) Vista externa de cortiço horizontal habitado por *Melipona quadrifasciata* Lep. (B) Estaleiro com cortiços verticais-R, horizontais-H e colmeias verticais com alças-L, habitadas por *Melipona quadrifasciata* Lep. e *Melipona capixaba* Moure e Camargo (Foto D.S. AIDAR).

## 18

inadequada, muitas colônias morrem sem alimento ou por ataque de predadores após a extração do mel, principalmente de formigas e/ou de forídeos (*Pseudohylocera* sp).

A extração do mel é executada abrindo-se uma das laterais do cortiço e perfurando os potes de mel com um bastão. Em seguida, o cortiço é inclinado com a parte aberta para baixo proporcionando o escoamento do mel. Esta prática, além de favorecer a contaminação do mel por microorganismos nocivos ao homem, faz com que o cortiço fique lambuzado de mel e com cheiro muito atrativo para predadores, principalmente os forídeos e as formigas. Outro problema sério nesta prática é o risco de a rainha ser morta quando os potes de mel e pólen são perfurados com o bastão. As colméias modernas, com gavetas, superam todos esses inconvenientes na colheita de mel e no manejo geral das colônias cultivadas, porque o ninho fica em compartimento separado dos favos de alimento. Assim, a rainha pode ser protegida com mais facilidade quando da coleta de mel ou pólen pelo meliponicultor.

Os mecanismos de reprodução, de manutenção da variabilidade genética e do fluxo gênico



entre colônias de diferentes regiões, bem como técnicas de manejo mais apuradas, estão sendo estudados. A difusão de tecnologia e de conhecimentos sobre estes insetos devem ter prioridade mediante trabalhos de Extensão Universitária e estímulo à criação de meliponíneos em populações rurais, para a obtenção de fonte alternativa de alimento rico em vitaminas, proteínas e sais minerais, como o pólen e o mel das abelhas sem ferrão podem fornecer.

### **1.3. Distribuição Geográfica da Mandaçaia**

O gênero *Melipona* pertence à tribo Meliponini. Foi denominado por ILLIGER (1809, citado por SCHWARZ, 1932) e apresenta distribuição geográfica exclusivamente neotropical, abrangendo da América do Sul até a América Central e México (KERR, 1969; CAMARGO, 1988; MICHENER, 1990). Este gênero compreende mais de 40 espécies conhecidas (SCHWARZ, 1948; MICHENER, 1979; CAMARGO, 1989; CAMARGO & MOURE, 1994).

Dentre os meliponíneos, a espécie *Melipona quadrifasciata* Lep. (mandaçaia) é encontrada em muitas regiões do território nacional. Destaca-se no gênero *Melipona* pela intensa atividade das abelhas campeiras, mesmo em temperaturas baixas e horários matutinos, quando as outras espécies não forrageam (IMPERATRIZ-FONSECA & KLEINERT-GIOVANNINI, 1983), antes das cinco e meia da manhã, período em que o sol ainda não nasceu. Este fato foi observado pelo autor, no Meliponário-A, em Ribeirão Preto, SP e meliponário da Universidade Federal de Viçosa, MG, (AIDAR, 1995b).

No território brasileiro, *Melipona quadrifasciata* Lep. está distribuída ao longo da costa desde a Paraíba até o Rio Grande do Sul (MOURE & KERR, 1950). Existem duas subespécies: *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lep. e *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* Lep. A principal diferença entre ambas são bandas terçais amarelas contínuas em operárias e machos de *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* Lep., do 3º ao 6º segmento (de 3 a 5 bandas) e bandas interrompidas (de 2 a 5 bandas) em *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lep. (SCHWARTZ, 1932; MELO & CAMPOS, 1987). As bandas terçais são faixas amarelas no dorso do abdômem da abelha (foto capa).

A subespécie *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* Lep. é encontrada no Sul de São Paulo, Paraná e Santa Catarina, principalmente em regiões mais altas e frias. Ao sul de Minas Gerais ocorre em alturas acima de 1.500 m; na Serra da Bocaina, Serra do Mar, Litoral Norte de São Paulo e em alturas superiores a 1600 m também foram encontrados ninhos desta subespécie (MOURE, 1975).

A subespécie *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lep. se distribui mais ao norte, como em Minas Gerais e Rio de Janeiro. É portanto, subespécie de climas com temperatura mais elevada. Nessas regiões também podem ser encontradas colônias de *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* Lep. em locais com elevadas altitudes, como em Petrópolis, RJ, e Minas Gerais em alturas superiores a 1.500 m, portanto, em regiões de clima frio (MELO & CAMPOS, 1987). Em regiões do Estado de São Paulo e Sul de Minas Gerais, existe uma zona de hibridação onde são encontrados híbridos com vários padrões na distribuição das bandas amarelas nos terçitos abdominais (MOURE & KERR, 1950; KERR, 1951; MOURE, 1975).

Em Minas Gerais é mais comum encontrar *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lep., porém na região Norte do Estado foi encontrada *Melipona quadrifasciata* Lep. com um padrão de bandas igual ao de *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* Lep. habitando regiões baixas e quentes de 500 a 700 m (MELO & CAMPOS, 1987).

## 2. TÉCNICAS DE MANEJO PARA MELIPONÍNEOS

Na meliponicultura rural, em geral, as técnicas de manejo não têm padronização e equipamentos que permitam melhor produção das colônias e dos seus subprodutos. O comércio de mel, pólen e colônias, ainda é tímido e se restringe a algumas poucas regiões do país, como a Norte e a Nordeste. Prevalendo sempre o extrativismo e não a criação racional, como nas instituições de pesquisas e meliponicultores modernizados que acompanham o desenvolvimento dos estudos na área.

### 20

A importância como eficientes polinizadores de plantas floríferas nativas e o alto valor comercial de seu mel, têm feito com que a meliponicultura no Brasil começasse a se desenvolver mais rapidamente nos últimos anos (KERR, 1994).

Pesquisadores como KERR (1987, 1994 e 1995); KERR (1994); KERR *et al.* (1994); CAMPOS (1991); MENEZES *et al.* (1993); NASCIMENTO *et al.* (1993); NOGUEIRA-NETO (1962a e b, 1970 e 1993); (BARROS & KROGH, 1990; BARROS, 1994); AIDAR & CAMPOS (1994); AIDAR *et al.* (1995); AIDAR (1995a e 1995b) e AIDAR (1996a e 1996b), vêm desenvolvendo técnicas que auxiliam a criação e manutenção dessas abelhas com mais eficiência.

Caso algumas medidas sejam colocadas em prática, a população de meliponíneos poderá deixar de diminuir, ou mesmo poderá aumentarem alguns anos. Como ocorreu com as abelhas africanizadas no Brasil, após 1954, quando foram aqui introduzidas e melhor estudadas, em clima tropical, por apicultores e pesquisadores. Podem ser citadas algumas medidas que auxiliam o desenvolvimento da meliponicultura: a difusão e estabelecimento de técnicas mais apuradas como a alimentação artificial na época de escassez de floradas; melhorar as técnicas para a divisão de

colônias; utilizar modelos de colméias racionais adaptados às diferentes espécies de abelhas indígenas e às diferentes condições climáticas de cada região do País; desenvolver a meliponicultura migratória; estudar a sobrevivência de espécies de meliponíneos em regiões de reflorestamento com eucaliptos ou seringueiras, por exemplo, já que, a tendência até o momento, é a substituição das matas naturais por matas artificiais ou campos de cultivos: monoculturas.

Apenas o extrativismo, coleta e/ou compra de colônias de abelhas nativas não estão sendo suficientes e nem racionais para atender a demanda dos institutos de pesquisa e dos meliponicultores. A compra de colônias estimula o comércio ilegal destes animais silvestres. Quando compramos uma colônia de um camponês, logo ele sai a procura de outras colônias para realizar novas vendas e com novos preços. Isto está contribuindo muito para a extinção das várias espécies com populações já reduzidas pela transformação de seu meio ambiente pelo homem. O estímulo à criação e à manutenção de no mínimo 44 colônias numa mesma área de reprodução deve ser priorizado, antes mesmo de qualquer tipo de comércio.

Em qualquer cultura, seja ela animal ou vegetal, é imprescindível antes a manutenção de matrizes (reprodutores), para depois obterem-se condições de multiplicação, comercialização ou mesmo possibilidade de usar os organismos em estudos científicos. O que ocorre normalmente é o inverso: cada colônia encontrada no mato é vendida e uma nova coleta deverá ser realizada. É um hábito natural da espécie humana que deve ser imediatamente eliminado para que possamos perpetuar a nossa própria vida neste ecossistema.

## 21

### 2.1. A Nota de uma Colônia

A atribuição de um valor numérico de 1,0 a 10,0 (KERR, 1954; AIDAR, 1995b) para representar o estado de desenvolvimento da colônia é muito importante para uso dos pesquisadores e meliponicultores quando da compra, troca ou experimentos com meliponíneos. Por meio desta avaliação numérica pode-se saber se a colônia está em boas ou más condições de desenvolvimento sem precisarmos abrir a colméia.

Por observação direta dos elementos de uma colônia de *Melipona quadrifasciata*, têm-se atribuído uma nota de 1,0 a 10,0 (KERR, 1954; AIDAR, 1995b). Porém, isto só é seguro para aquelas pessoas que tenham conhecimento de biologia e manejo da espécie estudada. Para um leigo no assunto, é difícil a avaliação das colônias por simples observação visual. É preciso muita prática com meliponíneos para que os dados de diferentes pessoas coincidam.

Desta forma o método aqui descrito tem como objetivo principal auxiliar nesta tarefa, definindo uma técnica mais precisa a partir de dados quantitativos que podem ser coletados diretamente das colônias a serem avaliadas. Basta uma régua, de preferência em centímetros e saber manipular os favos de crias da mandaçaia.

A população da colônia está diretamente relacionada com a postura da rainha fisogástrica e com as reservas alimentares, ou seja, existindo alimento haverá possibilidades de alimentar um maior número de indivíduos e isto serve de estímulo para a intensificação da atividade de postura e investimento à prole. O número de crias representa a atividade de postura da rainha e a população da colônia.

De acordo com (IHERING, 1932) o número de células de crias está relacionado com a população da colônia. O autor estabeleceu a relação:

$$n^{\circ} \text{ de indivíduos} = x + x/2;$$

sendo x o número de células de crias, que pode ser facilmente contados ao revisar a colônia.

A determinação do número de células de crias de uma colônia de meliponíneo é tarefa trabalhosa durante a revisão da colônia. A contagem, célula por célula, demoraria muito e prejudicaria a colônia. Apenas contando-se o número de favos e seus respectivos diâmetros pode-se

obter o número total de crias de acordo com a relação obtida por AIDAR (1995b): favos de mandançaia com 6,0 cm de diâmetro apresentam 150 células, em média. Assim,  $150/6$  é igual a 25.

## 22

Sendo Dm a média dos diâmetros dos favos de crias, Nf o número de favos de crias e Nc o número total de células, tem-se:

$$Nc = Dm \cdot Nf \cdot 25$$

Como existe relação positiva entre o número de indivíduos e a nota da colônia, qualquer pessoa pode atribuir à colônia uma nota de 1,0 a 10,0 conforme os dados obtidos por AIDAR (1995b): uma colônia com nota 7,0 apresenta 752 células, em média. Estes dados foram retirados das Tabelas 1 e 2, onde a quarta linha da Tabela 1 forneceu a média do número de favos  $Nf = 5,15$  e a quarta coluna da linha "Geral" da Tabela 2 forneceu o diâmetro médio (Dm) dos favos de uma colônia com nota 7,0,  $Dm = 5,84$ . Os dados de tabelas e figuras aqui apresentados são referentes ao experimento de tese de mestrado que serão discutidos a partir do item 4.

**Tabela 1. Número médio de favos nas colônias com nota 7,0 (AIDAR, 1995b).**

Método	Favos claros	Favos Escuros	Total
1	3,4	1,8	5,2
2	4,0	1,3	5,3
3	3,6	1,4	5,0
Média	3,7	1,5	5,1

Assim temos:  $Nc = 5,84 \cdot 5,15 \cdot 25 = 752$  células.

Aplicando a relação de IHERING (1932), esta colônia apresenta 1.128 abelhas (adultas e jovens). O que está relacionado à literatura (IHERING, 1932; KERR, 1956; AIDAR, 1994 e 1995a e b).

Simplificando, construiu-se a Tabela 3, que permite a associação do número de células de crias e a nota da colônia.

Com estes dados, e com a relação  $\text{nota } 7,0 = 752$  células, as notas às colônias podem ser atribuídas sem problemas por qualquer pessoa que tenha a capacidade de medir o diâmetro, em centímetros e obter o valor médio para o número de favos da colônia.

Pode não ser um método eficiente em casos anormais como morte de abelhas por envenenamento ou qualquer desequilíbrio por motivos de manejo inadequado pelo meliponicultor. Em condições normais, as colônias podem ser tranquilamente avaliadas seguindo este método.

## 23

**Tabela 2. Freqüência e diâmetro dos tipos de favos por método de formação das colônias. Quando as colônias chegaram à nota 7,0 (AIDAR, 1995b).**

Tipo de Favo	Método	Freqüência	Diâmetro (cm)			Desvio padrão
			L1 90%	Média	LS 90%	
E	1	9	3,2	4,0	5,0	0,49
	2	5	3,4	5,3	7,1	0,89
	3	7	3,2	4,3	5,5	0,57
I	1		0,6	7,2	15,1	1,25
	2		1,4	5,3	9,3	1,36
	3	4	3,0	6,0	9,1	1,31

CL	1	5	4,3	5,6	6,9	0,62
	2	4	6,0	6,5	7,0	0,20
	3	4	4,0	5,5	6,9	0,61
CP	1	5	6,5	7,1	7,0	0,29
	2	4	7,0	7,5	8,0	0,21
	3	5	6,1	6,9	7,7	0,37
CN	1	5	4,7	6,1	7,6	0,68
	2	5	4,0	5,9	7,1	0,88
	3	5	4,6	5,8	7,0	0,56
Geral	E	21	3,7	4,4	5,3	0,35
	I	9	4,2	6,0	7,4	0,74
	CL	13	5,3	5,8	6,4	0,31
	CP	14	6,3	7,1	7,0	1,18
	CN	15	5,2	5,9	6,6	0,39

E = escuro (ovos e larvas recém eclodidas); I = intermediário (larvas em fase inicial de alimentação); CL = claro (larvas em fase final de alimentação); CP = claro (pupas); CN = claro (crias nascentes);  $L_i$  = limite inferior e  $L_s$  = limite superior.

## 2.2. O Peso das Colméias

A técnica de pesagem de colméias de meliponíneos foi muito importante na continuidade dos trabalhos de V.P. Araújo executada por KERR et al. (1978). Este trabalho mostrou que o peso de uma colmeia estabelecida (nota > 7,0) varia muito durante o ano, de acordo com a disponibilidade de floradas e a cada ano

24

Tabela 3. Número de células de crias (Nc) relacionado à nota de uma colônia de *Melipona quadrifasciata* Lep.

Nc	Nota
107	1,0
215	2,0
332	3,0
430	4,0
537	5,0
644	6,0
759	7,0
859	8,0
967	9,0
1074 ou mais	10,0

a variação se mostra diferente daquela do ano anterior (NOGUEIRA-NETO, 1970, pg. 249).

BARROS (1994) e KERR (1987) efetuaram estudos utilizando-se da avaliação do ganho de peso de colméias de *Melipona scutellaris* e *Melipona compressipes compressipes* Lep. (tiúba), respectivamente. Nesta técnica, a colmeia é colocada na balança e o registro do peso se faz em

intervalos de tempo iguais.

Apenas a pesagem não é suficiente para controlar o desenvolvimento das colônias. Veremos adiante que uma colônia pode ter seu peso aumentado mantendo sua nota constante ou até mesmo diminuindo. Portanto, deve-se avaliar as colônias baseando-se em vários elementos, componentes naturais de uma colônia de *Melipona quadrifasciata* ou da espécie com a qual se trabalha. Quando somadas as notas parciais dos elementos, obtêm-se resultados mais precisos e confiáveis, principalmente em espécies que realizam a coleta de resinas e barro para a estruturação de seus ninhos. Considero a população e as reservas alimentares muito importantes para a avaliação do estado geral de uma colônia de abelhas. O peso deve servir apenas como auxílio durante a avaliação e é muito importante quando avalia-se a produtividade de mel em colônias de produção, principalmente em épocas de boas floradas.

### 2.3. Modelos de Colméias

Na apicultura comercial existe o padrão Langstroth de colméia difundido pelo mundo todo e que proporciona melhores resultados para as abelhas do gênero *Apis* em clima tropical. Na meliponicultura, isto não ocorre. Muitos

## 25

modelos de colméias já foram idealizados e alguns apresentam ótimos resultados, mas não há uma padronização pelos meliponicultores a nível nacional.

Podem ser encontrados desde o mais primitivo como troncos de árvores cortados e transformados naquilo que denominamos "cortiços" (Figura 2A), muito utilizados para a produção de mel em regiões interioranas, até os modelos mais complexos para observações da dinâmica interna das colônias de meliponíneos, como as colméias de observação utilizadas para estudos em laboratórios (SAKAGAMI, 1966) e as modelo Langstroth utilizadas na apicultura racional para produção de mel de abelhas africanizadas.

As colméias racionais proporcionam melhor aproveitamento e facilidade na coleta dos produtos elaborados pelas abelhas, sem danificar os favos de crias e comprometer o desenvolvimento das colônias.

Algumas colméias com gavetas ou alças foram idealizadas por NOGUEIRA-NETO (1970) e depois aperfeiçoadas (NOGUEIRA-NETO, 1993). Colméias cúbicas sem gavetas foram idealizadas por KERR (1987, 1994 e 1995). Nos experimentos relatados neste trabalho foram utilizadas colméias cúbicas com duas alças (Figura 3). Nas Figuras 4, 5 e 6 podem ser observadas colméias habitadas por colônias de *Melipona quadrifasciata* Lep.

Estas colméias proporcionam melhor manejo quando a multiplicação artificial de colônias é a principal atividade no meliponário, além de serem de fácil construção e transporte. Para a produção de mel e pólen, sugiro as colméias com gavetas, sem divisões internas, para facilitar as revisões.

Cada modelo está relacionado à respectiva atividade principal do meliponário trabalhado. Quando a produção de mel é prioridade, devemos escolher as colméias com gavetas substituíveis porque permitem o isolamento da região do ninho proporcionando facilidades na manipulação, sem que o ninho sofra danos quando colhe-se o mel ou quando da revisão interna de manutenção. Para a multiplicação artificial de colônias, visando aumentar a população geneticamente ativa da região, são aconselhadas colméias sem divisões internas, para facilitar o manejo no momento das divisões das colônias fortes e revisões daquelas em crescimento.

No seu livro publicado em 1970, NOGUEIRA-NETO apresenta um histórico completo da evolução dos modelos de colméias com o passar dos anos, relacionando-os aos seus idealizadores. Desde as janelas em troncos de árvores feitas pelos Guaiaky (VELLARD, 1939) até a colméia racional (NOGUEIRA-NETO, 1993; KERR, 1995) e as ISIS e MARIA (SOUZA et al, 1994).

NOGUEIRA-NETO (1993) aperfeiçoou o modelo de colméia racional de 1970 transferindo a região dos favos de crias para o centro da colméia e redimensionou as medidas para cada espécie de abelha.

Das mais simples às mais complexas, podem ser citadas: colméias primitivas ou cortiços, muito utilizadas por índios e descobertas por BENNETT

26

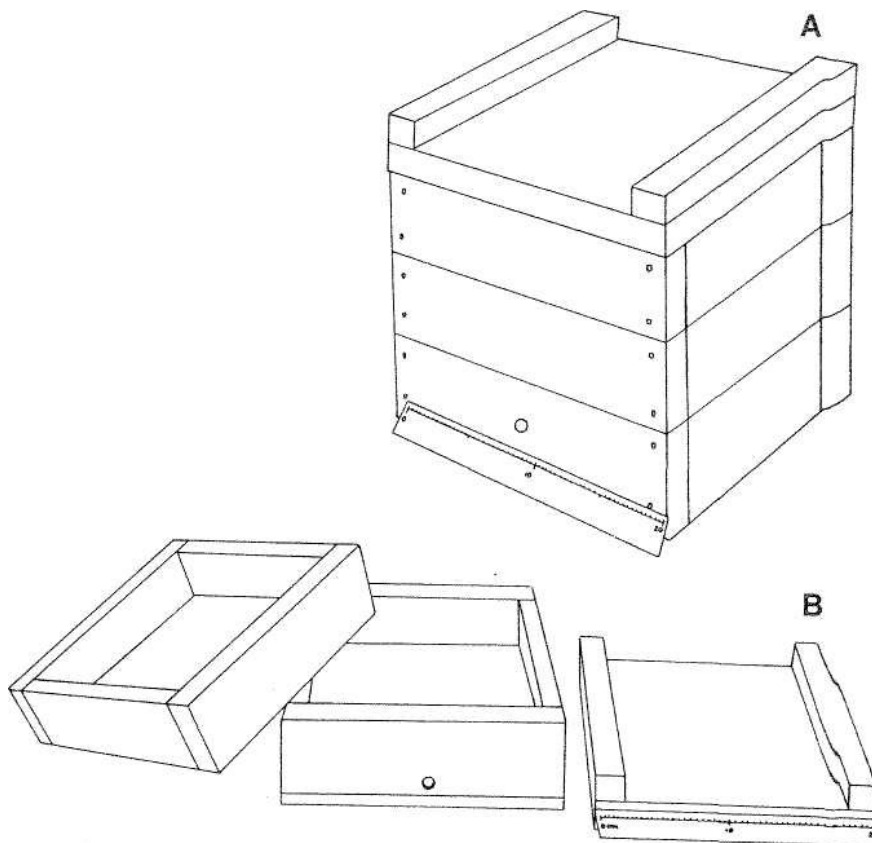


Figura 3. Colméia cúbica com alças sobrepostas 20 x 20cm), cada alça apresenta 6 cm de altura por 2 cm de espessura: (A) Vista externa de colméia cúbica com 3 alças; (B) Vista interna de colméia cúbica desmontada, com duas alças.

(1964); cabaças de cucurbitáceas, descritas por PINTO DE OLIVEIRA (1947); caixas e caixotes; colméias semi-rationais e colméias racionais tipo PNN (NOGUEIRA-NETO, 1970, 1993 e KERR, 1995).

Segundo a classificação de NOGUEIRA-NETO (1970), as colméias semi-rationais ou racionais estão divididas em 3 grupos distintos: Grupo A - são colméias não divididas em alças ou corpos separados, formando uma caixa simples, podendo apresentar divisão interna ou não; Grupo B - compreende as colméias idealizadas por Francisco Fortes de Pinho, em Orlândia, SP (NOGUEIRA-NETO, 1970). Elas apresentam subdivisões internas em torno do espaço central destinado às crias. Neste modelo de colméia as camadas de potes de pólen e mel ficam dispostas em camadas verticais. Sua construção é relativamente complexa, quando comparada aos outros modelos de colméias aqui descritos; Grupo C - são divididas em alças, com adaptações realizadas pelos

27

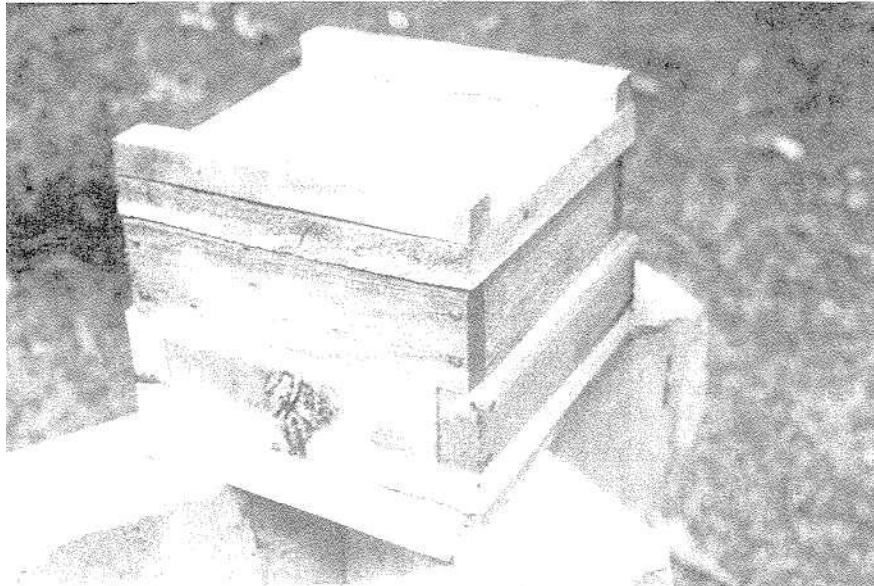


Figura 4. Vista externa de colmei cúbica com 2 alças, habitada por colônia de *Melipona quadrifasciata* Lep. (Foto D.S. AIDAR).

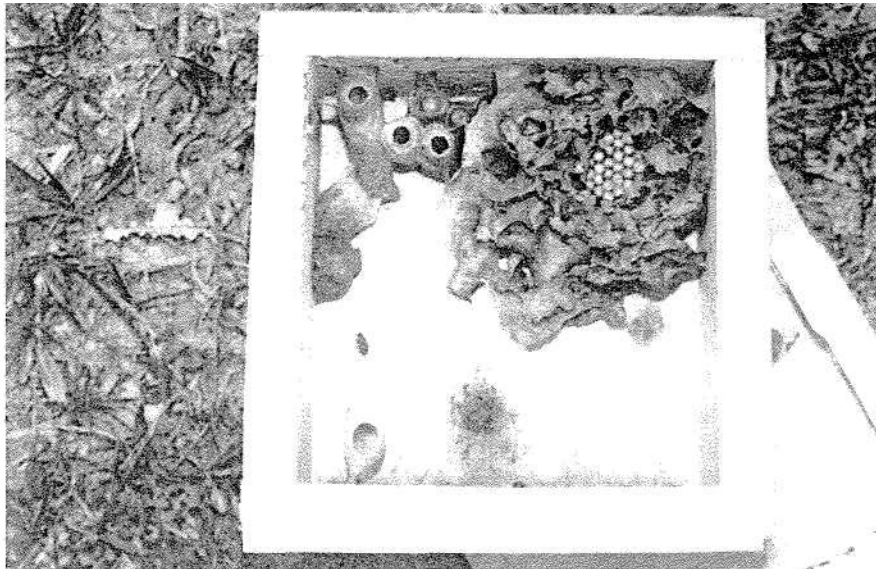


Figura 5. Vista interna de colméia cúbica com 2 alças, habitada por colônia de *Melipona quadrifasciata* Lep. com nota 6,0. Evidenciando o invólucro do ninho-i e os potes de alimento-p (Foto D.S. AIDAR).



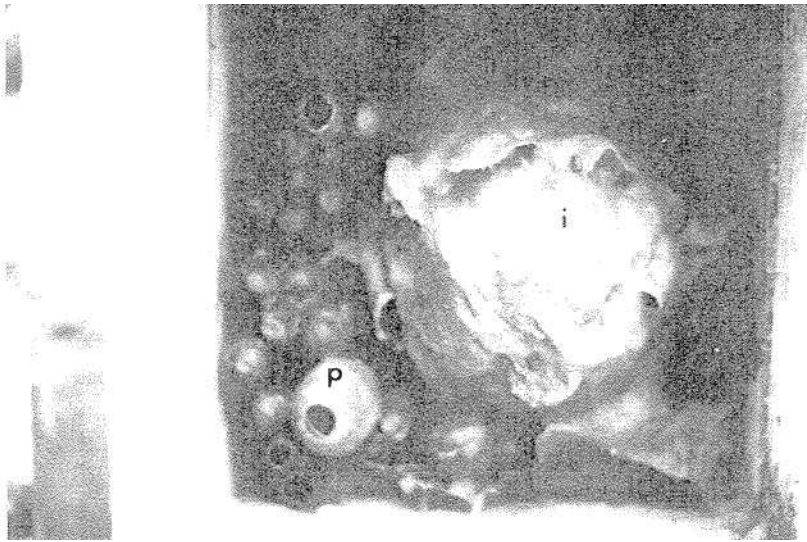


Figura 6. Vista interna de colméia cúbica com 1 alça, habitada por colônia inicial de *Melipona quadrifasciata* Lep. com nota 1,8 (Foto D.S. AIDAR).

índios Maias e mais recentemente, novas alterações propostas por NOGUEIRA-NETO (1993). Estas colméias são ótimas para meliponicultores que desejam a produção de mel e pólen, principalmente. Elas facilitam o manejo de coleta destes subprodutos.

Na Universidade Federal de Uberlândia, para *Melipona scutellaris* Lep. são utilizadas por KERR e sua equipe, colméias cúbicas de 27 litros sem divisões internas ou com alças (KERR et al, 1994b). O mesmo autor defende a tese de que as abelhas mandaçaia (*Melipona quadrifasciata*), uruçú-do-nordeste (*Melipona scutellaris*) e tiúba (*Melipona compressipes fasciculata*) não toleram as colméias modelo PNN, adaptando-se melhor em colméias cúbicas modelo Uberlândia (KERR, 1994).

Mais pesquisas deverão ser realizadas para provar a eficiência desses modelos de colméias, ou mesmo de novos modelos a serem criados. Ainda não existe um estudo comparativo, com número de repetições suficientes para que se saiba exatamente, por testes estatísticos, qual colméia proporciona melhores rendimentos às abelhas nelas alojadas.

Mais sofisticadas e com controle de temperatura apurado, existem as colméias confeccionadas com tábuas SOMMER (SOMMER, 1994). Estas apresen-

## 29

tam as paredes construídas com camada de isopor entre uma camada externa de madeira e outra de fórmica, internamente. O que proporciona um equilíbrio térmico interno evitando um gasto energético excessivo para a manutenção da temperatura pelas operárias. Estas poderiam incrementar o trabalho ao crescimento e produção da colônia. Estas colméias vêm sendo utilizadas nos trabalhos de preservação da abelha uruçú-preto (*Melipona capixaba*) na região de Domingos Martins, ES, e têm proporcionado excelentes resultados. Penso que o único inconveniente para as nossas condições sociais seria o seu custo elevado. As colméias ISIS e MARIA (SOUZA et al, 1994) são modelos relativamente recentes e vêm sendo muito utilizadas na região nordeste do país. Fácil de serem manejadas, pois apresentam apenas duas gavetas que podem ser manipuladas retirando todos os potes de alimento sem maiores complicações, como derramamento de mel ou destruição do invólucro do ninho. Não possuo colônias de mandaçaia nestes modelos de colméias mas, acredito que para a produção de mel devam ser bastante eficientes e práticas.

Para os trabalhos que requerem revisões mais detalhadas e mais frequentes, a utilização de colméias verticais sem divisões internas devem ser preferidas. O fato de não apresentarem divisões internas e com a possibilidade de se aumentar o espaço interno acrescentando-se alças superiores,

de acordo com o crescimento da colônia, estas colméias apresentam maior facilidade para a realização das revisões internas do ninho e melhor controle do volume ocupado pelas abelhas conforme cresce a população. Caso a região seja de boas floradas, apenas serão acrescentadas alças superiores ou melgueiras.

Objetivando apenas o aumento do número de colônias de *Melipona quadrifasciata* na região, nunca uma colméia receberá a terceira alça, já que quando estiver neste estágio, estará com nota 7,0, ou acima desta, e deverá ser dividida por um dos três métodos que aqui serão propostos, ou transferidas para colméias racionais para produção.

## 2.4. Multiplicação Artificial de Colônias

A multiplicação artificial de colônias de abelhas é prática muito estudada e utilizada pelos criadores e pesquisadores. Descrita em literatura desde 1802 (SERAIN, 1802:94-95, citado por NOGUEIRA-NETO, 1970), com ela podemos evitar a enxameagem e aumentar o número de colônias em período de tempo mais curto com relação ao processo natural de enxameagem.

Existem várias metodologias para acelerar o aumento do número de colônias. Os primeiros trabalhos publicados foram realizados com abelhas do gênero *Apis* em 1890, utilizando "pacotes de abelhas" que compreendem uma

### 30

determinada quantidade de abelhas e uma rainha que originarão uma colônia com atributos para produção (COUTO, 1993; LAIDLAW Jr., 1992).

No caso das abelhas indígenas, a captura de enxames naturais é difícil por apresentarem mecanismo de enxameação muito lento, envolvendo uma série de comportamentos complexos (FERREIRA, 1993), como a formação do novo ninho que é gradativa; a colônia filha permanece dependente da colônia mãe por muitos dias até que fique estruturada e independente para sobrevivência (TERADA, 1972; WILLE, 1975; INOUE et al, 1984).

Primeiramente, as operárias constroem potes de alimento e iniciam a construção do invólucro do ninho e células de postura na nova moradia. Após o ninho estar pronto para receber a rainha é que ela migra da colônia mãe para o novo local onde se desenvolverá a colônia filha; com ela partem mais operárias e finalmente a colônia se estabelece independentemente da colônia mãe.

A única forma de coletar enxames de meliponíneos é colocar caixas-iscas preparadas com cera dessas abelhas como atrativo em locais estratégicos onde existam enxames naturais fortes. De preferência, deve-se utilizar a mesma cera da espécie que se deseja coletar. Isto facilita a atração das abelhas batedoras que procuram ocos para fundar o novo ninho.

A coleta de enxames com caixas-iscas é prática demorada para situações emergenciais de formação do meliponário ou de preservação de espécies em extinção. Novos métodos devem ser adotados quando o tempo é fator limitante para o criador ou pesquisador.

A multiplicação artificial de colônias de abelhas indígenas é citada desde 1948, quando NOGUEIRA-NETO publicou um artigo descrevendo simplificada um processo de divisão de colônia de *Melipona quadrifasciata* Lep. O autor relata que são utilizados dois terços dos favos de crias, mais abelhas operárias e alimento para a formação de uma nova colônia.

No mesmo trabalho o autor define a região inferior do ninho como padrão para a localização dos favos novos dentro de uma colônia já estabelecida. Hoje, sabe-se que essa localização e a ocorrência dos favos novos (de coloração parda-clara) são variáveis, alternando-se superior e inferiormente ao conjunto de favos de crias, de acordo com o estado da colônia (MICHENER, 1961). Apenas em *Melipona bicolor* Lep. (pé-de-pau), espécie praticamente extinta em várias regiões do País, onde as populações se restringem a pequenas reservas florestais, os favos velhos de crias nascentes estão sempre abaixo dos favos novos (CAMPOS c.p.).

O único padrão para a seleção dos favos de crias que deve ser considerado para a formação artificial de uma nova colônia, é usar apenas favos de crias nascentes que são os favos mais velhos

e de coloração clara, contendo pupas ou imagos (Figura 7). Estes favos, além de serem mais resistentes à

31

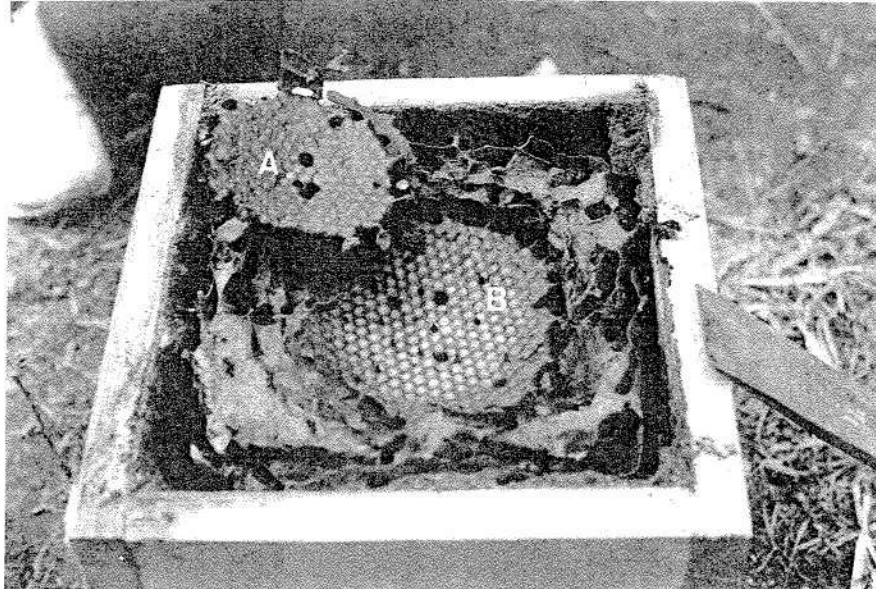


Figura 7. Vista superior de favos de *Melipona capixaba* Moure e Camargo. (A) Favo escuro, novo; (B) Favo mais claro com crias em estágio mais avançado de desenvolvimento, que podem ser melhor manipulados durante a multiplicação artificial de colônias (Foto D.S. AIDAR).

manipulação, evitam o escorrimento de alimento larval e subsequente infestação por forídeos, proporcionando fornecimento quase que imediato de abelhas jovens que irão auxiliar no estabelecimento da colônia recém formada. Isto é muito importante para os trabalhos de campo, onde se deseja aumentar o número de colônias de um meliponário por processo de multiplicação artificial de suas próprias colônias de maneira mais prática e rápida (AIDAR & CAMPOS, 1994; AIDAR, 1995b).

Há relatos mais antigos de populações indígenas que praticavam a meliponicultura e dividiam as colônias para a formação de novas. Estudos mais detalhados a respeito dos mecanismos e técnicas para a multiplicação de colônias de meliponíneos tiveram início após a década de 50. Daí em diante as técnicas vêm sendo aperfeiçoadas e incrementadas pelos pesquisadores da área (MENEZES et al, 1993; KERR, 1995; CARVALHO et al, 1994; AIDAR & CAMPOS, 1994; AIDAR, 1995b; AIDAR, 1996a e AIDAR, 1996b).

As técnicas de divisão de colônias de *Melipona scutellaris* (uruçu-do-nordeste), desenvolvidas por W.E. KERR e sua equipe, em Uberlândia, MG, é exemplo de como a tecnologia e sua difusão podem fornecer subsídios preciosos aos criadores e pesquisadores de meliponíneos.

32

Os dados apresentados neste trabalho são provenientes de estudos realizados no Meliponário-A, na Universidade de São Paulo, USP, em Ribeirão Preto, SP, no meliponário do Departamento de Biologia Animal da Universidade Federal de Viçosa, MG, e na Universidade Federal de Uberlândia, MG.

Durante os experimentos para o desenvolvimento do curso de mestrado, seis colônias de *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lep. habitando colméias de modelos variados, apresentando notas entre 7,5 a 10,0, foram mantidas como matrizes para a formação das colônias filhas. Destas

matrizes foram retirados elementos que normalmente compõem uma colônia dessas abelhas: favos de crias, rainha fisogástrica, abelhas adultas (campeiras e guardas) e jovens (faxineiras, nutrizes, construtoras de células, pilastras, invólucro do ninho e potes), cerume, geoprópolis, potes de pólen e potes de mel.

As matrizes foram sempre conservadas com notas acima de 7,0 para que apresentassem condições de serem divididas ou de fornecerem elementos para o experimento, sem que sofressem enfraquecimento acentuado.

Todas as colméias utilizadas para as colônias filhas eram do modelo vertical com alças (Figura 3). Essas colméias não foram pintadas e os únicos cuidados quanto à madeira para a construção das colméias foi o de utilizar madeira bem seca e não tratada com inseticidas. No mercado de madeiras é comum o tratamento com inseticidas para a melhor conservação do estoque madeireiro. Por isso, ao comprar o material para a construção das colméias é preciso muito cuidado, para não matar as abelhas. Caso se tenha apenas madeira tratada, as colméias poderão ser pintadas internamente com tinta Aquacril. Esta tinta não é tóxica para as abelhas e tem oferecido bons resultados.

Vários tipos de madeiras podem ser empregadas para a construção das colméias, de acordo com a disponibilidade no momento. Contudo, aconselho os seguintes tipos, em ordem de preferência: cedro, cedrinho, canela e pinho. As madeiras mais densas, como o ipê, a peroba e a imbuía devem ser evitadas por não apresentarem porosidade suficiente para a absorção da umidade interna às colônias. Nestes tipos de madeiras, os enxames não se desenvolvem muito bem em regiões ou em épocas de umidade elevada. Sempre preferir madeiras mais porosas e não muito duras, evitando-se as rachaduras durante a montagem com pregos.

Alguns autores não recomendam a pintura das caixas, visando justamente a maior permeabilidade à água, mas meu conselho é de que todas as caixas sejam pintadas externamente com tinta a óleo e cores claras: azul, verde, amarelo e branco, principalmente. A higiene, durabilidade e a facilidade de serem encontradas pelas abelhas campeiras quando voltam carregadas do campo, são os principais fatores para que se pintem as caixas. Uma aplicação de látex primeiramente antes da aplicação da camada de tinta definitiva, facilita o

33

acabamento economizando trabalho e material. Após a aplicação desta camada de látex, a outra camada de tinta é mais facilmente aplicável e a secagem é mais rápida.

### **3. ASPECTOS REPRODUTIVOS EM ABELHAS**

Os aspectos reprodutivos em abelhas são distintos para cada grupo. Rainhas que acasalam com 1 (*Meliponinae*) e até 30 zangões (*Apis cerana*) são variações que podem explicar parte da história evolutiva desses insetos sociais. O estudo morfológico dos órgãos de reprodução e dos comportamentos de cópula representam conhecimentos fundamentais no entendimento da biologia geral, auxiliando nos estudos ou criação intensiva do organismo.

#### **3.1. Anatomia dos Órgãos Reprodutivos do Zangão.**

Estudos morfológicos comparados da genitália de machos de *Apis* mostram que ocorrem variações anatômicas consideráveis de espécie para espécie, o que pode consistir num eficiente mecanismo de isolamento reprodutivo e base para estudos taxonômicos. De acordo com essas diferenças, o estudo morfológico não deve ser restrito a apenas um grupo de indivíduos de uma mesma espécie, mas sim analisados de forma comparativa entre eles.

Em espécies do gênero *Apis*, especialmente em *Apis mellifera*, há variações geográficas na morfologia e comportamento, com as quais são quantificadas todas as caracterizações das

subespécies.

A variabilidade intra específica de *Apis mellifera* tem sido considerada como exemplo para seleção espécie-específica de caracteres dentro do gênero (RUTTNER, 1988). A genitália do macho, por exemplo, apresenta diferenças qualitativas na morfologia, as quais são absolutamente específicas nessa espécie e em *Apis cerana*, *Apis dorsata* e *Apis florea*. Nas espécies recentemente descobertas: *Apis koshevnikovi* e *Apis andreniformis*, isto também foi verificado (SIMPSON, 1960 e 1970; RUTTNER, 1988; TINGEK et al., 1988; WONGSIRI et al, 1990).

SNODGRASS (1956) foi quem, primeiramente, descreveu o endófilo evertido e não evertido de forma anatômica em *Apis mellifera*. KOENIGER (1991) estudou morfológicamente seis endófilos evertidos das seguintes espécies de zangões de *Apis*: *Apis koschevnikovi*, *Apis cerana*, *Apis mellifera*, *Apis dorsata*, *Apis florea* e *Apis andreniformis*. Três partes principais foram destacadas nesses estudos: o vestíbulo, a cérvix e o bulbo.

O aparelho reprodutivo do zangão ocupa quase toda a cavidade abdominal. Consiste em um par de testículos; 2 vasos deferentes, os quais

## 34

envolvem os testículos e formam as vesículas seminais através de uma dilatação; um par de glândulas acessórias e o pênis, que pode ser dividido estruturalmente em dueto ejaculatório, bulbo do pênis e o pênis tubular.

As glândulas acessórias estão ausentes (KERR, 1985) e não existem músculos no dueto e no pênis. O dueto do pênis é revestido por um epitélio de pequenas células cuboidais formando uma fina membrana.

A eversão do pênis é um processo irreversível, e a ejaculação ocorre quase que simultaneamente após a completa eversão, isto se o macho em questão estiver sexualmente maduro. O sêmen passa juntamente com o muco através do dueto ejaculatório para o bulbo.

A ejaculação é um processo distinto da eversão do pênis e ela ocorre sem que a eversão ocorra. Em zangões jovens, pode-se conseguir eversão peniana sem ejaculação. Neste caso, os espermatozoides ainda não migraram para as vesículas seminais, estando em processo de formação e maturação a nível de testículos.

O órgão copulatório consiste em um endófilo membranoso que o macho everte durante o acasalamento, através de contração dos músculos abdominais e bombeamento de hemolinfa dentro do órgão. Durante a inserção na genitália feminina o endófilo sofre pressão da câmara de ferrão e da "Bursa Copulatrix", o que facilita a ejaculação e o aprisionamento do órgão masculino após a cópula. Esta retenção da genitália masculina, no trato reprodutivo da fêmea, tem importância fundamental para impedir o refluxo de sêmen antes que os espermatozoides entrem na espermateca. Internamente, quando não evertido, o endófilo é muito difícil de ser diferenciado quando o animal é submetido à dissecação, bem como suas estruturas anexas. Assim, os estudos quase sempre são realizados com o endófilo evertido. O processo de eversão nada mais é do que a exposição do órgão de forma a virá-lo do avesso, projetando-o para o exterior do abdômen (KOENIGER et al, 1991).

As dobras e rugas que são visíveis quando o endófilo está em posição normal, dentro do abdômen do zangão, são o que fornece sua curvatura e formas ao ser exposto (SNODGRASS, 1956).

Todos os cornos in situ são extremamente pregueados e dobrados, apresentando diferentes formas, comprimento e sub divisões. Todas as espécies têm um par de corno ventral, sendo que, usualmente, um deles é um simples tubo. Os cornos dorsais são em número de dois, são muito curtos e têm saliências e cortes em sua superfície (KOENIGER, 1986).

Na maioria dos machos sexualmente maduros de abelhas do gênero *Apis*, encontra-se uma secreção alaranjada dentro do corno quando o pênis é evertido, que, até então, não tem função definida (KOENIGER et al, 1990b e 1991).

A região pilosa na parte ventral do vestíbulo, na maioria das espécies, é situada na borda da cérvix. Apenas em *Apis cerana* a borda é plana. A densidade de pêlos varia com a espécie, mas todas apresentam regiões pilosas (KOENIGER & KOENIGER, 1990a e b).

A cérvix se origina atrás do início do corno e da região pilosa ventral do vestíbulo, terminando logo após o lóbulo. É torcida em aspirai e em algumas espécies do gênero *Apis* apresenta-se em forma retilínea (*Apis florea* e *Apis andreniformis*). Apresentando ainda, regiões pilosas na face ventral e dorsal, sendo que, nesta última, ocorre uma grande região com diferentes manchas (KOENIGER & KOENIGER, 1990a e b).

Durante a cópula, após a eversão do endófilo, a cérvix perde a característica em aspirai e é ampliada, adquirindo a forma de um dueto grosso. O lóbulo apresenta um ponto (nó) no final e cada lado tem 13 a 15 fimbrias. Algumas espécies são desprovidas dessas fimbrias. Em *Apis dorsata*, por exemplo, ele tem 4 pontos profundos que dividem o lóbulo em 4 apêndices livres. Em *Apis florea* o lóbulo é subdividido em 3 diferentes saliências e em *Apis andreniformis* apresenta um par de longos apêndices pregueados e 3 pares de pequenos deles. Mudam consideravelmente o desenho quando o endófilo está evertido.

Os bulbos abrem-se no canal ejaculatório e têm tendência dorsal em algumas espécies e ventral em outras. Contêm muco, que algumas vezes é ejaculado aparecendo na outra superfície do bulbo e em espécies como *Apis mellifera*, apresentam placas quitinosas bem visíveis. (KOENIGER, 1986; KOENIGER & KOENIGER, 1990a e b).

As diferenças morfológicas podem fornecer informações adicionais para a avaliação das relações etológicas e filogenia das espécies de abelhas. Forma, percurso e tamanho do bulbo e da cérvix, são importantes nesse tipo de avaliação, especialmente na combinação com o número de espermatozoides e seu mecanismo de transporte (KOENIGER, 1986; KOENIGER & KOENIGER, 1990a e b).

### 3.2. Descrição do Espermatozóide

Os primeiros estudos relacionados com o espermatozóide de insetos foram efetuados por FURIERI (1963); BACCETTI & BAIRATI (1964); BAWA (1964) e WERNER (1964). Desde então, várias diferenças morfológicas foram encontradas nos diversos grupos.

ROTHSCHILD (1955) descreveu o espermatozóide maduro de abelhas, e HOAGE & KESSEL (1968) descreveram sobre a espermatogênese nesses mesmos insetos. Basicamente a estrutura é semelhante à dos outros insetos, mas alguns detalhes são observados.

Ao microscópio óptico o espermatozóide de abelha aparece como uma estrutura alongada e tênue, apresentando 250u de comprimento e 0,7u de largura. A região da cabeça ocupa 10u do total e tem formato de foice. A cauda é bastante longa quando comparamos com espermatozoides de outras espécies, mas a região mitocondrial que é definida como peça intermediária entre a cauda e a cabeça, apresenta-se bem mais externa do que as de outras espécies. Os derivados mitocondriais ocupam 80% do comprimento total do espermatozóide e são de tamanhos variados.

As estrias transversais são encontradas externamente e ocorre um filamento acromossomal desde o interior do núcleo até sua extremidade.

A disposição dos derivados é assimétrica e podem ser vistos apenas do lado dorsal. O flagelo está na região ventral. Os derivados mitocondriais ao longo do flagelo, ocupando grande área deste, é característica de espermatozoides de abelhas (ANDRÉ, 1962). O acrossomo é envolvido por uma membrana e é curvado em toda a face dorsal, medindo 40-45u por 0,6u de diâmetro, sendo menos denso que o núcleo, apresentando um filamento acrossomal que é mais denso do que o resto do

acrossomo que termina rapidamente antes deste. Embora apresente o mesmo diâmetro do acrossomo, o núcleo é mais curto e delgado: 5,5u, 0,6u, 0,3u. A cromatina nuclear é muito densa quando corada com uranil acetato (HÖFLING et al, 1970).

Anteriormente aos derivados mitocondriais inicia-se o flagelo, inclinado em relação à célula espermática. Em cortes transversais aparece na região dorsal, formando um círculo em volta da projeção nuclear. As fibrilas que formam o flagelo são em número de 9, ocorrendo outras bem menores ao longo deste (HÖFLING et al, 1970).

### **3.3. Produção e Migração dos Espermatozóides para as Vesículas Seminais.**

Em Meliponinae, as células germinativas produtoras de espermatozóides, as espermátides, possuem formas esféricas cheias de um líquido hialino, evoluindo para um formato de pêra devido a uma pequena projeção citoplasmática com granulações em volta do núcleo. Esta é a fase 1, de secreção ou de Golgi, segundo a nomenclatura aplicada a mamíferos (STEINBERGER & STEINBERGER, 1975).

Há um crescimento dos grânulos acrossômicos, formando uma cápsula ou acrossomo, correspondendo à fase 2 ou de cápsula, onde a cromatina se condensa na periferia da espermátide formando o acrossoma.

37

Na fase 3, ou de alongamento, alterações morfológicas são vistas em toda a extensão da espermátide, que se alonga, apresentando porções dilatadas ou delgadas no citoplasma, evidenciando um flagelo contendo um núcleo arredondado na extremidade da célula germinativa.

A última fase, a de formação e maturação do espermatozóide é evidenciada pelo alongamento do flagelo. O núcleo adquire forma de fuso, com a cromatina condensada em grânulos refringentes ao microscópio óptico. Nesta 4ª fase, cada núcleo apresenta um verdadeiro halo. Os núcleos fusiformes são facilmente destacados da espermátide em maturação. Finalmente, as espermátides evoluem para espermatozóides que estão dispostos em forma de anéis.

Quando as larvas já empuparam, em pupas de olho rosa a castanho, encontram-se todas as fases da espermiogênese. No imago e no inseto adulto, verificam-se os espermatozóides completos (maduros) apresentando mobilidade e concentração no sêmen variáveis, de acordo com a idade do macho (ALMEIDA, 1981).

Os espermatozóides, estando completamente formados a nível de testículos, iniciam a migração para as vesículas seminais, de onde só sairão por consequência da ejaculação, no momento da cópula (SNODGRASS, 1978).

### **3.4. Anatomia dos Órgãos Reprodutivos da Rainha.**

SWAMMERDAM (1758) fez a primeira descrição do trato reprodutivo de abelhas rainhas do gênero *Apis*. A função da espermoteca foi definida por JOHN HUNTER (1792). Mas foi mesmo em 1910 que SNODGRASS descreveu detalhadamente definindo as estruturas e dimensões dos órgãos de reprodução nessas abelhas (LAIDLAW, 1944).

Os ovários ocupam o maior volume da cavidade abdominal da rainha. São afunilados e em número de dois. São compostos por ovariolos e cada ovário tem 160 a 180 túbulos que se iniciam no final anterior dos ovidutos laterais. Contém óvulos em estágios sucessivos de maturação e células responsáveis à nutrição destes (SNODGRASS, 1978).

KERR (1987) divide o aparelho reprodutivo feminino de *Melipona compressipes fasciculata* Lep. em 3 partes: a primeira parte, anterior, apresenta células diplóides não diferenciadas e oogônias; a parte intermediária, onde o óvulo começa a crescer, devido a presença de um grande número de células alimentares endopoliplóides, que secretam vitelogenina e outros

nutrientes para dentro do óvulo; e a terceira parte, posterior, contém até 3 óvulos prontos para serem postos pela rainha. O ovariolo desemboca no oviduto lateral (um para cada ovário) formando o cálix, que atua como se fosse um funil biológico para receber

## 38

os óvulos e direcioná-los ao oviduto lateral. Este, por sua vez, por meio de movimentos peristálticos, promove a passagem do óvulo para o oviduto médio.

Posteriormente aos ovários e ligados a eles, formam-se os ovidutos laterais, que também são em número de dois, convergindo-se formando o oviduto médio. Os ovidutos são tubos onde se abrem os ovários e são liberados os óvulos. Estes são deslocados até o oviduto médio e extremidade final da vagina por ocasião da ovoposição.

Uma fina membrana cuticular reveste os ovidutos laterais e o oviduto médio, dando-lhes forma tubular. Fibras musculares longitudinais conferem a capacidade contrátil destes órgãos, o que promove a translocação dos gametas femininos.

A nível de oviduto médio, abre-se o dueto da glândula da espermateca. E nesta região onde geralmente ocorre a fecundação. O oviduto médio funde-se com a vagina e tem formato de saco oval, formando uma só estrutura. A vagina é um pouco mais dilatada, unindo-se à "Bursa Copulatrix". Região em que o macho fica sem a sua cápsula genital durante a cópula.

A espermateca da rainha é em forma de saco globular, unindo-se à vagina por um dueto bem curto: dueto espermático. A este é conectada a glândula da espermateca, a qual se encontra na superfície posterior do dueto espermático e é envolvida por um número muito grande de traquéias. As traquéias são removidas durante a dissecação para melhor visualização da espermateca.

Existe uma particularidade em espécies do gênero *Apis*: superiormente ao oviduto médio forma-se uma invaginação transversal interna, definindo uma válvula na região inferior ao dueto espermático. Esta válvula impede o refluxo de sêmem após a ejaculação, além de facilitar o processo de fecundação do óvulo (BISHOP, 1920). Nos gêneros *Trigona* e *Melipona* não há indicação da presença desta válvula nas espécies até agora estudadas.

A vagina se encontra caudo-dorsalmente ao sétimo externo último segmento dorsal do abdômen). Em vista posterior, a vagina tem aparência oval e inclinada 30°, perpendicularmente ao eixo longitudinal do corpo do inseto. Posteriormente, abre-se a "Bursa Copulatrix" que apresenta diâmetro de 0,65 a 0,68mm, em rainhas normais de *Apis mellifera* (SNODGRASS, 1978). Em outras espécies ainda não foram realizados estudos para se determinar o exato diâmetro destes órgãos.

### 3.5. Manutenção dos Espermatozóides na Espermateca

Durante a cópula, o macho deixa seu pênis (cápsula genital) e parte do intestino preso à "Bursa Copulatrix" da rainha, sendo que a ejaculação ocorre segundos depois. Minutos após a cópula, o macho morre.

## 39

Os ovidutos laterais são mais longos e neles ficam alojados os espermatozóides, até que ocorra a migração, logo em seguida à cópula. O sêmem é depositado na entrada do oviduto médio e se difunde pelos ovidutos laterais. A diferença de pH dos ovidutos laterais (6,4 a 7,0) para a espermateca (9,0 a 10,0) é o que promove a migração por quimiotactismo (CAMARGO, 1972). Outros fatores, tais como: oxigenação na espermateca, substratos, CO<sub>2</sub>, metais pesados, densidade dos espermatozóides, concentração de Na<sup>+</sup> e K<sup>+</sup>, também influenciam na motilidade dos espermatozóides (VERMA, 1974).

Em algumas espécies ocorre até 97% de migração dos espermatozóides para a espermateca.



Em *Apis mellifera*, esta migração é mais eficiente em temperaturas próximas a 34°C (WOYKE & JASINSK, 1973).

A simples presença das operárias junto à rainha fecundada (WOYKE & JASINSK, 1976); a ação dos músculos que compõem o aparelho reprodutor interno da rainha; as glândulas da espermateca; o fluido espermático; o movimento individual dos espermatozóides (KOENINGER, 1986) e a concentração de CO<sub>2</sub> utilizada para narcotizar a rainha, quando esta é submetida à Inseminação Instrumental (EBADI & GARY, 1980), são fatores que estão envolvidos na migração e sobrevivência dos espermatozóides após a ejaculação.

Em *Melipona quadrifasciata* Lep., 1.088.750 espermatozóides é o número médio encontrado em vesículas seminais de zangões submetidos à dissecação. Pelo mesmo processo, executado em rainhas recentemente retornadas do vôo nupcial, encontrou-se 1.058.333 espermatozóides a nível de ovidutos e 950.000 a nível de espermateca, após a rainha ter iniciado a postura 3 a 6 dias depois da cópula (KERR & KRAUSE, 1950; SILVA et al, 1972). Mostrando que quase 100% das células espermáticas migram para a espermateca e que o acasalamento se dá com apenas um zangão.

Com a mesma espécie KERR et al. (1962) concluíram que o aproveitamento do sêmem é de 97%, representando eficiência considerável e melhor do que aquele existente em abelhas do gênero *Apis*. Já em estudos feitos com *Tetragonisca angustula* os autores encontraram 108.260 espermatozóides na espermateca de rainhas recém acasaladas. A produção de espermatozóides nessa espécie é menor quando comparada à abelhas maiores, como as *Melipona*.

O sistema de acasalamento em *Trigona* segue o mesmo descrito em *Melipona*, ou seja, o macho deixa sua cápsula genital na câmara copulatória da rainha, presa pelas válvulas e a cópula se dá apenas com um macho. Ocorrem diferenciações morfológicas e principalmente de tamanho das estruturas reprodutivas. Basicamente as estruturas são as mesmas nos dois últimos gêneros.

O pH básico do líquido da espermateca, além de exercer possível atração química sobre os espermatozóides depositados nos ovidutos, promovendo a migração, tem como função inibir os movimentos dos flagelos quando os

gametas masculinos estão dentro da espermateca. Os espermatozóides permanecendo imóveis proporcionam um aumento de sua longevidade, diminuindo o metabolismo e consumo de oxigênio. Logo, não secretam resíduos de reações químicas no meio. Isto evita a intoxicação do meio, o que provocaria a morte de grande parte das células espermáticas. O líquido da espermateca de rainhas virgens de abelhas da espécie *Apis mellifera* Lep. chega a ter pH 9,7 no 5º dia de vida (CAMARGO, 1972). O óvulo, os ovidutos, a secreção da glândula de muco do zangão, o sêmen e a secreção das glândulas da espermateca têm pH neutro (CAMARGO, 1972). No entanto, em pH mais baixo (em torno de 7,0) os espermatozóides entram em intensa movimentação, passando a consumir suas reservas nutritivas. Isto ocorre quando são depositados a nível de ovidutos, assim que a rainha inicia o processo fisiológico de postura, quando o óvulo é deslocado dos ovidutos laterais para a região posterior do trato reprodutivo. O mecanismo pelo qual a rainha regula essa liberação de espermatozóides da espermateca para os ovidutos ainda não está bem esclarecido. Alguns autores acreditam que a liberação seja voluntária, onde a rainha determina a quantidade e o momento da liberação dos espermatozóides da espermateca para o oviduto médio. Outros autores acreditam que este mecanismo seja involuntário e decorrente da passagem do óvulo pelo oviduto médio.

Experimentos foram feitos no sentido de comprovar a ação do pH sobre a motilidade dos espermatozóides. CAMARGO (1972) e LENSKY & SHINDLER (1967) sugerem que a não motilidade dos espermatozóides na espermateca se deve principalmente ao pH básico interno desta; à alta viscosidade do fluido espermático; à parcial desidratação dos espermatozóides (devido à hipertonicidade deste fluido); à presença de um inibidor da atividade dos espermatozóides e à deficiência de oxigênio dentro da espermateca, promovendo um estado de latência das células espermáticas. As quais se tornam incapazes de produzir energia para locomoção e atividades metabólicas, permanecendo vivas por períodos longos. Normalmente, uma rainha tem atividade de postura entre 1,5 a 3,5 anos, variando com a espécie, com o indivíduo e com as condições ambientais.

Em *Apis*, paralelamente ao envelhecimento da rainha fecundada, se dá a redução do número de espermatozóides estocados na espermateca, reduzindo de  $9,77 \pm 0,79$  para  $2,08 \pm 0,62$  milhões para as idades de 0 a 3 anos, respectivamente. Mostrando que a fertilidade da rainha diminui com o tempo, sendo a utilização dos espermatozóides processada de forma gradativa.

Essa variação depende das características genéticas da rainha e das condições de acasalamento. WOYKE (1971) demonstrou que o número de espermatozóide na espermateca da rainha depende também do tamanho do indivíduo e da idade em que acasalou.

## 41

A espermateca apresenta função fundamental para a sobrevivência dos espermatozóides. Nela são produzidos açúcares e outros elementos indispensáveis à longevidade dos gametas masculinos estocados. O sêmen quando congelado juntamente com a vesícula seminal ou com a espermateca, mantém-se em boas condições por período mais prolongado do que aquele congelado sem essas estruturas (SAWADA & CHANG, 1964).

Maior motilidade dos espermatozóides foi encontrada quando congelados juntamente à espermateca. Dentro dela, é verificada a imobilidade dos gametas, o que proporciona economia energética para ser utilizada no momento da fecundação do óvulo (LENSKY & SHINDLER, 1967), onde a taxa de metabolismo dentro da célula é aumentada devido à competição existente entre os gametas com o objetivo de fecundar o óvulo.

### 3.6. Maturação Sexual

Sem o conhecimento básico de biologia geral e reprodução em abelhas não é possível o meliponicultor obter sucesso em sua criação. A leitura de trabalhos sobre este assunto é aconselhada. Neste ítem serão descritos alguns temas principais para um melhor entendimento dos processos biológicos existentes nos principais grupos de abelhas.

A idade de maturação sexual varia de espécie para espécie e de indivíduo para indivíduo dentro da mesma espécie. Pode ser influenciada pela alimentação, temperatura ambiente e sazonalidade de cada espécie (período do ano em que há maior atividade reprodutiva dos indivíduos).

Em abelhas do gênero *Apis*, a idade de maturação sexual das fêmeas está entre 5 e 14 dias de vida e a média é de 9,5 dias (WOYKE & JASINSKI, 1976). Existe uma relação direta entre a maturidade sexual da rainha e o aumento da basicidade do líquido da espermateca, onde serão armazenados os espermatozóides após a cópula e durante toda a vida da rainha fisogástrica (CAMARGO, 1972).

Além de outros fatores, o pH dentro da espermateca é o principal responsável pela sobrevivência dos espermatozóides dentro deste órgão CAMARGO (1972) determinou que o vôo nupcial das rainhas ocorre com maior frequência após o período em que o pH se torna mais básico, em torno de 9,7. Em Meliponinae, este período compreende os 9 a 12 dias de idade, variando de espécie para espécie. Também podem existir variações entre indivíduos de uma mesma espécie.

Zangões de 10 e 21 dias apresentam maior concentração de espermatozóides nas vesículas seminais. Com menos de 10 dias os espermatozóides ainda

42

não estão completamente formados nos testículos e não migraram em sua totalidade para as vesículas seminais. A partir dos 21 dias de idade os espermatozóides já estão velhos, apresentando problemas na locomoção e de resistência. Rainhas acasaladas com tais machos podem apresentar resíduos de sêmem nos ovidutos (células mortas, microorganismos patogênicos, e produtos de reações bioquímicas que são liberados no meio, como o CO<sub>2</sub>, por exemplo) e adquirirem possíveis contaminações bacterianas levando-as à morte (PALACIO, 1991).

Em *Melipona scutellaris* Lep. a maturidade sexual do macho ocorre entre 12 e 16 dias de vida (ALMEIDA, 1981), sobrevivendo em média 25 dias. Nesta espécie ocorre o mesmo problema de acasalamento com machos novos ou velhos, citado anteriormente. Aos 10 dias, os machos dessa espécie já estão pousando fora da colméia a espera de rainhas virgens para acasalamento e apresentam boa fertilidade.

A quantidade de sêmem ejaculado também tem variação entre gêneros, espécies e entre indivíduos. Em abelhas do gênero *Apis* o volume de 1,5 a 3,0 mm<sup>0</sup> de sêmem corresponde ao total ejaculado. São 7,5 milhões de espermatozóides para cada milímetro cúbico de sêmem (MACKENSEN & ROBERTS, 1948). Em machos da espécie *Melipona scutellaris* Lep. encontram-se 7 vezes menos espermatozóides em cada par de vesículas seminais. Em *Melipona quadrfasciata* Lep. encontra-se em média 1,3 milhões de espermatozóides por milímetro cúbico de sêmem, para machos de 8 a 15 dias de idade (CAMARGO, 1976).

O aproveitamento de sêmem por rainhas de *Melipona quadrfasciata* Lep. é de 97% (KERR et al, 1962). Talvez isto ocorra na maioria das rainhas do gênero *Melipona* por apresentarem grandes semelhanças morfo-fisiológicas do trato genital, bem como nos sistemas de cópula. Nessas espécies, o sêmem ejaculado não excede 1,0 mm<sup>3</sup>. O que é pouco, comparando-se com o gênero *Apis*. Assim, deve ser bem aproveitado para poder fecundar todos os óvulos da rainha acasalada durante seu período de vida fértil. Este período pode variar de 1 a 5 anos, porém, de acordo com KERR (c.p.) a média está em torno de 2 anos.

### 3.7. Mecanismos Etológicos de Cópula

Até 1944 acreditava-se que durante vôo nupcial uma rainha de *Apis mellifera* Lep. copulava com um único zangão. ROBERT (1944) utilizando-se do gene C (cordovão) como marcador genético, concluiu que uma rainha cópula com 2 ou mais machos. TRIASKO (1953) observou que uma rainha cópula com 4 a 5 zangões no mesmo vôo, fazendo comparação entre o volume de sêmen da vesícula seminal do zangão e o volume contido nos ovidutos da rainha logo após

sua volta do vôo nupcial. Posteriormente, TRIASKO (1956) encontrou 107,9 milhões de espermatozoides nos ovidutos, logo após o regresso do vôo nupcial e contou 10,9 milhões para cada zangão, o que significa que poderia ter copulado com 10 zangões no mesmo vôo.

Seguindo a mesma técnica, KEKR et al. (1962) concluíram que uma rainha acasala com 7 a 12 zangões, porém, apenas uma parte dos espermatozoides migram para a espermateca.

A poliandria (acasalamento de uma rainha com mais de um macho) é descrita em várias espécies de Hymenoptera solitárias e sociais (GARÓFALO, 1980; PAGE & METCALF, 1982; COLE, 1983 e PAGE, 1986). Rainhas de *Apis mellifera* Lep. podem copular com até 17 zangões durante um ou vários vôos nupciais (ADAMS et al, 1977). *Apis cerana* Lep. pode copular com até 30 machos (RUTTNER et al, 1973).

Hoje, sabe-se que em abelhas do gênero *Apis* a rainha cópula com mais de 1 zangão, sendo a média igual a 6 zangões. Há variação de espécie para espécie, de rainha para rainha e, principalmente, de acordo com as condições climáticas em que ocorre o vôo nupcial. Quando o dia está claro e a temperatura adequada para a espécie, a cópula é facilitada pela melhor atividade de vôo dos zangões e da rainha.

Abelhas dos gêneros *Melipona* e *Trigona* apresentam características que diferenciam o mecanismo de acasalamento das abelhas do gênero *Apis*. Nos dois primeiros gêneros, o acasalamento das rainhas se dá com apenas um macho, sendo que o acasalamento em laboratório já tem técnica definida, o que facilita as observações dos mecanismos envolvidos neste processo. KERR & KRAUSE (1950) observaram que rainhas de *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* Lep. retornam do vôo nupcial com a cápsula genital do macho presa à sua genitália. A câmara onde fica presa a cápsula genital do macho é denominada "Bursa Copulatrix" (CAMARGO, 1976).

Durante a cópula e após ser introduzida na câmara genital da fêmea, a cápsula genital do zangão (Figura 8) abre suas valvas de forma a ficar com as pontas inseridas lateralmente às membranas da "Bursa Copulatrix" da rainha. Este mecanismo de cópula impede um novo acasalamento, já que o órgão genital masculino é liberado pouco antes do início da primeira postura. Nesta fase, a rainha já se encontra dentro da colméia. O que não ocorre em abelhas do gênero *Apis*, nas quais a rainha se livra do órgão genital do zangão logo após a cópula e em alguns casos, antes de retornar para a colméia, em pleno vôo. O que permite nova cópula por outro zangão.

Outra consequência da permanência da cápsula genital do macho na rainha após a cópula, além de impedir um novo acasalamento, é impedir o refluxo de sêmem para fora do trato reprodutivo feminino, já que, em *Melipona*

e *Trigona* não existe a válvula que obstrui o canal vaginal como ocorre em abelhas do gênero *Apis*.

O comportamento sexual de *Melipona quadrifasciata* Lep. difere em alguns pontos do comportamento sexual observado em *Apis mellifera*: o estímulo para o macho de *Apis* copular é provocado pela abertura voluntária da câmara genital da rainha e por atratividade dos feromônios sexuais expelidos pela rainha. Os machos de *Melipona* abrem a câmara genital da rainha com suas pernas posteriores no momento da cópula. Em *Apis* apenas o bulbo do pênis é deixado na genitália da rainha e em *Melipona* toda a cápsula genital do macho é presa à rainha, inclusive as vesículas seminais, que por ocasião de seu desligamento do macho no momento da cópula, são pressionadas pelas placas quitinosas da cápsula genital (gonocoxitos) promovendo a expulsão do sêmem da vesícula para o pênis e sequente ejaculação.

As glândulas de cheiro (Glândulas de Nasanov) são responsáveis pela liberação do feromônio sexual de atratividade para o macho. CRUZ-LANDIM (1967) verificou que estas glândulas estão presentes em rainhas e ausentes em operárias e machos de *Melipona* e *Trigona*, podendo ocorrer em outros gêneros de Hymenoptera.

O entendimento dos mecanismos envolvidos no processo de cópula em abelhas permite maior facilidade nas práticas de criação e domesticação desses insetos pelo homem. A partir desses conhecimentos podemos manipular o comportamento de reprodução, acelerar os processos de aumento das populações intercruzantes e a variabilidade genética nas populações. Aumentando a probabilidade de perpetuação das espécies suscetíveis à endogamia devido ao pequeno número de colônias existentes.

#### 4. MÉTODOS PARA A MULTIPLICAÇÃO ARTIFICIAL DE COLÔNIAS

Vários métodos diferentes podem ser empregados para a formação artificial de novas colônias de meliponíneos. Cada um específico para a pesquisa e ou manejo adotado nos trabalhos de meliponicultura (NOGUEIRA-NETO, 1970; KERR, 1987; MENEZES et al, 1993 e NASCIMENTO et al, 1993; AIDAR, 1995b).

Nos estudos aqui apresentados três métodos diferentes foram propostos e avaliados para a formação das colônias filhas: 1) Formação com Rainha Fisogástrica Acasalada Naturalmente; 2) Formação em Orfandade, ou seja, sem Rainha Fisogástrica Inicial; 3) Formação com Rainha Fisogástrica Acasalada em

45

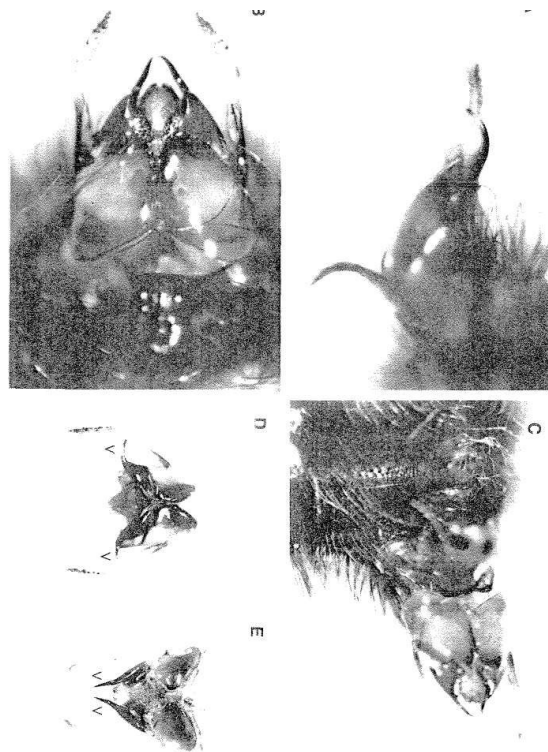


Figura 8. (A) Vista lateral da cápsula genital do zangão de *Melipona scutellaris* Lep. exposta artificialmente (Aumento = 36,10x); (B) Vista ventral da cápsula genital do zangão de *Melipona scutellaris* Lep. exposta artificialmente (Aumento = 36,10x); (C) Vista em perspectiva da cápsula genital do zangão de *Melipona scutellaris* Lep. exposta artificialmente (Aumento = 26,10x); (D) Vista dorsal da cápsula genital com as valvas-v abertas, retirada do zangão de *Melipona scutellaris* Lep. (Aumento = 26,10x) e (E) Vista dorsal da cápsula genital com as valvas-v fechadas, retirada do zangão de *Melipona scutellaris* Lep. (Aumento = 26,10x) (Fotos D.S. AIDAR).

46

Laboratório, de acordo com a metodologia desenvolvida por CAMARGO (1976), mais as modificações desenvolvidas durante os experimentos (AIDAR, 1995b).

#### **4.1 Método 1: Formação com Rainha Fisogástrica Acasalada Naturalmente**

Todas as colônias formadas por este método receberam rainhas em plena atividade de postura que foram acasaladas no campo, segundo seus mecanismos naturais de vôo nupcial.

Iniciando colônias pelo Método 1, uma rainha fisogástrica é retirada de uma das colônias matrizes; favos nascentes de uma segunda colônia matriz, para servir de fonte de abelhas jovens; aproximadamente 100 abelhas jovens de 1 a 10 dias (abelhas claras) coletadas de colônias matrizes, mediante aspirador de insetos e de favos com crias nascentes armazenados em estufa a 28 - 30°C. Com uma pinça não muito fina, estas abelhas recém nascidas foram retiradas dos favos e depois foram introduzidas na colônia em formação. A rainha fisogástrica, as abelhas jovens, os favos nascentes e pedaços de invólucro do ninho, são acomodados dentro de uma colméia vazia, de forma a imitar uma colônia normal, ou seja, favos sobrepostos com espaço entre eles para passagem de abelhas, envoltos pelo invólucro. Mais dois a três potes de alimento.

Finalmente, a nova colméia é colocada no lugar de uma terceira colônia matriz para que receba, em média, 100 abelhas adultas (campeiras e guardas). Esta prática é possível porque as abelhas adultas reconhecem o local da colônia, e quando esta é retirada, elas tendem a retornar do campo e entram na colméia que estiver no local. Em poucos minutos adaptam-se à nova moradia.

O número de campeiras deve ser estimado antes mesmo da substituição de local entre as duas colônias manipuladas (matriz e filha). Para isso, a colônia matriz deve ser revisada antes para ser feita a contagem, aproximada, de abelhas campeiras. A contagem exata de 100 abelhas em movimento é tarefa impossível a nível de campo. Desta forma a prática na observação das abelhas é ponto fundamental para o sucesso dos trabalhos. Um método simples que pode auxiliar a estimativa do número de campeiras é bater, ritmadamente, com um

47

objeto de metal sobre a parede externa da colméia. Com isto, as campeiras tendem a sair da caixa e ficarem revoando próximo à entrada. Esta revoada permanece por 2 a 3 minutos, até que as campeiras retornem à colméia. É neste intervalo de tempo que devemos realizar a contagem ou estimar o número de abelhas que serão transferidas para a colônia filha.

A utilização de três colônias matrizes, para a formação de apenas uma filha permite o não enfraquecimento acentuado das matrizes. Desta forma as matrizes podem ser conservadas sempre em boas condições. O que não acontece quando é retirado todo o material de uma única colônia. Esta demora mais tempo para se recuperar, reestabelecer-se e novamente fornecer elementos para novos experimentos.

Seguindo este método foram formadas as colônias de número 1, 4, 6, 9, 10 e 20.

#### **4.2. Método 2: Formação em orfandade**

Para este segundo método 2 colônias matrizes são empregadas para a formação de uma colônia filha: uma para ceder favos de crias nascentes, e outra para ceder as abelhas adultas. Caso seja necessário, os favos de crias nascentes podem ser retirados de colônias diferentes. Não há problemas de reconhecimento entre abelhas jovens de diferentes colônias, elas convivem normalmente. As adultas de diferentes rainhas é que não podem ser juntadas numa mesma colméia pois irão brigar até a morte.

Abelhas jovens podem ser adquiridas a partir de favos nascentes armazenados em estufa e de colônias matrizes, quando necessário. A captura das campeiras é realizada trocando de lugar a colônia filha com uma das colônias matrizes. Deve ser respeitada a distância mínima de 10 m entre as duas, no sentido de evitar o retorno das abelhas para a colônia de sua origem. Este retorno não

ocorre no mesmo dia, porém, com o passar do tempo, muitas operárias reconhecem a colônia original e retornam. Ficando a nova colônia sem campeiras ou com poucas campeiras. Este fato só foi observado na formação de novas colônias pelo Método 2. Ficando a colônia filha sem rainha fisogástrica por alguns dias (10 a 40), até a aceitação de nova rainha pelas operárias, a falta de feromônios reais dentro da colméia talvez seja o motivo pelo qual as campeiras retornem à colônia mãe, com rainha fisogástrica.

Neste método não é utilizada rainha fisogástrica inicial. Esta é originada a partir das rainhas virgens que nascem dos próprios favos de crias nascentes utilizados na formação da colônia, que acasalam-se naturalmente com zangões do meliponário. O vôo nupcial e demais comportamentos de cópula natural foram descritos no item 2.3. Deve ser lembrado que este método não deve ser

## 48

empregado em locais onde o número de colônias esteja abaixo do recomendado, para evitar a endogamia e seqüente morte de colônias. Estes e outros aspectos genéticos relacionados ao manejo dos três métodos serão discutidos adiante.

Quatro colônias foram formadas seguindo as técnicas deste segundo método, as de número 3, 5, 8 e 15.

### 4.3. Método 3: Formação com rainha fisogástrica acasalada em laboratório

A formação artificial de colônias com rainhas acasaladas em laboratório envolve várias colônias matrizes, de acordo com a necessidade. São retirados favos de crias nascentes de colônias matrizes para a coleta de rainhas virgens e operárias jovens nascidas em estufa a 28 - 30°C. É necessário um bom estoque de pólen fermentado para a manutenção das abelhas em estufa até o completo desenvolvimento fisogástrico da rainha acasalada. Abelhas jovens deverão estar disponíveis diariamente.

As abelhas campeiras serão originadas do próprio desenvolvimento das abelhas jovens introduzidas diariamente junto com a rainha acasalada em confinamento. Ou seja, para este método a colônia filha não deve ser posta no local de uma colônia matriz para receber campeiras.

De acordo com a metodologia definida por CAMARGO (1976) as rainhas acasaladas em laboratório foram examinadas com auxílio de lupa. Aquelas com a cápsula genital do macho corretamente presa às membranas da *bursa copulatrix*, pela abertura das valvas, foram marcadas sobre o tórax com tinta automotiva e transferidas para placas de Petri com pólen, mel, 5 a 7 operárias novas e tampas plásticas de vidro com 1,5 cm de diâmetro com um algodão molhado em água destilada para as abelhas realizarem a deposição de excrementos. Este recipiente deve ser trocado sempre que estiver seco e com excesso de excrementos.

Armazenadas em estufa a 28 - 30°C, as placas de Petri recebem diariamente 5 a 8 operárias recém-nascidas. Em geral, o número de operárias introduzidas na placa de Petri foi acima de 6. Quanto mais rapidamente desenvolve o abdome da rainha, mais operárias são necessárias para um melhor e mais rápido desenvolvimento da colônia.

Após 15 a 20 dias, quando a rainha apresentar sinais de desenvolvimento abdominal (dilatação) e o número de operárias esteja elevado para o pequeno volume da placa de Petri (mais ou menos 70 a 90 operárias), a colônia deverá ser transferida para uma colméia de 20 X 20 X 6 cm.

Esta caixa de madeira deve ser preparada de forma a ter em seu interior, cerume (pedaço de invólucro de uma colônia matriz); favo com postura de 1 a 3

## 49

dias contendo células em construção, para estimular as operárias a construir células de postura e a rainha iniciar postura; potes artificiais confeccionados com cera de *Apis* contendo pólen e mel e vidro superior de observação, que deve ser fixado à madeira por meio de fita adesiva. Finalmente,

deverá ser mantida em estufa à 28 - 30°C.

As revisões, limpeza da caixa e a alimentação das abelhas devem ser efetuadas diariamente até a abertura da colméia no campo, quando esta já apresentar o invólucro bem formado e a rainha já estiver com o abdome desenvolvido, de modo que não mais possa voar.

A partir deste momento, o tratamento das colônias segue o mesmo manejo adotado nos outros dois métodos, isto é, revisões e pesagens de 10 em 10 dias e alimentação progressiva, a qual será descrita no item 3.5.

Foram formadas 7 colônias seguindo esta metodologia: as colônias de número 2, 7, 13, 16, 17, 18, 19.

#### 4.4. Cuidados Iniciais com as Colônias Formadas

O número de abelhas que deve ser empregado para a formação das colônias filhas não deverá ser menos de 100 adultas, 100 jovens e 1 favo nascente com 100 casulos. As tentativas com menor número de abelhas não foram bem sucedidas. É claro que quanto maior número de abelhas disponíveis existirem, tanto melhor será o desenvolvimento das colônias filhas, exceto para o método 3 que deve seguir o desenvolvimento ovariano da rainha recém acasalada.

Como alimento inicial devemos fornecer um pote artificial fechado com pólen fermentado e dois com Xarope-A. Estes potes artificiais devem ser testados previamente para não serem usados potes furados que promovem vazamento do xarope dentro da colméia. As dimensões que melhor se adaptam à mandançaia é de 1,5 cm de diâmetro por 2,5 cm de altura, o que representa um volume médio de 3,5 ml. Potes com outras dimensões foram destruídos pelas operárias (Figura 9 e 10).

Caso haja disponibilidade de mel próprio da espécie trabalhada, dispensa-se o uso de xarope artificial. O pólen deve ser fermentado e de preferência, ser da mesma espécie de abelha.

Pedaços de invólucro ou cerume foram retirados de colônias matrizes e serviram como suporte para o favo inicial de crias nascentes. Este foi envolto com o cerume e calçado de forma a não ficar em contacto direto com o piso da caixa.

Para a formação de uma mesma colônia nunca foram coletadas campeiras de colônias distintas. Evitando, desta forma, mortes devidas a brigas entre operárias de colônias diferentes, o que sempre ocorre quando estas são colocadas juntas em uma mesma colméia.

50

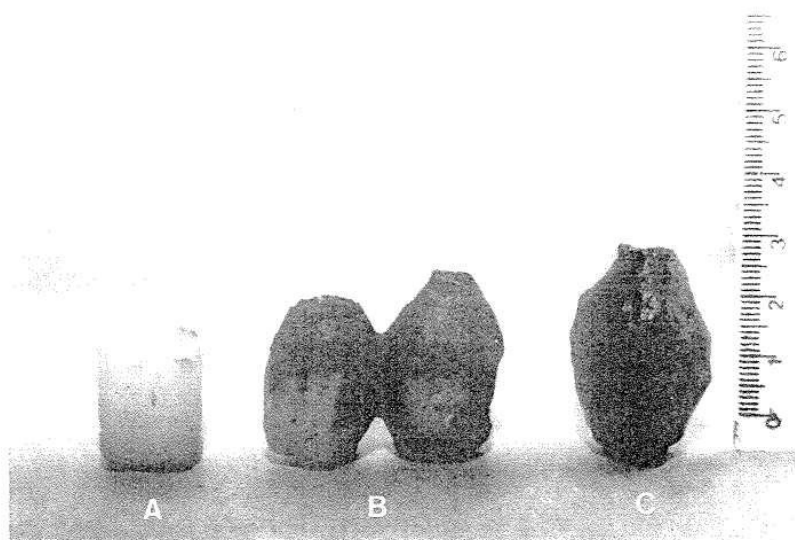




Figura 9. Vista lateral de pote artificial trabalhado por operárias de *Melipona quadrifasciata* Lep. (A) Pote artificial antes de ser colocado dentro da colméia; (B) Potes artificiais parcialmente trabalhados por operárias, após 8 dias dentro da colméia e (C) Pote artificial completamente trabalhado e recoberto por cera de *Melipona quadrifasciata* Lep., após 12 a 15 dias dentro da colméia (Foto D.S. AIDAR).

O sistema de alimentação (item 2.5) e de revisões periódicas (10 em 10 dias) seguiu a mesma metodologia para os três métodos, com o propósito de padronizar o mesmo tratamento para os três métodos.

Na fase inicial de desenvolvimento das colônias filhas, é colocado vidro de observação entre a tampa e a alça, medindo 20 x 20 cm x 3 mm, a fim de permitir a visualização interna sem promover manipulações e maiores transtornos para as colônias em desenvolvimento. Sempre que se apresenta r sujo de cerume o vidro de observação deverá ser trocado.

Após a colônia recém formada estar com todos os elementos e o vidro de observação perfeitamente ajustado com auxílio de fita adesiva, reduz-se com barro de geoprópolis o orifício de entrada da colméia mantendo-o com 0,6 a 0,7 mm de diâmetro. Permitindo a passagem de apenas uma abelha por vez. O que facilita a defesa da colônia contra forídeos (*Pseudohyocera kerstezi*), pelas abelhas guardas e outros predadores. Detalhe muito importante neste início de desenvolvimento, porquê a colônia não apresenta uma quantidade suficiente de operárias para assegurar sua defesa contra invasores.

51

52



Figura 10. Vista superior de pote artificial confeccionado com cera de abelhas do gênero *Apis*. (A) Pote artificial não trabalhado e destruído por operárias de *Melipona quadrifasciata* Lep.; (B) Pote artificial trabalhado por operárias de *Melipona quadrifasciata* Lep. (Foto D.S. AIDAR).

Quando os favos de crias aumentam em tamanho e número e estiverem prestes a encostar no vidro, este é retirado e uma outra alça deve ser acrescentada a fim de aumentar o espaço interno para o livre crescimento do colônia.

Em épocas ou regiões com temperaturas abaixo de 20°C, as colônias iniciais devem ser mantidas em estufa à 28 - 30°C até adquirirem condições de sobrevivência no campo. Este procedimento foi empregado, principalmente, no Método 3 em que as campeiras e guardas foram obtidas por meio do desenvolvimento das abelhas jovens que acompanharam a rainha recém acasalada em laboratório (CAMARGO, 1976).

Nos Métodos 1 e 2 raramente a colônia foi levada à estufa, já que as adultas foram adquiridas em fase ideal para forrageamento. Isto foi necessário apenas em situações adversas

como, por exemplo, ataque de forídeos e outros inimigos naturais ou mesmo durante alguns dias de inverno rigoroso.

Como cobertura para proteção contra insolação e água de chuvas, são empregadas telhas de cimento amianto dispostas de forma a apresentarem inclinação de 25 a 35°, o que facilita o livre escoamento de água e ventilação adequada, evitando super aquecimento da tampa da colméia se esta fosse

52

disposta em contacto direto com a telha e na posição horizontal, isto é, sem inclinação. Sobre a telha foram colocados pesos (tijolos, por exemplo) para evitar deslocamento por ação de ventos fortes.

Para a vedação das frestas e fixação da tampa, das alças sobrepostas e do vidro de observação, é utilizada fita adesiva que deve ser trocada sempre que apresentar sinais de ressecamento.

Nas colônias iniciais, a remoção de dejetos acumulados pelas abelhas dentro da colméia deverá ser empregada apenas nas duas primeiras semanas após a sua formação. Depois deste período as próprias abelhas se encarregam de limpá-la. Caso esta limpeza não esteja sendo realizada pelas operárias, provavelmente, a colônia está sem abelhas suficiente para se desenvolver. Então, deverão ser adicionadas mais células nascentes, imediatamente. Um favo com 70 a 80 células de pupas em estágio avançado de desenvolvimento seria o ideal nestes casos. Além de outras razões, esta é uma pela qual devemos manter matrizes sempre fortes, prontas para servirem às colônias mais fracas do meliponário. Serão estas colônias fortes que também apresentarão condições para a manutenção de machos maduros na área de reprodução. Estes machos devem estar à disposição para qualquer substituição de rainha, natural ou induzida pelo meliponicultor quando houver necessidade. O ideal é manter sempre o mínimo de 44 colônias matrizes na mesma área de reprodução.

#### 4.5. Avaliação do Desenvolvimento das Colônias

Várias formas de avaliar uma colônia de meliponíneo podem ser relatadas. As pesagens, avaliação da atividade de postura da rainha, população do ninho, número de favos de crias e o estado geral da colônia podem ser avaliados quantitativamente por observação direta durante as revisões internas das colônias. Recentemente, KERR (1987), MENEZES *et al.* (1993); NESCIAMENTO *et al.* (1993) e AIDAR (1994 e 1995b) publicaram resultados importantes de pesquisas realizadas com meliponíneos. Inclusive o uso da cera moldada de abelhas africanizadas, como substituto do invólucro dos favos de crias, para auxiliar na formação de colônias.

Em outros trabalhos também são avaliadas características específicas de uma colônia de abelhas como, por exemplo, os mecanismos comportamentais relacionados aos processos de postura; a quantidade de postura diária efetuada pela rainha fisogástrica relacionada ao estado geral da colônia (DARAKJIAN, 1991). Neste caso, o objetivo principal foi avaliar o número de postura diária efetuada pela rainha fisogástrica em condições de laboratório, com auxílio de colméias de observação construídas conforme SAKAGAMI *et al.* (1965) e SAKAGAMI (1966).

53

NOGUEIRA-NETO (1948 e 1970), KERR (1987) e AIDAR (1995b) citam a metodologia para avaliar as colônias quantitativamente e por observação direta, por intermédio de valores numéricos, isto é, atribuindo-lhes uma nota de 1,0 a 10,0 a cada revisão. Segundo os autores, colônias de *Melipona quadrifasciata* em condições de serem divididas apresentam 3 favos de crias nascentes, em média, os quais apresentam larvas que já teceram os seus casulos (larvões), pupas e

imagos; mais 2 favos com ovos e larvas na fase de alimentação ou pré-defecantes (favos escuros, com cerume). Nestas condições atribui-se nota 7,0 ou acima desta, de acordo com o estado geral da colônia.

A pesagem e o registro periódico do ganho de peso, bem como a utilização de notas como parâmetros para a avaliação de uma colônia de meliponíneo foram relatados nos trabalhos de KERR (1987) realizados com *Melipona compressipes fasciculata* Smith em São Luiz, MA, e nos trabalhos atualmente desenvolvidos em Uberlândia, MG, com *Melipona scutellaris* Lep.

A metodologia de inferir valores numéricos às colônias de meliponário para caracterização de seus desenvolvimentos, é técnica que vem sendo utilizada por muito poucos pesquisadores e meliponicultores, e considero de grande importância para a padronização e uniformização dos dados sobre o estado geral de cada colônia para diferentes espécies de *Melipona*. As fichas de avaliação das colônias revisadas devem ser usadas sempre que possível, facilitando ao meliponicultor um melhor monitoramento do desempenho individual das colônias.

Vários modelos de fichas podem ser usados, mas a simplicidade e a objetividade devem ser preferíveis. O mais importante é que o meliponicultor deve saber como está sua colônia antes de ser aberta para revisão, evitando o estresse da colônia caso fique aberta por muito tempo enquanto o meliponicultor analisa os seus dados. Por meio das fichas pode-se reconhecer exatamente o que deve ser analisado e manipulado para cada colônia, mesmo antes de ser aberta para revisão. A Tabela 4 mostra um modelo de ficha que pode ser empregado para a avaliação de colônias de meliponíneos.

#### **4.6. Revisões das Colônias Formadas**

Com o objetivo de monitorar o crescimento das colônias iniciais faz-se necessário realizar revisões freqüentes e em intervalos de tempo iguais. Preferir intervalos não muito longos, máximo de 15 dias. Quando as revisões são muito freqüentes podem causar estresse e morte de crias. Isto causa o retardamento do crescimento das colônias. Todas as partes de invólucro descoladas para a visualização do ninho e a vedação interna da tampa da caixa, após cada revisão, deverá ser refeita pelas operárias e isto envolve perda de tempo e consumo de

Tabela 4: Método de avaliação das colônias pelas notas dos elementos que compõem uma colônia de *Melipona quadrifasciata* Lep e seus respectivos valores de acordo com a leitura/data; referente à Colônia 10 Método 1 (AIDAR, 1995b)

		<b>Leitura</b>																				
Elemento	Nota Máxima	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
		15/03	25/03	04/04	14/04	24/04	04/05	14/05	24/05	03/06	13/06	23/06	03/07	13/07	23/07	02/08	12/08	22/08	01/09	11/09	21/09	01/10
<b>P</b>	(1,5)	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,5	0,7
<b>F</b>	(1,5)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,6	0,6	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,8
<b>Ps</b>	(1,0)	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,3	0,3	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,6	0,7	0,8
<b>E</b>	(1,3)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,5	0,5	0,6	0,8
<b>C</b>	(1,0)	0,5	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,5	0,8	0,8	0,8	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9
<b>R</b>	(1,5)	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,3	0,5	0,6	0,6	0,7	0,7	0,8	0,8
<b>O</b>	(1,0)	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,4	0,5	0,6	0,7	0,7	0,8	0,3	0,9	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
<b>I</b>	(1,0)	0,2	0,1	0,3	0,3	0,4	0,4	0,5	0,5	0,6	0,6	0,7	0,8	0,8	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
<b>G</b>	(0,2)	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,2	0,0	0,2	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,2	0,2	0,2
<b>Total</b>		1,5	1,5	1,5	1,8	2,0	2,5	2,5	2,8	3,0	3,2	3,4	3,8	4,3	4,8	5,0	5,3	5,5	5,6	6,0	6,4	7,0

P=quantidade de potes de pólen e mel; F=tamanho e quantidade dos favos de cria; Os=postura da rainha; E=tamanho da entrada da colméia; C=número de campeiras; R=quantidade resina coletada e armazenada; O=organização geral das abelhas; I=altura do invólucro da cria; G=ganho de peso da colméia.

energia pelas abelhas. As revisões deverão ser rápidas e causar o mínimo dano à estrutura do ninho e dos potes de alimentos; devem ser executadas em intervalos iguais para a padronização e realização de comparações do desenvolvimento entre colônias, de acordo com a época do ano.

A mortalidade da cria na fase de transição e outras doenças, foram descritas por NOGUEIRA-NETO (1970). O autor relata que revisões em intervalos de tempo muito curtos podem promover a morte devido ao estresse que as colônias são submetidas quando são manipuladas inadequadamente.

Provavelmente, o estresse de revisões muito freqüentes proporciona um desequilíbrio biológico interno e conseqüente crescimento excessivo de microorganismos (bactérias, principalmente) que habitam normalmente as colônias desta espécie. Este aumento da população de uma determinada espécie de microorganismo dentro da colônia pode causar a morte de crias ou mesmo da colônia inteira.

Quando abertas, as colônias não devem receber luz solar diretamente nos favos de crias. Os raios solares podem matar as crias mais novas e provocar agitação excessiva às abelhas com perda daquelas muito jovens que não podem voar quando caem no chão. Existem relatos que durante revisões muito estressantes os machos que estão dentro da colônia podem copular com a rainha fisogástrica causando ferimentos em seu abdômem provocados por suas valvas. Estes ferimentos podem causar a morte da rainha fisogástrica ou provocar a morte dela pelas operárias, após estar com as valvas dos machos inseridas em seu abdômem.

#### **4.7. Coleta de Zangões, Rainhas e Operárias Jovens**

As coletas de machos no campo para serem utilizados na formação de colônias pelo Método 3, por intermédio da cópula em laboratório, devem ser executadas mediante o auxílio de rede entomológica. A coleta de machos dos favos de crias armazenados em estufa, no laboratório, deve ser realizada com auxílio de pinças entomológicas ou com os dedos do próprio meliponicultor. Para isso deve-se ter as mãos bem limpas e sem qualquer odor, principalmente o de fumo.

Os machos são fáceis de serem coletados quando estão pousados e agrupados em locais como a parede externa das colméias ou troncos e folhagens das árvores e arbustos próximos às colônias do meliponário. Nesta idade os machos apresentam constituição fisiológica dos órgãos da reprodução adequada à reprodução (testículos, vesículas seminais, glândulas secretoras de líquido seminal e pênis), ou seja, estão maduros e com a maioria dos espermatozóides

**56**

localizados a nível de vesícula seminal, prontos para a cópula (CAMARGO, 1976; KERR & KRAUSE, 1950).

Todos os instrumentos de manipulação, bem como as mãos do operador, devem estar bem limpos e desinfetados com álcool. Qualquer odor estranho às abelhas incorre em rejeição pela rainha virgem durante as tentativas de cópula, ou mesmo, rejeição e eliminação da rainha pelas operárias, principalmente quando esta é colocada em contacto com abelhas adultas.

As rainhas virgens e as operárias jovens podem ser obtidas de favos de crias nascentes retirados de colônias matrizes e armazenados em estufa a 28 -30°C, até o nascimento das mesmas. Para facilitar a emergência dos imagos os opérculos dos favos podem ser retirados com auxílio de pinças. Esta prática permite um maior aproveitamento dos indivíduos, evitando mortes dentro das células por não conseguirem emergir.

Quando necessário, operárias jovens podem ser coletadas diretamente das colônias matrizes por meio de um aspirador de insetos. Estas são facilmente reconhecidas pela coloração clara e grande quantidade de pelos que possuem quando jovens. As adultas apresentam coloração negra. Aquelas de meia idade apresentam coloração castanha.

Os indivíduos recém nascidos necessitam de alimentação energética imediatamente. O

fornecimento de Xarope-A é indispensável nesta fase. Após algumas horas deverá ser fornecido o pólen, "in natura". Durante toda a permanência em laboratório esses dois alimentos básicos devem estar sempre à disposição das abelhas, bem como algodão embebido em água limpa.

#### 4.8. Alimentação Artificial

Como em qualquer sistema de criação animal intensiva o suplemento alimentar em forma de rações é fundamental para a saúde dos animais e para o sucesso dos trabalhos de aumento da população intercruzante. No caso das abelhas, para a manutenção de várias colônias em um mesmo local onde as floradas são restritas, faz-se necessário o fornecimento de uma alimentação artificial bem balanceada. Mesmo havendo disponibilidade de flores com bom néctar e bom pólen as colônias fracas não apresentam número de campeiras suficiente para a execução de um forrageamento inicial eficiente, necessitando de alimento extra até que se desenvolvam e sejam capazes de obter o seu próprio alimento no campo (AIDAR & CAMPOS, 1994; AIDAR, 1995b).

A alimentação artificial para meliponíneos é uma das grandes preocupações de cientistas e meliponicultores em regiões onde o número de colméias excede a capacidade de suporte oferecida pela vegetação local, ou seja, a disponibilidade de flores no campo (centros urbanos e áreas desmatadas, por

57

exemplo); ou caso se deseje um crescimento relativamente rápido das colônias, mais do que o normal, como em projetos de recuperação de espécies em extinção. As abelhas, como todos os organismos, requerem nutrientes como proteínas, carboidratos, sais minerais, vitaminas e lipídeos, para um desenvolvimento orgânico normal. O néctar fornece às abelhas os carboidratos, o pólen fornece as proteínas, os lipídeos, os minerais e as vitaminas (HEBERT Jr., 1992). Desta forma, muitas composições de proporções diferentes de água e açúcar (NOGUEIRA-NETO, 1993), pólen, mel de meliponíneos e mel de *Apis*, bem como suplementos vitamínicos (KERR, 1987, 1995 e AIDAR, 1995b) são citados em literatura e utilizados na criação de abelhas indígenas.

No processo de elaboração da composição dos nutrientes no alimento artificial para abelhas é importante o conhecimento das necessidades nutricionais destes insetos, bem como ter o cuidado com algumas substâncias que lhe possam ser tóxicas, como a lactose é para as abelhas (BARKER & LEHNER, 1972b).

Pesquisas realizadas em laboratório demonstraram que as abelhas preferem a sacarose a outros açúcares, como fonte de energia (WALLER, 1972; Von FRISH, 1934), além de apresentar um alto valor nutritivo para elas, dentre os açúcares estudados (BARKER & LEHNER, 1972a).

CAMARGO (1974) desenvolveu uma dieta semi-artificial para meliponíneos baseando-se na fermentação natural do pólen de *Thypha domingensis* (tabúia), acrescentando mel e uma amostra de pólen proveniente da espécie que se deseja alimentar artificialmente. Após 30 a 40 dias o alimento está pronto para ser fornecido às abelhas. Rainhas de *Melipona*, recém-fecundadas, confinadas com operárias que receberam apenas essa dieta semi-artificial, desenvolveram ovário e iniciaram postura normalmente, demonstrando não estarem com deficiência nutricional. O mesmo autor demonstra que a técnica pode ser utilizada também para as *Scaptotrigona sp.*

FERNANDES & ZUCOLOTO (1994) desenvolveram pesquisas para estudar os vários substitutos alimentares para abelhas. Dentre eles são destacados o levedo de cerveja e pólen de outras espécies de abelhas, bem como o sal comum como fonte de sódio e cloro (ZUCOLOTO, 1994, AIDAR & CAMPOS, 1994 e AIDAR, 1995b).

Os alimentos podem ser caracterizados como alimento proteico e alimento energético. De acordo com as suas propriedades químicas e nutricionais para o organismo.

A alimentação proteica está intimamente relacionada com os processos vitais das células e conseqüentemente, do organismo. Com exceção de alguns aminoácidos mais simples, o organismo

não pode sintetizar (produzir) a maioria deles com rapidez e eficiência para o atendimento das necessidades orgânicas, sendo portanto, necessária a sua presença na dieta. Após a digestão das proteínas,

58

os aminoácidos são absorvidos e utilizados pelo organismo para síntese de suas próprias proteínas que se encontram em grande número e especificidade de formas.

Os animais devem receber uma quantidade mínima de proteínas para atender às suas necessidades biológicas. Tão importante quanto a quantidade é a qualidade da proteína fornecida. Para a maioria das espécies de abelhas, a fonte de proteínas é exclusivamente o pólen (*Trigona hipogea* obtém proteína por meio da digestão de tecidos de animais mortos), que deve ser de boa procedência e bem diversificado com relação à fonte floral para que as proteínas no alimento contenham também todos os aminoácidos necessários às necessidades vitais do inseto.

A alimentação energética, que é representada pelo néctar floral, principalmente, é fundamental pois a quantidade de substâncias corporais prontas a fornecerem energia para o organismo é sempre pequena. Porém, é continuamente substituída. Esta fonte imediata de energia pode ser suprida por açúcares, sendo o principal para as abelhas a sacarose, a qual constitui a mais importante fonte imediata de calor para o organismo e de energia para a realização de vários processos de manutenção da temperatura da colônia para o desenvolvimento das crias.

#### 4.8.1. Alimentação Energética: XAROPE-A

O alimento artificial pode ser preparado de várias maneiras segundo cada autor. NOGUEIRA-NETO (c.p.) afirma que a utilização de mel de abelhas do gênero *Apis* para alimentar *Melipona quadrifasciata* Lep. ou outras meliponas pode levar a contaminações com vírus ou bactérias, comuns às abelhas de ferrão. KERR (c.p.) utiliza o mel de *Apis* no Meliponário-K de *Melipona scutellaris* Lep., localizado em Uberlândia, MG, sem ter encontrado qualquer inconveniente para as abelhas até o momento. Porém, por motivos de cautela e prevenção, o alimento artificial não deve apresentar grande quantidade de mel de abelhas africanizadas e se utilizado, deve ser de boa procedência para evitar contaminações com microorganismos nocivos às abelhas. O XAROPE-A tem demonstrado excelentes resultados como suplemento energético e vitamínico para a criação da mandação.

O alimento artificial modificado ou XAROPE-A é composto de 1 parte de açúcar comum (não refinado) + 1 parte de água fervida (NOGUEIRA-NETO, 1970 e 1993) + 1 cápsula de Teragran - M (drágeas de vitaminas e sais minerais com vitamina B12) (KERR, 1987) + 1 pitada de sal de cozinha (NaCl) como fonte de íons sódio e cloro (EMELLEN, 1945; ZUCOLOTO, 1994), além de fornecer também o flúor, normalmente adicionado ao sal para consumo humano. O sal

59

representa importante papel no fornecimento de íons que são fundamentais nos processos do controle osmótico de membranas e no metabolismo dos tecidos no organismo.

Para uma boa homogeneização do Xarope-A a drágea de suplemento vitamínico deve ser moída em almoforiz de porcelana ou socador de alho bem limpo e misturada a um 1 litro de xarope frio por meio de um liquidificador comum. Até o total desaparecimento das partículas sólidas da drágea do suplemento. Estas partículas aparecem com uma coloração esbranquiçada, em contraste com a solução pardacenta do xarope.

O Xarope-A deve ser armazenado a 8°C em geladeira comum. Uma piceta ou recipiente semelhante, presta-se muito bem para este fim. Antes de ser ministrado às abelhas deverá ser aquecido em banho-maria até 28 - 30°C para adequar à temperatura da colônia. A baixas

temperaturas não deve ser fornecido para evitar o descontrole térmico interno da colméia. Mesmo em alimentadores coletivos deve ser fornecido à temperatura ambiente.

No processo de confecção dos potes artificiais a cera de abelhas africanizadas deve ser derretida e moldada com auxílio de um pequeno bastão de madeira com as medidas aproximadas de um pote natural de *Melipona quadrifasciata* Lep (Figura 9).

Para evitar aderência da cera derretida à madeira, mergulha-se o molde em água com um pouco de mel ou sabão de coco e logo em seguida, na cera líquida três a quatro vezes. Mergulhando-se em água fria até a completa solidificação da cera a ele moldada. O pote artificial é retirado do molde e posto a secar. Antes de serem usados os potes devem ser cuidadosamente examinados para selecionar aqueles que apresentem defeitos, como pequenos orifícios, os quais podem permitir o vazamento do xarope e espalhamento pelo piso interno da colméia, o que pode proporcionar a morte de muitas abelhas ou até mesmo da rainha se ela se lambusar no xarope. Após esta revisão utiliza-se aqueles em perfeitas condições e bem secos, os outros são derretidos novamente.

O Xarope-A deve ser dosado de modo a ser consumido sem permitir sobras nos potes. Caso isto aconteça, a atração de forídeos é certa. Uma maneira muito fácil de evitar tais sobras é a de se fornecer quantidades de XAROPE-A progressivamente, aumentando de acordo com o crescimento da colônia. Colônias em fase inicial de desenvolvimento, isto é, com notas entre 1,0 e 3,5, devem ser alimentadas de 2 em 2 dias com 10,5 ml (3 potes artificiais); colônias com notas entre 3,5 a 4,5 devem ser alimentadas de 5 em 5 dias com 14 ml (4 potes artificiais) e aquelas com notas acima de 4,5, de 10 em 10 dias com 24,5 ml (7 potes artificiais). Procurar fornecer alimento durante as revisões para avaliação das colônias, evitando manipulação excessiva das mesmas. Lembrar que as quantidades de xarope aqui recomendadas são referentes a épocas e regiões sem

## 60

floradas. Caso haja disponibilidade de flores no campo, as quantidades de xarope para colônias com notas acima de 4,5 devem ser reduzidas à metade.

O alimentador coletivo poderá ser empregado como forma mais prática e rápida de alimentar as colônias, mas para sua utilização deve-se ter atenção para as seguintes observações:

a) O treinamento prévio das abelhas com relação à localização da fonte de alimento deve ser cuidadoso no sentido de evitar o aparecimento de abelhas africanizadas ou irapuás (*Trigona pinipes* Lep.). Caso estas comecem a pousar no alimentador, o meliponicultor deverá eliminá-las uma a uma para não levarem a informação sobre o local da fonte de alimento para a sua colônia e recrutarem novas coletoras. Se isto ocorrer em 10 a 15 minutos o alimentador estará tomado pelas africanizadas e as meliponas não poderão coletar o Xarope-A. Dependendo da região esta forma de alimentação deverá ser descartada devido a presença destes competidores. Em Viçosa, MG, não foi possível a utilização do alimentador coletivo por haverem apiários perto do meliponário. Entretanto, em Ribeirão Preto, SP, no Meliponário-A, este problema não ocorre.

Após um perfeito treinamento das meliponas em relação à localização da fonte de alimento e do horário de fornecimento do Xarope-A, tudo se torna mais simples e rápido. O horário para alimentação coletiva deve ser de preferência pela manhã, logo que as campeiras começam a voar ou no final do dia quando ainda está claro. Nas condições ambientais do Meliponário-A entre 6:10 e 6:30 horas e 17:15 e 17:45, foi o período em que melhores resultados foram obtidos para a alimentação coletiva.

b) O excesso de Xarope-A na fase inicial de uma colônia, estimula a construção de potes pelas operárias para o armazenamento deste excedente. Isto causa um desequilíbrio interno devido ao gasto de energia para esta atividade. Nesta fase a colônia inicial necessita de mais investimentos em favos de crias e controle de temperatura para a rainha realizar postura. A construção de potes para armazenamento de mel deve se restringir ao mínimo necessário para a manutenção da colônia. Deve ser lembrado que os potes de armazenamento de pólen e



mel são feitos de cera e que as operárias consomem 8 partes de mel para produzir 1 parte de cera.

c)O tempo gasto pelas abelhas para secar o alimentador é muito importante, pois quanto menos tempo este estiver cheio mais difícil será o surgimento de saques por *Apis* ou outras abelhas. Desta forma, por tentativas, deve-se estimar o tamanho do alimentador e a quantidade de Xarope-A fornecida, em relação ao número de abelhas presentes no meliponário.

Bons resultados estão sendo obtidos com alimentador coletivo de 20 X 15 X 3 cm; com madeira fina (máximo 0,5 cm de espessura) e furada de forma a flutuar quando adicionado o Xarope-A.

## 61

Quinze minutos com o alimentador coletivo repleto de abelhas, é o tempo ideal para evitar saques por outras espécies. Isto quando trabalha-se em meliponário com 44 colônias de *Melipona quadrifasciata* com notas variando de 4,5 a 6,5.

Quanto mais denso for o xarope mais pesadas e lambusadas as coletoras estarão quando retornam à colônia, podendo ocorrer perdas consideráveis ao caírem no solo e serem mortas por predadores, principalmente formigas. Assim, em se tratando de alimentação coletiva, a proporção 1:1 (açúcar e água) deve ser rigorosamente controlada. Quando foram utilizadas concentrações mais elevadas (2:1, por exemplo), o número de abelhas caídas pelo chão foi muito alto e a demora para esvasiarem o alimentador foi triplicada. O ideal é o fornecimento de xarope mais diluído em curtos períodos para suprir a carência energética das colônias quando o néctar floral está escasso no campo.

Após o condicionamento ter sido estabelecido para a maioria das colônias (3 a 4 dias), em 3 minutos o alimentador está repleto de abelhas e 100 ml serão consumidos em 15 minutos para 30 colônias com notas entre 4,5 e 6,5.

Nestas condições, o alimentador coletivo é a melhor opção para o fornecimento de suplemento energético às abelhas. Desde que sejam seguidas as instruções aqui propostas.

Por falhas ou desatenção do meliponicultor, esta forma de alimentação poderá se transformar numa grande perda de campeiras por saques de abelhas de outras espécies ou mesmo por ataques de predadores (formigas). Quando o alimentador é muito pequeno ocorrem brigas entre as coletoras e muitas abelhas morrem, já que, ao se atracarem não mais se soltam, ficando assim até a morte.

### 4.8.2. Alimentação Protéica

A alimentação proteica deve ser com o fornecimento de pólen retirado de colônias fortes e ministrado *in natura* de acordo com a necessidade da colônia a ser alimentada. Sempre que preciso, adicionar um pote de pólen fechado àquelas colônias que se apresentem sem este alimento. Caso o fornecimento deste alimento seja em recipientes artificiais deve-se ter o cuidado de não apresentar mais de um orifício além daquele que deve ser deixado para entrada das operárias.

As quantidades de pólen e Xarope-A ministradas deverão ser adequadas ao número de abelhas da colônia, ou à sua nota, e às condições climáticas e de floradas da época. Observando que colônias em bom estado raramente necessitam de alimentação extra, salvo em condições de frio e chuvas intensas.

O suprimento de pólen *in natura* deve ser internamente e em potes artificiais, caso não se disponha de potes naturais. Para mandacaria ainda não foi

possível sucesso no fornecimento de pólen em alimentadores coletivos, visto que as abelhas não estão adaptadas à coleta deste material no alimentador, ou seja, fora do estame floral. Este treinamento pode ser conseguido, pois com abelhas da espécie *Melipona scutellaris* Lep., no Meliponário-K em Uberlândia, MG, W.E. KERR pratica com sucesso esta forma de alimentação coletiva. As uruçus estão mais domesticadas que as mandaçaias, talvez seja este o motivo de terem se adaptado melhor às condições de coleta do pólen em alimentador coletivo.

O tamanho dos potes artificiais de cera de abelhas africanizadas deve seguir as medidas específicas para cada espécie de melipona estudada. Quando maiores ou menores que o padrão utilizado pela espécie, os potes de cera são destruídos pelas operárias e a cera é reutilizada para outras atividades dentro da colônia como a construção do invólucro de crias.

Experimentos realizados com pólen de *Apis* moído em liquidificador (pó) e granulado, tal como é retirado das corbículas (bolotas), por meio de coletores de pólen, demonstraram que este alimento deve ser fornecido em potes naturais que estejam vazios dentro da colônia dos meliponíneos. Aqueles potes que foram preenchidos por pólen em bolotas e a uma quantidade não maior que 1/3 do volume do pote, apresentaram aproveitamento de 100% pelas abelhas. Em 24 horas este pólen já está compactado e umedecido pelas secreções salivares das operárias, o que promove o início do processo de fermentação deste alimento. Quando o pólen foi adicionado em maiores quantidades, as abelhas demonstraram dificuldades na sua manipulação e a compactação e umedecimento tornaram-se prejudicados, ficando o alimento por vários dias no pote sem que esteja sofrendo fermentação ou qualquer manipulação por parte das operárias. Por isso, sempre fornecer de forma a respeitar a quantidade aqui relatada.

O excesso de pólen atrai muitos forídeos, que ao conseguirem realizar postura dentro da colônia podem eliminá-la em poucos dias por morte de crias e contaminação de toda a reserva de alimento. Dependendo da intensidade da infestação, as colônias com forídeos devem ser totalmente desmontadas e transferidos apenas os favos de crias claros junto com as abelhas para outra colméia limpa. Não devem ser transferidos os potes de pólen, mesmo estes estando fechados. Este alimento deverá ser fornecido gradativamente à recuperação da colônia afetada. O excesso deve ser armazenado em recipiente fechado a 8°C até o seu reaproveitamento.

Resumo das conclusões obtidas com os experimentos realizados com alimentação artificial (Xarope-A e pólen natural da espécie):

1) A composição do alimento ministrado às colônias demonstrou ser satisfatória quanto à nutrição e à palatabilidade para *Melipona quadrifasciata* Lep. Não houve mortalidade de crias, o tamanho e a quantidade de abelhas nascidas

## 63

foram normais e as rainhas acasaladas em laboratório apresentaram postura e desenvolvimento abdominal normais.

2) O pólen *in natura* fornecido em potes fechados não demonstrou inconvenientes ao exceder a quantidade assimilável para a colônia. Este alimento não deve ser fornecido em potes abertos ou furados se estiver fermentado, em forma pastosa. Quando isto foi feito, houve infestação por forídeos nas colméias. O pólen sendo fornecido em bolotas, não fermentado e a uma quantidade não maior que 1/3 do volume do pote natural da espécie foi bem aceito e trabalhado pelas operárias. Quando o pote natural é preenchido além de 1/3 de seu volume total houve acúmulo e sobra de pólen não trabalhado pelas operárias.

3) Existindo apiários na região do meliponário a forma de alimentação internamente às colônias foi a mais indicada, devido à competição com abelhas africanizadas quando ensaios foram realizados utilizando alimentadores coletivos com XAROPE A. Em regiões onde não há a presença de enxames de abelhas africanizadas, a alimentação coletiva pode ser empregada sem dificuldades.

4) Em colônias novas, ou seja, recém formadas (notas entre 1,0 e 3,8), durante o fornecimento do XAROPE-A nos dias entre as revisões e pesagens para atribuição de notas,

deverão ser retirados os excessos de lixo acumulado nas lixeiras pelo trabalho das abelhas faxineiras e observada a presença de forídeos, formigas, enfim, todos os cuidados de manejo referentes à manutenção do bom estado geral da colônia (higiene).

Novos experimentos estão sendo realizados no sentido de condicionar campeiras de mandaçaias a coletarem pólen em alimentador coletivo. Misturando-se o pólen moído em liqüidificador com 5% de canela em pó e 5% de açúcar (PCA) pode-se conseguir um resultado positivo (AIDAR, 1996a).

#### **4.9. Observações Gerais**

Durante as revisões das colméias a fita adesiva utilizada para a fixação da tampa e para a vedação de frestas entre as gavetas, principalmente aquelas entre a tampa e a gaveta superior, deve ser trocada quando estiver ressecada ou sem aderência. Normalmente, uma mesma fita de 25 mm de largura dura de 10 a 20 dias, duas ou três revisões, mais ou menos.

Inimigos naturais como aranhas, formigas, forídeos, entre outros, devem ser observados diariamente e removidos das proximidades da colméia. Ensaios com predadores de forídeos, pequenas aranhas domésticas, por exemplo, estão sendo executados para um melhor controle deste predador nas colméias mais infestadas.

O sol direto na parede das colméias também deve ser evitado com o auxílio de telhas de cimento amianto e pedaços de madeira de acordo com a

64

disponibilidade, bem como controlar a disposição da colméia em relação ao sol de forma a ficar com o orifício de entrada voltado para a direção do nascente (FRISCH, 1934, 1958 e 1984; WIESE, 1986).

## **5. ACOMPANHAMENTO ESTATÍSTICO DAS COLÔNIAS FORMADAS**

### **5.1. Avaliação e Coleta dos Dados**

As descrições que se seguem referem-se aos experimentos realizados para a realização do trabalho de tese na Universidade Federal de Viçosa, MG, mais os comentários que couberam para um melhor esclarecimento prático ao meliponicultor.

Foram atribuídas notas variando de 1,0 a 10,0 para cada colônia, segundo NOGUEIRA-NETO (1946), KERR (1987) mais as modificações apresentadas por AIDAR (1995b).

A avaliação das colônias em crescimento foi executada baseando-se nos principais elementos: ganho de peso; número de campeiras; altura do invólucro de crias; tamanho da entrada da colméia; quantidade de resina coletada e depositada na colméia; tamanho e quantidade de favos de crias; quantidade de potes de mel e potes de pólen; organização geral das abelhas, como a definição do local da lixeira e o agrupamento de operárias na região de crias e a postura da rainha.

A postura da rainha fisogástrica foi abordada como parâmetro para a avaliação geral das colônias em formação, mas o número de ovos postos por dia foi estimado sem uma avaliação e contagem diária. A postura foi analisada apenas durante as revisões para não interferir no crescimento das colônias, o que aconteceria se as colocássemos em colméias de observação de menor tamanho que aquelas utilizadas para criação no campo e as revisássemos diariamente para observações mais detalhadas, contando o número de células construídas para postura.

A partir da observação direta dos elementos, no momento de cada revisão, foram atribuídas notas parciais a cada um deles e a somatória «destas forneceu a nota geral da colônia (Tabela 4). O intento de se atribuírem notas a elementos distintos, componentes normais de uma colônia de *Melipona quadrifasciata* Lep. para se obter a nota geral por somatória das notas destes elementos, foi testado pela primeira vez neste trabalho com o objetivo de padronizar um método para avaliação

numérica mais detalhada das colônias com precisão e desenvolver técnicas para um melhor entendimento entre os pesquisadores da área. Desta forma, poderemos receber informações mais

objetivas a respeito de dados provenientes de longas distâncias, como por exemplo, a nota exata de uma colônia e de seus elementos componentes antes e depois de ser transportada. Esta colônia seria novamente avaliada, seguindo os mesmos critérios adotados antes do transporte e comparados os valores no sentido de inferir possíveis prejuízos ou enfraquecimento da colônia em decorrência do transporte. Sugerimos estes dados como parte das "ferramentas" que poderão ser empregadas na meliponicultura racional.

As pesagens executadas com auxílio de Balança Filizola e as revisões para a atribuição de notas e coleta dos dados, foram executadas de 10 em 10 dias para todas as colônias. Este período foi o menos prejudicial para o bom desempenho das colônias em crescimento, sem que o observador perdesse o controle dos dados para as futuras análises estatísticas dos métodos de multiplicação artificial estudados. Quanto maior a precisão da balança, tanto melhores os resultados das análises. O peso de uma colônia não deve ser o único elemento a ser avaliado para a inferência de uma nota geral, principalmente em espécies de meliponíneos que coletam barro para a construção da entrada da colméia e para a vedação de frestas internas. Isto foi bastante evidente pela análise do gráfico de desempenho da colônia 4 do Método 1, por exemplo (Figura 11).

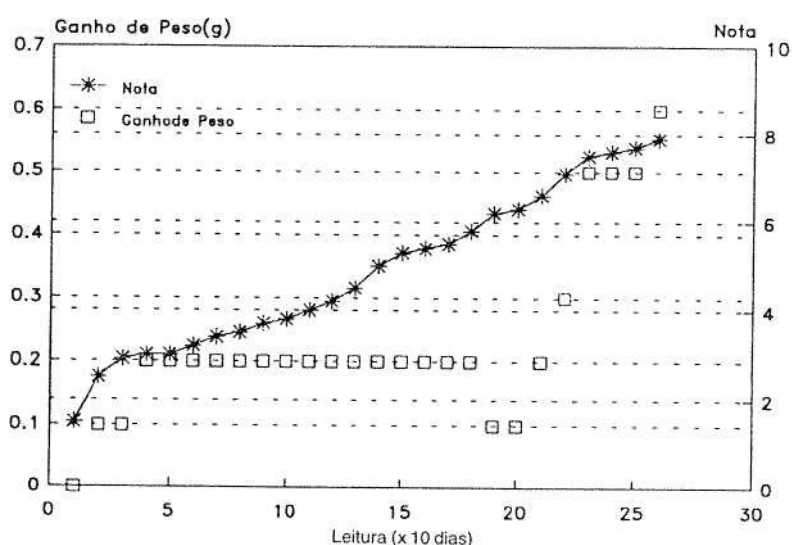


Figura 11. Variação da Nota e Peso da colônia 4 do Método 1 de acordo com a leitura, formada em 3/3/93; demonstrando que o peso permanece constante enquanto a nota cresce.

67

## 5.2. Análise dos Resultados

Os dados das colônias foram coletados até que elas adquirissem nota 7,0. Após este estágio as colônias foram excluídas das observações e não mais forneceram dados que estão nas tabelas e gráficos aqui apresentados. Com esta nota, as colônias apresentam-se fortes e em condições de serem divididas (NOGUEIRA-NETO, 1948 e 1970; KERR, 1987) ou de fornecerem elementos para outros trabalhos (AIDAR, 1995b).

O número de colônias formadas e o número de sucessos para cada método estudado foram relacionados percentualmente e estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Relação do número de colônias iniciadas e terminadas com nota 7,0, de acordo com os respectivos métodos.

Método	Nº colônias formadas	Nº colônias terminadas (notas 7,0)	Resultado (%)
1	6	5	83,33
2	4	4	100,00
3	7	5	71,43
Total	17	14	82,35

As colônias que não se desenvolveram apresentaram problemas como ataque por forídeos, morte da rainha fisogástrica sem reposição desta e insucesso no acasalamento controlado (CAMARGO, 1976). Algumas rainhas acasaladas no laboratório não desenvolveram abdômen e a colônia foi desmembrada para utilização de seus elementos em outros experimentos. Este procedimento foi necessário para uma melhor padronização das colônias formadas artificialmente com relação às suas notas iniciais.

Os métodos foram avaliados considerando o tempo em que cada um levou para que a colônia chegasse à nota 7,0 e a complexidade de manejo para a formação destas colônias. Incluindo a quantidade e tipo de material exigido por cada um deles. Procurou-se determinar a eficiência de cada método para aumentar a população geneticamente ativa de *Melipona quadrifasciata* Lep. no meliponário.

Inicialmente, utilizou-se de análise de variância para comparar os métodos quanto ao tempo médio (número de dias) até atingir nota 7,0. Em seguida, por meio de representações gráficas, foram observadas as diferenças entre os

67

métodos quanto ao comportamento das taxas de crescimento da nota. Ajustaram-se então, por análises de regressão, as notas de cada um em 3 modelos lineares simples que foram comparados entre si por meio de análises gráficas e de covariância.

### 5.3. Correlação Nota e Peso

O estudo de correlação entre as variáveis nota e peso revelou uma correlação positiva e estatisticamente significativa nos 3 métodos estudados:  $r_1=0,74$ ;  $r_2=0,72$  e  $r_3=0,87$  (Tabela 6), porém em algumas colônias houve crescimento acentuado da nota enquanto que o peso manteve-se o mesmo. Desta forma, o peso só é representativo quando avaliamos muitas colônias de uma só vez para observar o desempenho do conjunto; para avaliação individual de colônias de meliponíneos é recomendado um critério rígido abrangendo todos os elementos que a compõem e não só a variação de peso.

Tabela 6. Coeficiente de correlação  $\gamma$  entre as variáveis nota e ganho de peso por método e geral.

Método	$\gamma$
1	0,74
2	0,72
3	0,87
Geral	0,76

Todas as correlações foram significativas ao nível  $p$  1%, onde  $p$  é a probabilidade de se rejeitar a hipótese de que não há correlação, sendo ela verdadeira.

Neste caso, considerando os níveis de variação do ganho de peso e nota e a alta correlação entre as duas variáveis, as análises foram feitas baseando-se somente na nota. O nível de variação do ganho de peso das colônias foi muito mais elevado que o nível de variação do ganho de nota.

### 5.4. Comportamento das Colônias de acordo com as Variáveis Peso e Nota

Nas Figuras 12 e 13 verifica-se que a nota apresenta um comportamento mais homogêneo e linear do que o ganho de peso com relação às leituras e a variabilidade deste último aumenta com o tempo.

Mesmo com a evidência de relação positiva entre a nota e o peso (Figura 14), colônias são

observadas em desenvolvimento com peso constante durante

68

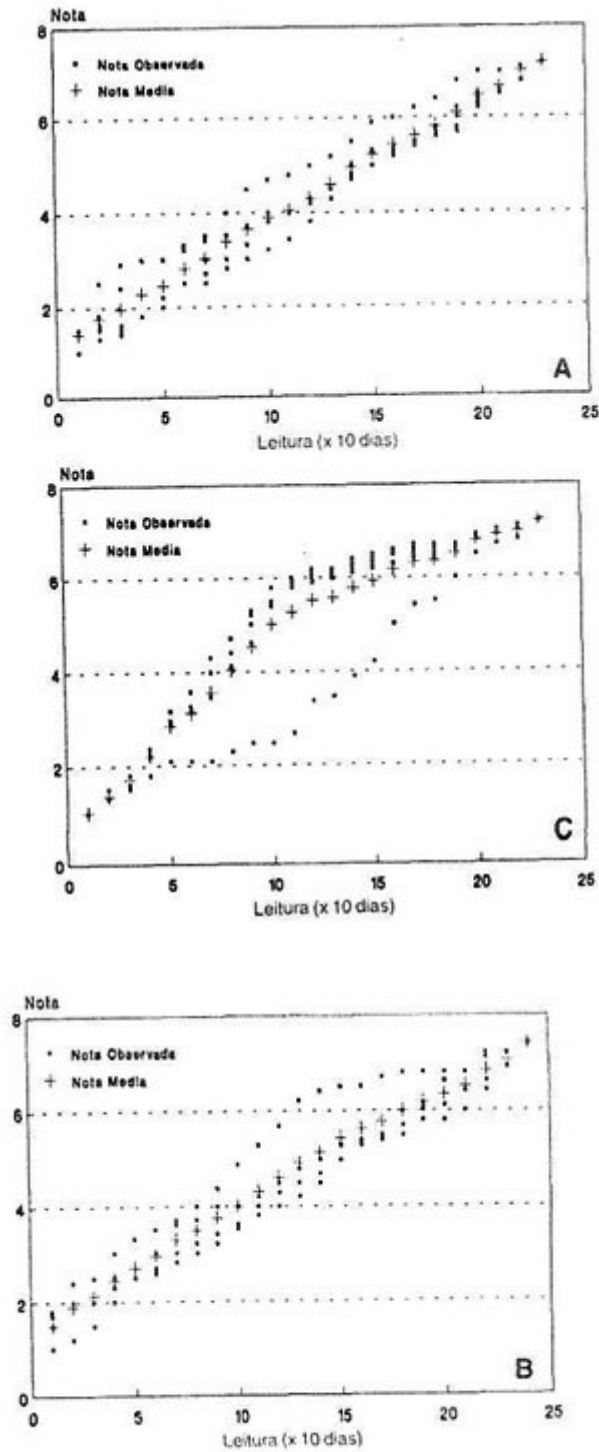


Figura 12: (A) – Notas observadas para cada colônia formada e média das notas das colônias em cada leitura; Método 1. (B) – Notas observadas para cada colônia formada e média das notas das colônias em cada leitura; Método 2. (C) – Notas observadas para cada colônia formada e média das notas das colônias para cada leitura; Método 3.

69

Figura 12. (A) Notas observadas para cada colônia formada e média das notas das colônias em cada leitura; Método 1. (B) Notas observadas para cada colônia formada e média das notas das colônias em cada leitura; Método 2. (C) Notas observadas para cada colônia formada e média das notas das colônias em cada leitura; Método 3.



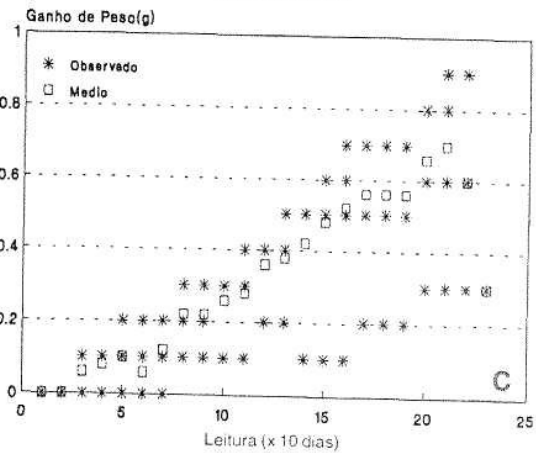
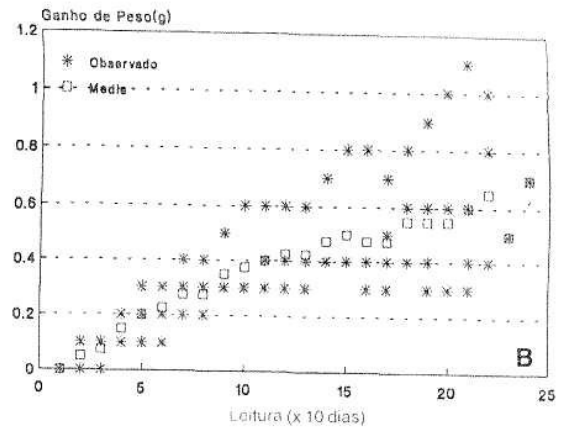
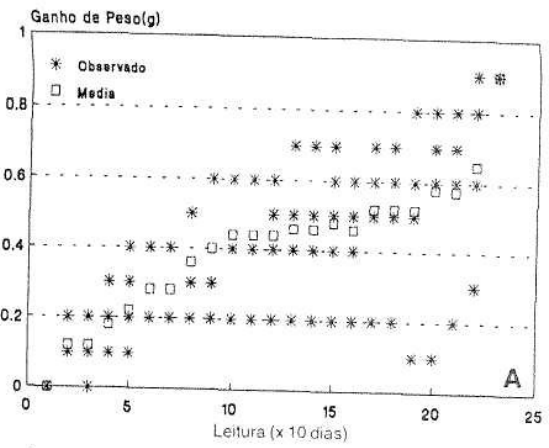
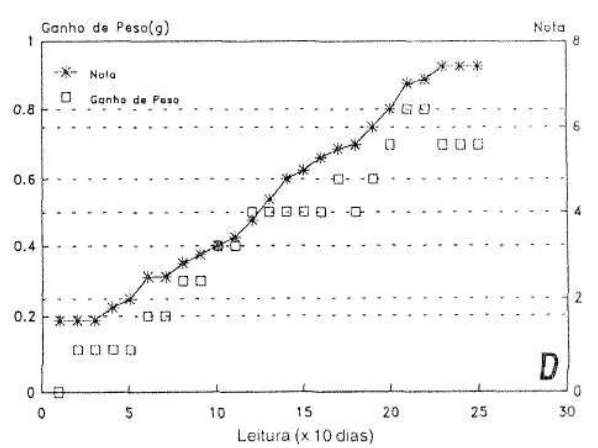
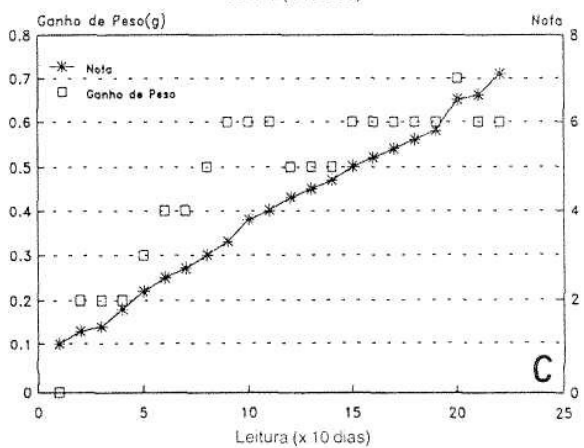
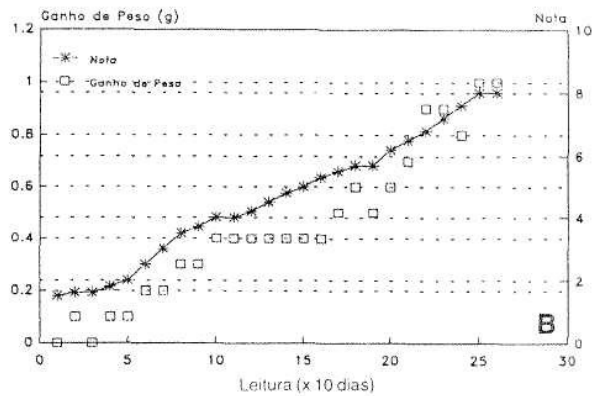
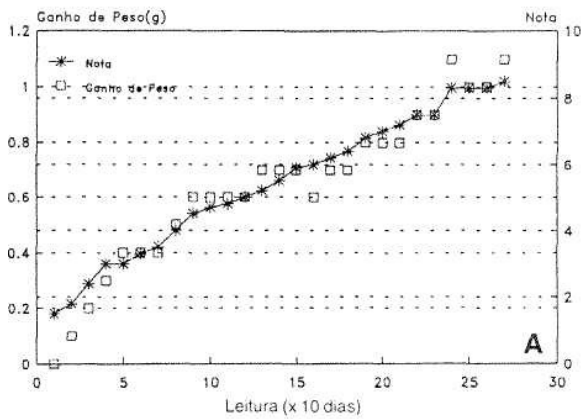
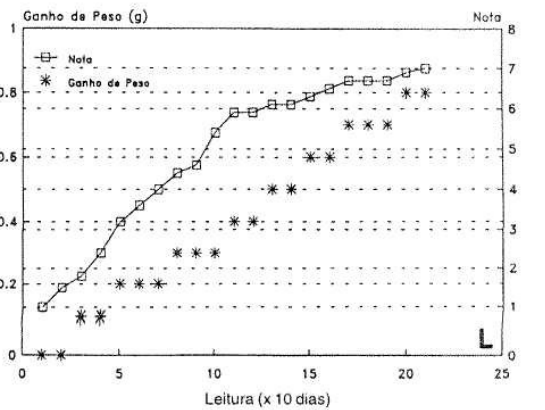
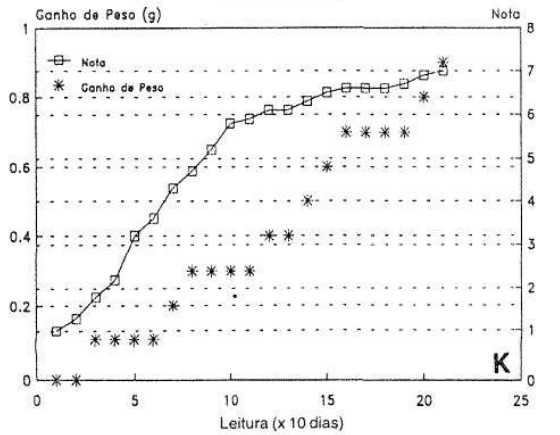
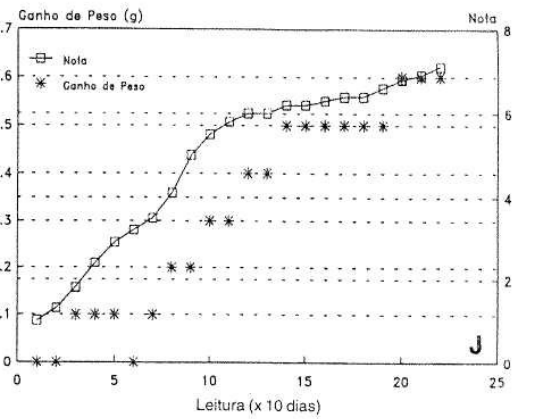
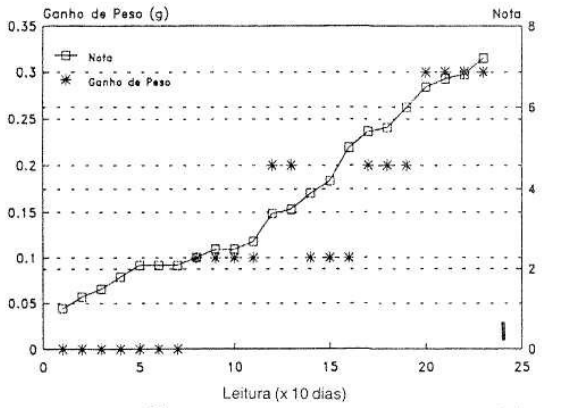
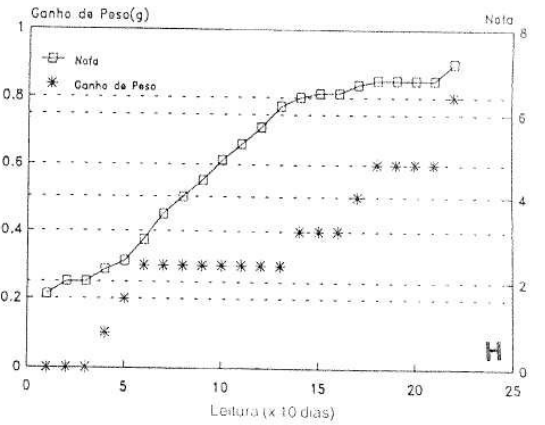
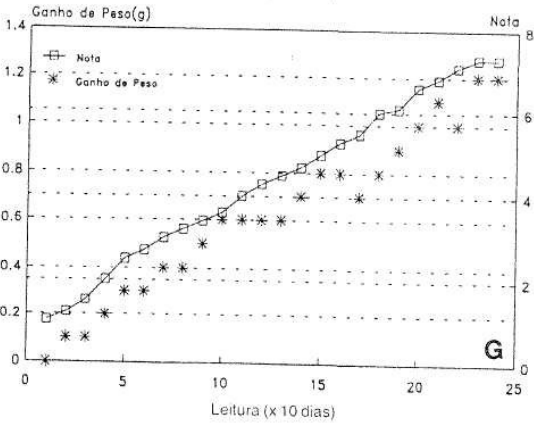
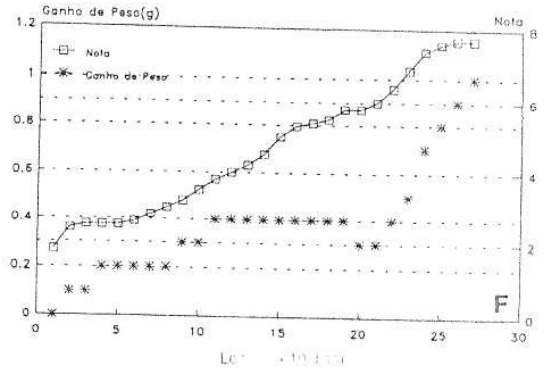
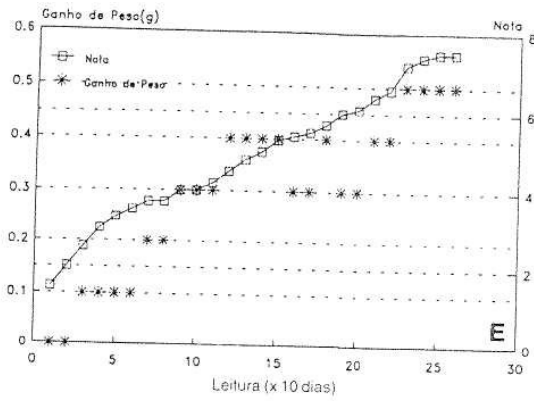


Figura 13. (A) Ganho de peso acumulado observado e média; Método 1. (B) Ganho de peso acumulado observado e média; Método 2. (C) Ganho de peso acumulado observado e média; Método 3.







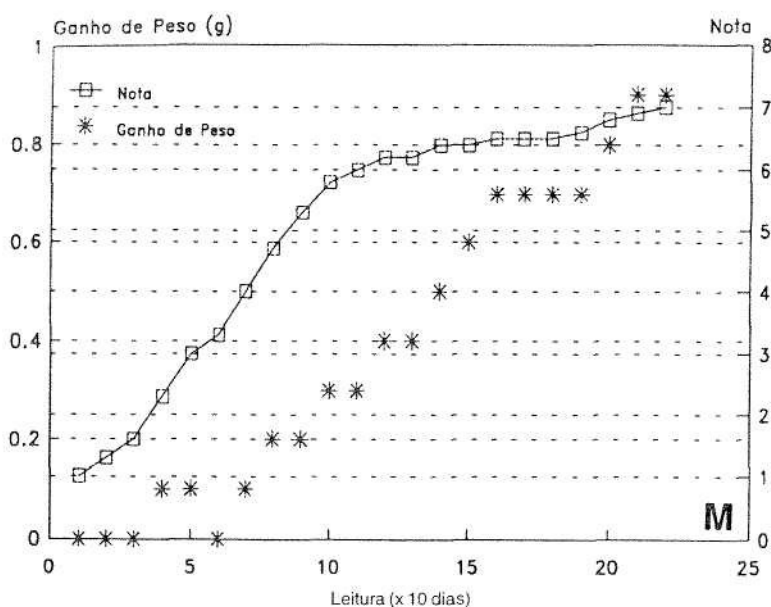


Figura 14. (A) Variação de peso e nota; colônia 1, método 1, formada em 23/2/93. (B) Variação de peso e nota; colônia 6, método 1, formada em 5/3/93. (C) Variação de peso e nota; colônia 9, método 1, formada em 4/4/93. (D) Variação de peso e nota; colônia 10, método 1, formada em 15/3/93. (E) Variação de peso e nota; colônia 3, método 2, formada em 5/3/93. (F) Variação de peso e nota; colônia 5, método 2, formada em 23/3/93. (G) Variação de peso e nota; colônia 8, método 2, formada em 25/3/93. (H) Variação de peso e nota; colônia 15, método 2, formada em 12/8/93. (I) Variação de peso e nota; colônia 13, método 3, formada em 24/5/93. (J) Variação de peso e nota; colônia 16, método 3, formada em 14/8/93. (K) Variação de peso e nota; colônia 17, método 3, formada em 16/8/93. (L) Variação de peso e nota; colônia 18, método 3, formada em 16/8/93. (M) Variação de peso e nota; colônia 19, método 3, formada em 16/8/93. (A colônia 4 do Método 1 está representada pela Figura 14).

um certo período, isto pode ser observado na Figura 11, Colônia 4, até a 20ª leitura. Demonstrando que a variável peso, por si só, não fornece indicações precisas a respeito do estado geral da colônia.

O aumento da deposição de geoprópolis dentro da colmeia (Figura 15), por exemplo, pode aumentar o seu peso mesmo estando sem rainha fisogástrica e conseqüentemente, sem postura e queda na quantidade de favos de crias. Neste caso, o peso da colônia aumentaria, mas a nota geral avaliada, seguindo a metodologia proposta neste estudo, estaria em declínio. Por outro lado, caso não haja disponibilidade de alimento no campo as abelhas são obrigadas a utilizarem o alimento armazenado nos potes para obterem energia durante a construção de favos e nutrição da rainha. Isto faz com que o peso da colônia não varie durante um certo período de tempo. A nota geral da colônia pode estar estabilizada ou

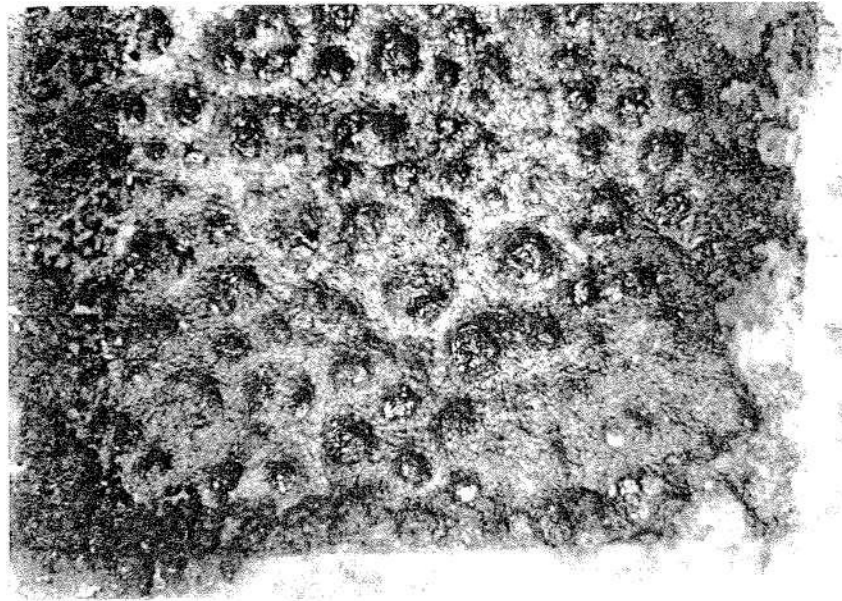


Figura 15. Vista interna da tampa de colméia de *Melipona capixaba* Moure e Camargo recoberta por camada espessa de geoprópolis (Foto D.S. AIDAR).

até mesmo em ascensão devido ao aumento do número de crias e favos. Portanto, devemos levar em consideração outros elementos que compõem uma colônia de meliponíneo para inferirmos uma nota geral, além do peso.

O aumento da variação do ganho de peso em relação à variação da nota, a medida que a colônia cresce em nota ao longo do tempo, ficou evidente nos gráficos apresentados. Este fato foi observado até onde foram coletados os dados, ou seja, colônias em fase de desenvolvimento (notas variando de 1,0 a 7,0), pois em colônias já estabelecidas, esta variável pode decrescer, crescer ou oscilar, conforme haja disponibilidade de alimento no campo. Além disso, as condições climáticas, sendo favoráveis ou desfavoráveis ao forrageamento, podem interferir no peso da colônia (NOGUEIRA-NETO, 1970; BARROS & KROGH, 1990; KERR, 1987 e COUTO, 1993).

### **5.5. Comparação entre os Métodos com Relação ao Desenvolvimento das Colônias**

Posteriormente, foram elaboradas análises mais detalhadas relacionadas ao desenvolvimento das colônias, considerando todas as leituras efetuadas. Foi empregada regressão linear simples para se obterem dados mais precisos.

75

#### **5.5.1. Tempo Médio até Atingir Nota 7,0**

A Figura 16 apresenta o número médio de dias para que as colônias chegassem à nota 7,0, de acordo com a leitura específica no gráfico. No método 2 as colméias levaram em média, 11 e 9 dias a mais do que no método 1 e 3, respectivamente. As diferenças observadas não são significativas, de acordo com o Teste F de análise de variância (Tabela 7).

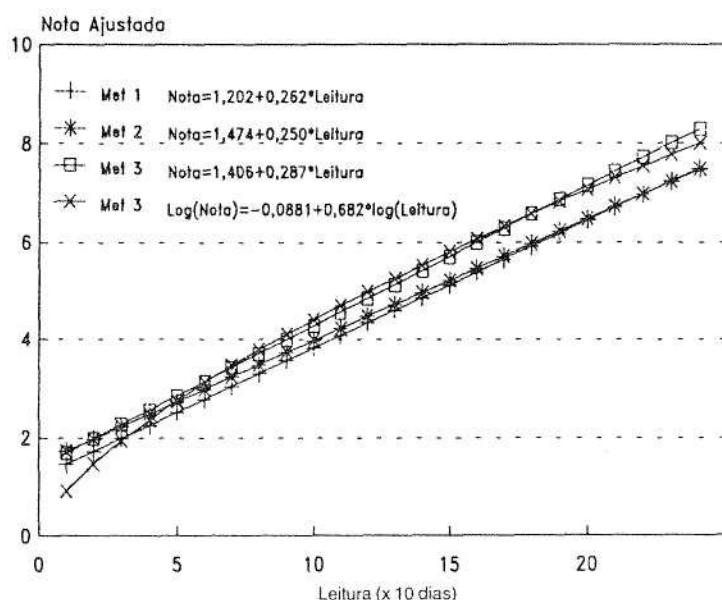


Figura 16. Notas ajustadas das colônias dos três métodos pelos modelos lineares e modelos matemáticos (item 5.5.2) que representam o desenvolvimento das colônias dos 3 métodos estudados.

Tabela 7. Médias, valores máximos e mínimos e Teste F do tempo médio para as colônias atingirem nota 7,0.

Método	Mínimo	Média	Máximo	Valor F	Nível de significância P
1	200	216	230	1,66	0,234
2	220	227	240		
3	210	218	230		
X	210	220,3	233,33		

76

De acordo com as análises de regressão linear e com a metodologia utilizada, a fase inicial do método 3 é diferenciada dos outros dois métodos. A colônia permanece por um período inicial de mais ou menos 30 dias sob os cuidados de laboratório, em estufa, antes de ser aberta no campo. Prática que não foi adotada nos outros métodos, nos quais as colônias possuíam campeiras com idade ideal para forrageamento e, portanto, possibilidade de se estabelecerem fora do laboratório logo que formada.

As porcentagens de colônias formadas e de colônias que chegaram à nota 7,0 para cada método foram 83,33%, 100% e 71,43% para os métodos 1, 2 e 3, respectivamente. O método 3 demonstrou ser menos eficiente quanto ao número de colônias formadas. Isto pode estar relacionado à complexidade da manipulação inicial durante a formação das colônias neste método (modificações a partir de CAMARGO, 1976). A simplicidade de manejo no método 2 proporcionou 100% de sucesso, além de não apresentar problemas com o acasalamento controlado e aceitação de rainha fisogástrica introduzida para a formação da nova colônia. Isto não ocorre nos métodos 1 e 3, porque as rainhas das colônias destes dois métodos não foram acasaladas naturalmente no campo como no método 2. Foram coletadas rainhas fisogástricas das matrizes e outras foram acasaladas em laboratórios, respectivamente para os métodos 1 e 3. Este acasalamento natural só ocorre quando uma rainha virgem, nascida dentro da própria colônia, é aceita pelas operárias. Assim, o vôo nupcial é realizado após esta aceitação e o desenvolvimento fisogástrico da rainha recém acasalada ocorre normalmente sem que a rainha não seja aceita pelas operárias, pois já fora aceita antes do vôo nupcial.

Estas análises só devem ser consideradas como comparação entre métodos e o número de colônias formadas. Deve ser lembrado que os processos biológicos e genéticos da população geneticamente ativa do meliponário estão associados ao "efeito Yokoima e Nei" que, de acordo com KEER & VENCOVSKY (1982), a heterogeneidade da população de meliponíneos é o principal fator relacionado à sobrevivência dessas espécies.

### 5.5.2. Ajuste de Modelos que Representam o Comportamento Médio das Notas com o Tempo

Para comparar os métodos com relação ao desenvolvimento das colônias durante o tempo, foram feitas análises de regressões lineares, separadamente para cada método.

O estudo de cada método foi subsidiado por ajustes de quadrados mínimos que forneceram modelos matemáticos representativos e específicos do método estudado. Desta forma, pode-se definir a variação da nota num determinado período de tempo, bem como estimar o tempo médio gasto por método para a colônia chegar à nota 7,0.

77

Inicialmente, ajustou-se o modelo linear  $y = a + bx$  ( $y =$  nota;  $x =$  leitura), verificando-se bom ajuste para os dois primeiros métodos. O método 3 apresentou comportamento diferente do linear.

Deve ser salientado aqui que, como as colônias não são independentes de uma leitura para outra (suposição básica para reavaliação dos testes estatísticos na análise de regressão), não foram elaborados nenhuma comparação a nível de significância, mas sim de caráter exploratório.

#### 5.5.2.1. Método 1

Neste caso, o modelo estimado foi:

$$y = 1,202 + 0,262 x_i \text{ ou } \text{Nota} = 1,202 + 0,262 X \text{ Leitura}$$

Considerando o início dos experimentos, ou das repetições, ou seja. Leitura = 0, temos que, a nota é estimada em  $a = 1,202$ , ou então que, para se chegar à nota 7,0, o modelo estima que o método 1 levará em média:

$$7,0 = 1,202 + 0,262 X \text{ Leitura} \quad \text{Leitura} = (7,0 - 1,202) / 0,262 = 22,13 \text{ ou } 221,3 \text{ dias}$$

O coeficiente  $b = 0,262$ , também chamado de coeficiente de inclinação da reta, mostra que a cada leitura ou a cada 10 dias as colônias do método 1 tiveram uma variação da nota igual a 0,262 vezes.

O coeficiente de determinação  $R^2$  que indica a porcentagem da variabilidade dos dados, que é explicada pelo modelo, ou regressão, é dado por:

$$R_2 = \text{SQ}_{\text{REG}} / \text{SQ}_{\text{TOT}} \times 100 = 300,026 / 316,650 \times 100 = 94,75\%$$

Pela análise dos resíduos ( $r_1 = \text{nota} - y$ ), não se verifica falta de linearidade do ajuste. Como pode ser observado pela Figura 17, estes se distribuem aleatoriamente em torno do zero. Por outro lado, verificou-se forte correlação entre os resíduos de até 10 leituras subseqüentes (Tabela 8), confirmando a não independência entre as notas de cada leitura.

#### 5.5.2.2. Método 2

As colônias do método 2 levaram em média  $22,10 \times 10 = 221$  dias para chegarem à nota 7,0. Com  $R^2 = 91,65\%$ ,  $a = 1,474$  e  $b = 0,250$ .

Neste caso, as colônias tiveram uma variação na nota igual a 0,250 vezes a cada 10 dias, pouco menor que no método 1, que foi de 0,262, levando a uma diferença mínima de 0,3 dias para chegar à nota 7,0 entre os dois métodos.

78

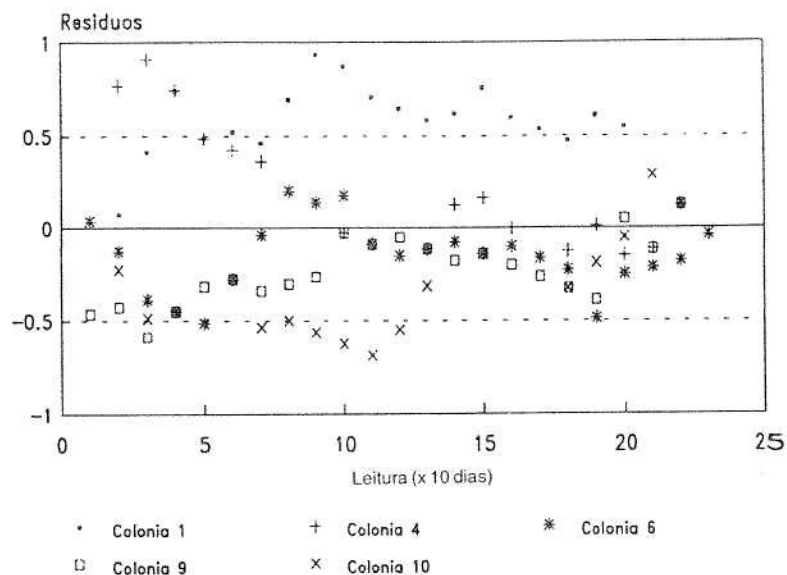


Figura 17. Resíduos do modelo linear; método 1.

Analisando as Figuras 14E, 14F, 14G e 14H, referentes à variação do peso e nota das colônias do método 2, observa-se um comportamento homogêneo e linear com respeito à nota, com exceção da colônia 15 do método 2 (Figura 14H). Esta se destacou das demais apresentando aumento rápido da nota até a 11ª leitura (110 dias), diminuindo o ritmo entre as leituras 12 e 20.

Esta diferença entre os comportamentos fica evidente também na Figura 18, onde os resíduos referentes à colônia 15 revela falta de linearidade.

Um fator que pode estar interferindo nestas diferenças é a época de montagem das colônias do método 2. As colônias 3, 5 e 8 foram iniciadas entre fevereiro e março (no outono) finalizando no início da primavera, final de setembro. A colônia 15 foi iniciada em 12 de agosto com a 11ª leitura efetuada entre novembro e dezembro, início do verão. Este assunto será melhor detalhado no item 5.7.

### 5.5.2.3. Método 3

O modelo matemático ajustado para o método 3 é menos eficiente que os demais com  $R^2 = 82,05$  e parâmetros  $a = 1,406$  e  $b = 0,287$ . Pela função  $Mota = 1,406 + 0,287 \times Leitura$ , o tempo para uma colônia chegar à nota 7,0 é de 195 dias.

79



Tabela 8. Correlação entre os resíduos e as leituras subsequentes do modelo ajustado para o Método I.

Leitura (x 10 dias)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1	1,00	0,91	0,81	0,74	0,72	0,71	0,67	0,63	0,57	0,51	0,50	0,49	0,49	0,45	0,41	0,44	0,39	0,19	0,03
2		1,00	0,91	0,81	0,75	0,73	0,71	0,67	0,62	0,56	0,50	0,49	0,48	0,48	0,46	0,41	0,44	0,30	0,12
3			1,00	0,91	0,82	0,75	0,73	0,70	0,66	0,61	0,55	0,50	0,49	0,49	0,51	0,48	0,44	0,39	0,32
4				1,00	0,92	0,82	0,75	0,72	0,70	0,66	0,60	0,54	0,48	0,47	0,49	0,52	0,49	0,41	0,39
5					1,00	0,92	0,81	0,74	0,72	0,69	0,65	0,50	0,51	0,45	0,44	0,46	0,49	0,42	0,32
6						1,00	0,92	0,82	0,79	0,71	0,68	0,63	0,55	0,48	0,43	0,42	0,45	0,45	0,35
7							1,00	0,92	0,81	0,73	0,70	0,66	0,60	0,52	0,46	0,40	0,39	0,37	0,42
8								1,00	0,91	0,81	0,72	0,69	0,65	0,50	0,51	0,43	0,36	0,29	0,28
9									1,00	0,91	0,80	0,72	0,68	0,63	0,57	0,48	0,39	0,26	0,16
10										1,00	0,91	0,81	0,72	0,67	0,63	0,55	0,48	0,30	0,15
11											1,00	0,91	0,80	0,70	0,66	0,65	0,53	0,39	0,23
12												1,00	0,90	0,70	0,69	0,64	0,60	0,47	0,32
13													1,00	0,89	0,77	0,67	0,63	0,55	0,40
14														1,00	0,89	0,76	0,65	0,59	0,50
15															1,00	0,88	0,74	0,63	0,55
16																1,00	0,82	0,72	0,58
17																	1,00	0,87	0,69
18																		1,00	0,87
19																			1,00

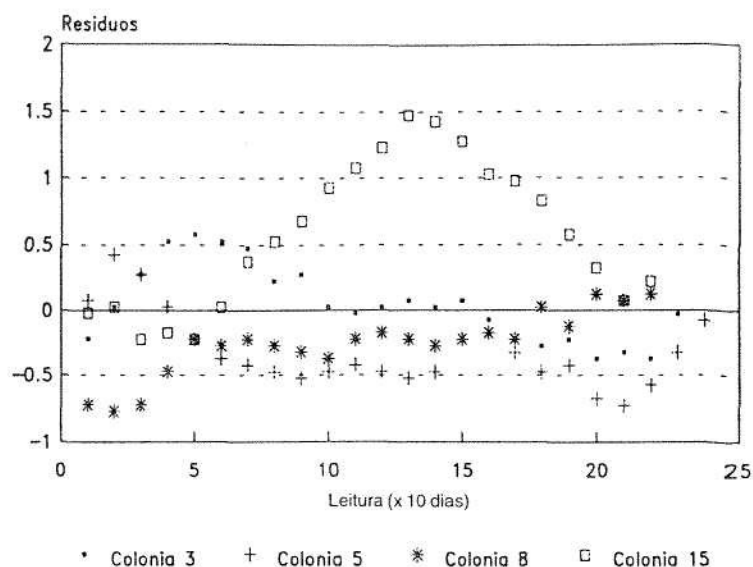


Figura 18. Resíduos do modelo linear; método 2.

Representando em média 26 dias a menos que as colônias dos dois outros métodos.

Neste caso, observando o item referente à metodologia empregada para formação das colônias, notamos que este método exige maiores cuidados iniciais de manejo e de acasalamento confinado, demonstrando que se pode obter colônias em condições de serem divididas (nota 7,0) em menor tempo que aquele representado pelos métodos 1 e 2, mas por outro lado, exige técnica mais apurada, bem como equipamentos mais sofisticados tais como estufa e lupa, por exemplo e domínio completo sobre as técnicas de acasalamento controlado em laboratório com *Melipona quadrifasciata*.

Outro fator importante deste método é poder controlar os acasalamentos segundo a origem das fêmeas e dos machos, conseguindo um controle genético preciso dos descendentes. O que proporciona condições para os estudos de genética, podendo evitar a consangüinidade e conseqüente perda de colônias por nascimento de machos diploides quando a rainha acasala com parente.

Neste método, as notas iniciais foram aquelas referentes à data da primeira leitura e não ao período inicial de desenvolvimento ovariano das rainhas recém acasaladas em laboratório, no qual as operárias mais a rainha acasalada permaneceram mais ou menos 30 dias em estufa à 28 - 30°C. Após este tempo e o completo desenvolvimento fisogástrico da rainha, o grupo de abelhas

## 81

passou a ser denominado "colônia" como nos outros métodos. Se considerarmos este período, o tempo necessário para se obter uma colônia com nota 7,0 será aproximadamente o mesmo nos três casos (método 1, 2 e 3).

Neste caso, o ajuste linear não foi o mais adequado. Os resíduos apresentaram comportamento tendencioso com relação ao tempo (Figura 19). A colônia 13 destaca-se das demais, o que pode reforçar a hipótese da influência da época em que foi iniciada, ao contrário das outras colônias que tiveram suas leituras iniciadas em agosto e passaram pelo verão inteiro durante os seus desenvolvimentos, esta teve início em maio terminando em novembro. Nesta época, em Viçosa, MG, está compreendida a estação de inverno com temperaturas muito baixas.

### 5.5.3. Comparação Entre os Modelos Ajustados

Continuando as análises de regressão e considerando as semelhanças observadas entre os métodos 1 e 2, ajustou-se um quarto modelo, no qual os 2 métodos foram incluídos

simultaneamente:

$$\text{Nota} = a_1 + a_2 + b \times \text{Leitura}$$

Onde:  $a_1 = 1$  e  $a_2 = 0$ , para método 1;

$a_1 = 0$  e  $a_2 = 1$ , para método 2.

Resíduos

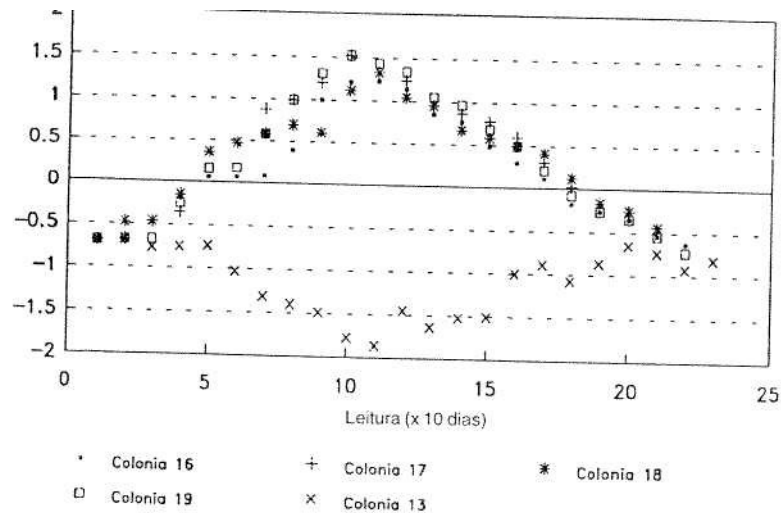


Figura 19. Resíduos do modelo linear; método 3.

82

Antes do ajuste do modelo foi verificado, por meio do teste de  $F = s_2^2/s_1^2$ , que as variâncias observadas dos 2 métodos ( $s_1^2$ ,  $s_2^2$ ) podem ser estimadas por um único valor:

$$s^2 = [(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2]/(n_1 + n_2 - 2)$$

pois  $F = 0,2531/0,1554 = 1,5$ ; com 89 e 107 graus de liberdade; não é significativo ao nível  $p = 5\%$ .

Após a verificação da homogeneidade das variâncias, o próximo passo foi ajustar o modelo 4 e avaliar as diferenças entre os métodos quanto aos coeficientes das regressões individuais. Os resultados estão na Tabela 9, onde os modelos (1), (2), (4) e (6) são respectivamente:

(1)  $\text{Nota} = a_1 + b_1 \times \text{Leitura}$  (método 1);

(2)  $\text{Nota} = a_2 + b_2 \times \text{Leitura}$  (método 2);

(4)  $\text{Nota} = a_1 + a_2 + b \times \text{Leitura}$  (b conjunto); (6)  $\text{Nota} = a + b + \text{Leitura}$  (a e b conjunto).

Temos um acréscimo na soma de quadrados dos resíduos; se considerarmos um b conjunto (modelo 4) é de:

$$39,4554 - 39,1458 = 0,3096;$$

Tabela 9. Análise de covariância entre os métodos 1 e 2.

Fonte	Modelo	Coeficientes		SQ <sub>resíduo</sub>	QM <sub>resíduo</sub>	GL <sub>resíduo</sub>
		a	b			
Método 1	(1)	1,202	0,2624	16,6241	0,1554	107
Método 2	(2)	1,474	0,2501	22,5217	0,2531	89
(1) + (2)	(3)			39,1458	0,4085	196
		$a_1 =$		39,1458	0,2013	196
		1,286				

<b>Conjunto (mesmo b)</b>	(4)	0,2566			
		$a_2 =$ 1,392	39,4554	0,2003	197
<b>(4) - (3)</b>	(5)		0,3096	0,3096	1
<b>Conjunto (mesmo a e b)</b>	(6)		40,281 9	0,2304	198
<b>(6) - (4)</b>	(7)		0,8265	0,8265	1

### 83

somente 1,538 maior que  $s_3^2 = 0,2013$  das regressões individuais. Este valor, considerando-se o teste F com 1 grau de liberdade, não é significativo a  $p = 0,05$ .

Portanto, supondo agora  $b_1$  e  $b_2$  iguais (modelo 4), resta verificar o acréscimo na soma de quadrados dos resíduos se  $a_1 = a_2$  (modelo 6). Neste caso temos:

$$F = 0,8265/0,2003 = 4,126 \text{ com 1 grau de liberdade, e } H_0: a_1 = a_2 \text{ é rejeitada ao nível } p = 5\%.$$

Temos evidências, então, de diferenças entre os métodos 1 e 2 se ajustarmos suas médias à variável tempo (Leitura). Assim, o Modelo 4 ajustado é:

$$\text{Nota} = 1,268 a_1 + 1,398 a_2 + 0,2566 \times \text{Leitura}$$

Então, para o método 1 temos que, para chegar à nota 7,0, segundo o modelo 4, precisa-se de:

$$7,0 = 1,268 + 0,2566 \times \text{Leitura}.$$

Assim:

$$\text{Leitura} = (7,0 - 1,268)/0,2566 = 22,34 = 223 \text{ dias}$$

Analogamente para o método 2, temos:

$$\text{Leitura} = (7,0 - 1,398)/0,2566 = 21,83 = 218 \text{ dias}$$

Notamos uma diferença de aproximadamente 5 dias somente, que pode estar refletindo as diferenças entre a média das notas iniciais das colônias recém formadas, que para o método 2 apresenta-se ligeiramente maior, ou seja, 1,5 em relação ao método 1, com média inicial igual a 1,4.

O ajuste para o método 3 demonstrou que há diferença de comportamento destas para as colônias dos outros dois métodos, não apresentando comportamento linear. Vários modelos foram testados e o que melhor se ajustou ao método 3 foi o DUP. Log. Incluindo a colônia 13, obteve-se  $R^2 = 89,34$  e sem ela  $R^2 = 96,37$ .

O modelo estimado de:

$\log(\text{nota}) = -0,0881 + 0,682 \times \log(\text{Leitura})$ , leva a estimativas de  $[\log(0,7) + 0,0881]/0,682 = \log(\text{Leitura})$ , assim  $\log(\text{Leitura}) = 2,9824$  ou 197,4 dias para chegar à nota 7,0.

### 84

#### 5.6. Análise por Época de Início das Leituras

Independente do método empregado para a formação das colônias, observou-se comportamento semelhante entre elas com relação às datas de início e finalização das leituras. Desta forma, decidiu-se realizar uma análise gráfica descritiva, procurando avaliar as evidências de possíveis influências ambientais no crescimento e aumento das notas das colônias. Sem considerar o método usado para a formação destas.

Os experimentos foram ordenados de acordo com a data inicial de cada colônia. Três gráficos foram obtidos e cada um inclui um grupo de colônias iniciadas no mesmo período.

Assim, obtiveram-se colônias iniciadas no período de 23/02/93 a 05/03/93 (Figura 20A); 15/03/93 a 24/05/93 (Figura 20B); e 12/08/93 a 16/08/93 (Figura 20C).

Analisando-se a Figura 20C, especificamente a ascendência da curva que representa o comportamento do grupo de colônias em relação ao aumento de nota com o tempo (Leituras), verifica-se o crescimento maior até a 10<sup>a</sup> leitura, quando as colônias estão com notas em torno de 6,0. Entretanto, nos dois outros gráficos, nesta mesma leitura, as colônias não ultrapassaram a nota 4,0. Desta forma, ficou evidente a influência da época do ano no desempenho delas, ou seja, colônias iniciadas após os meses de inverno em Viçosa, MG, período entre os meses de maio a julho, apresentaram crescimento mais acelerado.

Considerando-se que a maioria das colônias do método 3 (colônias 16, 18 e 19) foram iniciadas após o inverno e este método apresentou maior rapidez para as colônias alcançarem a nota 7,0, serão necessárias repetições em épocas semelhantes para todos os métodos a fim de poder compará-los com mais precisão.

Para isso, é importante um número maior de colônias matrizes para não faltar material na execução dos estudos. Estima-se um mínimo de 12 a 15 matrizes com notas acima de 8,0 para se realizar o mesmo número de repetições estudadas neste trabalho. Aconselha-se o mínimo de 10 colônias matrizes com notas acima de 8,0 num meliponário de 30 colônias em desenvolvimento. Nunca permanecer com a maioria das colônias com notas abaixo de 5,0. O meliponicultor deverá estar sempre preparado para épocas de escassez de floradas e mortes de rainhas em momentos que não correspondam à época de acasalamento natural da espécie criada. No Meliponário-A, os meses de setembro a março representam um período ideal para acasalamento de *Melipona quadrifasciata* Lep. Para ser mais específico, o aparecimento de machos fora das colméias ocorre no final de agosto e início de setembro até janeiro. Esta deve ser a época ideal para a realização de divisões ou orfanização de matrizes para utilização das rainhas fisogástricas em outras colônias.

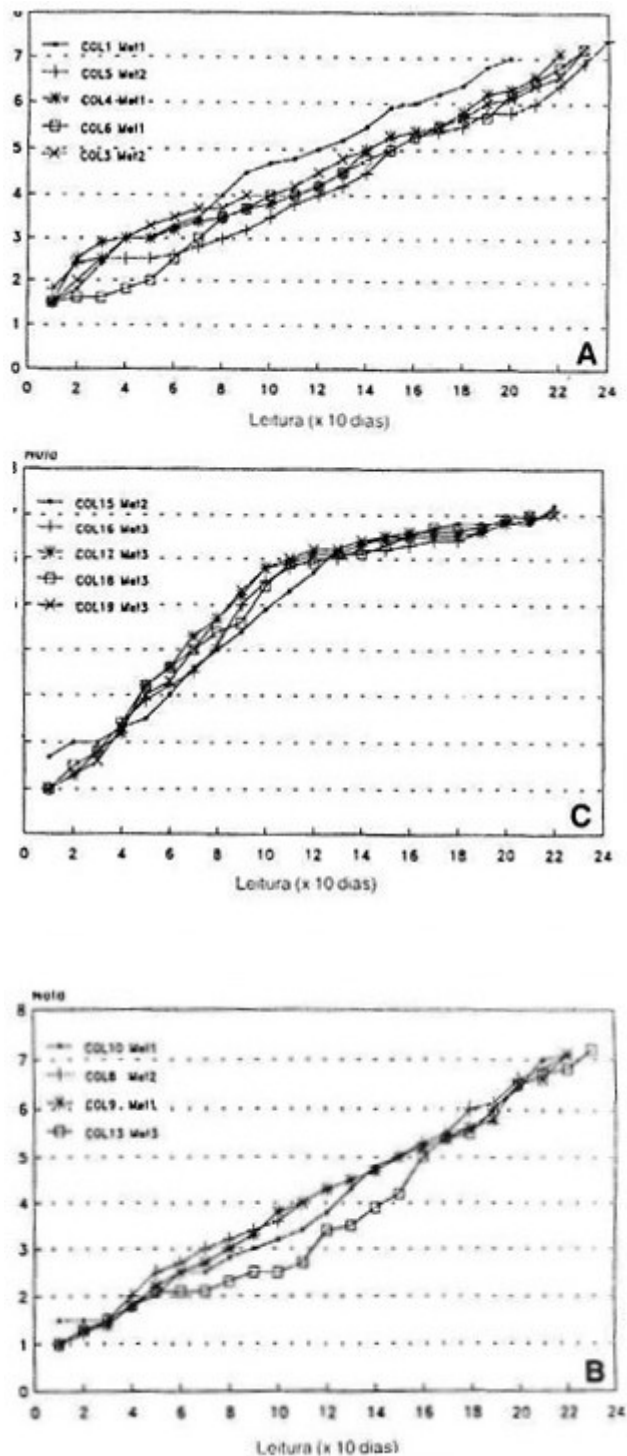


Figura 20 – Variação da nota por leitura das colônias iniciadas entre 23/02 e 05/03/1993 – A; entre 15/03 e 24/05 – B; agosto de 1993 – C; mostrando que em C as colônias apresentaram desenvolvimento mais rápido que em A e B.

86

Quando nos referimos a reprodução animal, devemos ter em mente que a sazonalidade específica para cada espécie deve ser rigorosamente respeitada durante as práticas de criação intensiva. A estação de reprodução é a época em que os machos representam melhor qualidade de sêmem (quantidade e mobilidade dos espermatozóides) e as fêmeas maior fertilidade, principalmente com relação à produção de feromônios de acasalamento. No caso de abelhas, a

melhor época para acasalamentos, geralmente, ocorre após a primavera até o início dos 2 meses que antecedem o inverno (período das secas). Perde-se muito material biológico quando se tenta dividir colônias fora do período ótimo para reprodução.

### 5.7. Análise dos Favos das Colônias com Nota 7,0

A comparação do número de favos observados nas colônias do experimento e o número de favos numa colônia em condições de ser dividida (com nota 7,0), são semelhantes à literatura (Tabela 1).

Desta forma, fez-se a contagem e medição dos favos daquelas colônias com nota 7,0 para averiguar a relação do método de avaliação das colônias aplicado em nosso trabalho com os dados de literatura.

Quanto aos diâmetros, às médias, erros padrões e intervalos de confiança para os tipos de favos encontrados nas colônias com nota 7,0, estão apresentados na Tabela 2. A atividade de postura da rainha fisogástrica é um processo contínuo executado diariamente, isto é, sem interrupção em condições normais. Desta forma, favos com crias de várias idades podem ser encontrados numa mesma colônia: favos novos (E), intermediários (I) e favos com larvas e pupas (CL, CP e CN).

Observa-se que as freqüências relativas e absolutas, dentro de cada tipo de favo são semelhantes entre os métodos, mostrando que o padrão adotado para coleta dos dados foi adequadamente quantificado para todas as colônias. Os cálculos foram feitos com grau de significância igual a 90%:

$$IC_{80\%}(\text{Diâmet.}) = \text{Média} \pm t_{0,5;(n-1)gl} \times \text{Erro Padrão da Média}$$

Nota-se que para cada tipo de favo os intervalos de confiança dos métodos se justapõem. Pela análise de variância não se observou diferença significativa entre os métodos, isto é, o padrão adotado para nota 7,0 nos três métodos, está homogêneo (igual para todas as colônias).

O intervalo de confiança para favos do tipo claro-pupa (CP) apenas se justapõe com o intervalo referente ao favo do tipo Intermediário (I), que tem menor freqüência e maior variabilidade (EP = 0,74).

87

O tipo Escuro (E), favos novos, é o que apresenta menor diâmetro médio e o claro-pupa apresenta maior diâmetro médio, coincidindo com as observações de NOGUEIRA-NETO (1946; 1970).

Os favos mais novos apresentam camada de cera espessa, o que torna-os mais escuros. Com o passar do tempo (mais ou menos 7-10 dias) as operárias iniciam a remoção desta camada de cera e os favos passam a apresentar coloração mais clara. Ao final do desenvolvimento das crias (entre 30-40 dias) os favos apresentam apenas os casulos tecidos pelas larvas, pouco antes de iniciarem a metamorfose, ficando assim, mais claros.

### 5.8. Número de Colônias Formadas

A partir de 6 matrizes com notas variando entre 5,0 e 7,0, em 14 meses de experimento, foram formadas 14 colônias de *Melipona quadrifasciata* Lep. com nota 7,0. Representando 2,33 colônias por matriz ou 2 colônias por matriz por ano. Naturalmente ocorre, no máximo, 1 enxameagem por ano (KERR, 1994 c.p.). Isto demonstra que a multiplicação artificial, de acordo com a metodologia aqui empregada, apresenta resultados satisfatórios.

Observando que o objetivo deste estudo não procurou um aumento máximo do número de colônias num dado período, mas sim uma avaliação de métodos para a formação artificial de colônias. Caso o objetivo principal fosse produzir o máximo de colônias por matriz, poderiam ser formadas muito mais colônias em apenas um ano. As estimativas e experimentos realizados no Meliponário-A, fornecem indícios de conseguir até 4 colônias filhas para cada matriz em apenas

um ano. Isto vai depender da prática e dos equipamentos que o meliponicultor dispõe (lupa, estufa, matrizes, pólen fermentado, entre outros).

## 6. MÉTODOS ESTUDADOS

Para facilitar a interpretação dos resultados e a comparação com futuros experimentos de formação de novas colônias de *Melipona quadrifasciata*, seguindo a metodologia aqui descrita, foram definidos modelos matemáticos para cada método estudado. Desta forma, basta a substituição de novos dados nas fórmulas para realizar a comparação entre experimentos.

Os modelos matemáticos que representaram o comportamento dos métodos 1,2 e 3 em relação ao crescimento de suas colônias foram, respectivamente:

$$\text{Nota}_1 = 1,202 + 0,262 \times \text{Leitura};$$

$$\text{Nota}_2 = 1,474 + 0,250 \times \text{Leitura};$$

$$\text{Nota}_3 = 1.406 + 0,287 \times \text{Leitura}.$$

88

O método 3 demonstrou ser o mais eficiente para a formação de colônias de *Melipona quadrifasciata* Lep. com nota 7,0 ou acima desta em tempo mais curto (195 dias), para as condições de Viçosa, MG, e de manejo adotadas neste experimento. Porém, demonstrou ser menos eficiente quanto ao número de colônias terminadas e iniciadas: 71,43% de sucesso.

Para a meliponicultura em geral, e onde se dispõe de mais de 44 colônias, o método 2 demonstrou ser o mais indicado por apresentar manejo mais simplificado e requerer menos material para sua execução, apresentando 100% de sucesso com relação às colônias iniciadas e terminadas, enquanto que com o método 1, 83,33% das colônias chegaram à nota 7,0.

O método 1 e o método 3 são mais indicados em meliponários com baixo número de colônias, isto é, menos de 44 colônias. Por estes dois métodos podemos selecionar rainhas não aparentadas e utilizá-las na formação de novas colônias, aumentando assim o número de alelos sexuais Xo na população intercruzante.

Empregando o método 1, podem-se comprar rainhas fisogástricas de outros meliponicultores obtendo a formação de novas colônias sem que ocorra formação de machos diploides e conseqüente perda de colônias (CAMARGO, 1976).

O método 3 permite estudos mais detalhados sobre genética de populações; possibilita a realização de cruzamentos controlados com zangões e rainhas de colônias ou de linhagens conhecidas para estudo de suas descendências.

O melhor desempenho das colônias formadas por este terceiro método pode estar relacionado à fase inicial à qual suas colônias são submetidas: permanecem em estufa a 28 - 30°C até que a rainha acasalada em laboratório apresente o abdômen desenvolvido. A partir deste momento ela está incapacitada de realizar vôos e uma possível cópula natural. Podendo ser, portanto, colocada no campo para desenvolvimento.

De acordo com as análises das datas de formação das colônias e seu desempenho, a época de formação destas demonstrou ter influência no desempenho das colônias.

Colônias formadas no segundo semestre de 1993, após o inverno na região de Viçosa, MG, apresentaram crescimento mais rápido que aquelas iniciadas no primeiro semestre e que passaram pelo período de inverno durante seu desenvolvimento. Baseando-se nestes resultados, deve-se iniciar a multiplicação artificial de colônias de meliponíneos, nesta região, após o mês de agosto. Desta forma, estas colônias estariam com nota 7,0 antes do inverno do próximo ano, estando preparadas para o período de carência de floradas sem que enfraqueçam em demasia.

Os métodos 1 e 2 não apresentaram diferenças significativas entre si quanto ao tempo para as colônias atingirem nota 7,0. Como o método 2 não



necessita manipulação de rainha fisogástrica no momento da formação das colônias, considero ser este de manejo mais simples, apresentando 100% de sucesso para as colônias iniciadas e terminadas. Entretanto, em regiões onde ocorre endogamia (formação de machos diplóides), por possuir número de colônias inferior a 44, este método deve ser descartado, visto que os acasalamentos ocorrem ao acaso e a probabilidade de rainhas acasalarem com parentes é elevada.

## 7. AS VARIÁVEIS PESO E NOTA

Nos dados coletados têm-se 9 variáveis (Tabela 4), porém, foram analisadas as duas mais importantes: ganho de peso e variação da nota. Estas variáveis demonstraram diretamente o desempenho das colônias. A mesma análise destas duas variáveis poderá ser feita para todas as outras, o que fará parte dos estudos estatísticos a serem realizados futuramente.

A variável ganho de peso apresentou maior variabilidade quando comparada à variável nota e maior variação com o decorrer das leituras.

As variáveis peso e nota apresentaram relação positiva, aumentando com o tempo até as colônias chegarem à nota 7,0. Nos três métodos estudados, houve correlação positiva e estatisticamente significativa entre elas.

A variável peso pode ser constante, enquanto a variável nota cresce. Assim, não se pode admitir que só o ganho de peso seja suficiente para avaliar o estado geral de uma colônia de *Melipona quadrifasciata* Lep. Mesmo não tendo sido feitos experimentos com outras espécies, é provável que o mesmo ocorra para a maioria dos meliponíneos que têm o hábito de coletar terra para a confecção do geoprópolis.

Evitando erros e dúvidas quanto ao estado de desenvolvimento, a avaliação de cada colônia deve ser feita com base em observação de cada elemento que as compõe: organização interna das abelhas recém unidas, jovens e adultas, para a formação do colônia; o trabalho das campeiras, movimentação na entrada da caixa; quantidade dos favos de crias; altura do invólucro do ninho; potes de alimento construídos; resina armazenada nas paredes da caixa; postura da rainha; entrada de barro da colméia e também o seu peso. Para as pesagens das colônias recomenda-se balanças com precisão de 1 a 5 g, já que, a variação de peso na espécie aqui estudada não é muito grande.

A somatória das notas parciais de cada elemento forneceu a nota geral da colônia. Assim, reduz-se a margem de erro e obtém-se resultados mais precisos quanto ao estado geral da colônia.

90

## 8. REVISÕES DAS COLÔNIAS

O acompanhamento das colônias do meliponário deve ser realizado periodicamente por meio de revisões com bastante precisão e rapidez, principalmente quando a tampa da colméia estiver levantada. Deve-se ter muito cuidado com a rainha, para não feri-la no momento da revisão dos favos de crias. Ao ser retirada a parte superior do invólucro do ninho, verificar se a rainha não ficou presa entre as lâminas de cera amassadas. Quando abrimos a colméia a rainha abandona os favos de crias para refugiar-se por entre os potes de mel e pólen, tornando difícil a sua localização. Desta forma, o mínimo cuidado durante as revisões é pouco.

O intervalo entre as revisões é de fundamental importância para o bom desenvolvimento das colônias. A metodologia aqui aplicada e descrita nos itens 2.2 e 2.5, apresentou resultados satisfatórios quanto à manutenção das colônias matrizes e ao desenvolvimento das colônias formadas. Não houve morte de crias por estresse durante as revisões, excesso de lixo internamente às colméias ou morte de colônias por falta de alimento e cuidados relacionados ao manejo.

O número de favos de crias, bem como os seus estágios de desenvolvimento para as colônias com nota 7,0, foram semelhantes ao citado por NOGUEIRA-NETO (1948), onde o autor caracteriza

as colônias aptas para serem divididas.

Os favos do tipo intermediário-I (larvas em fase de alimentação) a pareceram com menor frequência em relação aos outros tipos de favos (Tabela 2) porque esta é uma fase muito rápida; nela as operárias realizam a remoção da cera que recobre as células, período em que as larvas iniciaram a construção do casulo, final de seu desenvolvimento.

Favos do tipo escuro (novos) apresentam menor diâmetro, quando comparados com os outros tipos de favos. Isto pode ser explicado pelo simples fato de que, quando o diâmetro dos favos aumenta devido à construção de mais células para novas posturas, também aumenta o tempo de vida das larvas. E a cera escura dos favos novos é retirada pelas operárias de acordo com o avanço do desenvolvimento das larvas, tornando os favos mais claros.

## **9. CAIXAS CÚBICAS COM ALÇAS**

Como já foram descritos vários modelos de colméias no item 2.2, neste item serão descritas apenas os modelos utilizados nos experimentos de multiplicação artificial realizados.

**91**

O modelo de colméia selecionado para a execução dos estudos aqui relatados permitiu maior facilidade no manejo durante as revisões por não apresentar subdivisões internas. As colméias sem tais divisões promovem melhor visualização dos elementos da colônia e facilidade para encontrar a rainha.

Sempre que os favos de crias foram inspecionados a ausência de subdivisões internas na colméia permitiu boa visibilidade e rapidez na tarefa. As caixas não devem permanecer abertas por muito tempo, muitas abelhas jovens podem perder-se pelo chão e a colônia enfraquece muito.

Para mandaçaia apenas duas alças proporcionam um bom espaço interno para crescimento das colônias, o que representa um volume de 4,0 litros, aproximadamente. Isto para as condições ambientais do Meliponário da Universidade Federal de Viçosa e do Meliponário-A em Ribeirão Preto, SP. Em regiões de boas floradas a terceira alça é imprescindível.

Algumas colônias receberam a terceira alça, o que representa um volume de 6,0 litros, aproximadamente. Porém o seu desempenho não foi melhor do que aquelas em caixas com duas alças. Caixas com maior volume também foram testadas e o desenvolvimento das colônias não foi melhor, quando comparado aos de colônias alojadas em caixas de 4,0 litros. O acúmulo de geoprópolis nas colméias de 6,0 litros foi maior e as colônias permaneceram com notas semelhantes àquelas dos colônias de caixas com duas alças. Apenas a espessura da parede das caixas pode auxiliar no controle de temperatura pelas abelhas e proporcionar um crescimento mais rápido da colônia. Colméias cúbicas com paredes de 4,0 cm de espessura foram testadas e as colônias apresentaram desenvolvimento bastante acelerado quando comparado às outras. O meliponicultor deverá escolher o material mais disponível e menos dispendioso. Quando há disponibilidade de madeira mais grossa é preferível deixar as colméias com paredes mais espessas para auxiliar no controle de umidade e temperatura pelas abelhas. Nestes tipos de colméias as colônias crescem mais rápido e o retorno é maior.

## **10. RESUMO DOS EXPERIMENTOS**

Os desmatamentos, as queimadas e a ação predatória de meleiros, têm diminuído acentuadamente o número de colônias de abelhas nativas nas matas brasileiras. A consanguinidade em áreas onde é baixo o número de colônias acentua a morte dos meliponíneos, devido ao nascimento de machos diploides, eliminação da rainha pelas operárias e por falta de operárias. Várias espécies estão extintas em algumas regiões, sem ao menos terem sido classificadas e estudadas. Muitas delas já não são mais encontradas no território brasileiro.

Com o objetivo de aumentar o número de colônias de meliponíneos em um determinado local, desenvolver estudos relacionados ao manejo, alimentação artificial e auxiliar na preservação das abelhas nativas, foram avaliados três métodos de formação de novas colônias: 1) Formação em orfandade; 2) Formação com rainha fisogástrica acasalada naturalmente e 3) Formação com rainha acasalada em laboratório. Muitos aspectos da biologia de *Melipona quadrifasciata* Lep. foram estudados.

O método 1 possibilitou a formação de 6 colônias, das quais 5 chegaram à nota 7,0. Obtendo 83,33% de sucesso. No método 2, 4 colônias foram formadas e todas obtiveram sucesso (100%); no terceiro método 71,43% das 7 colônias formadas chegaram a nota 7,0.

Foram aplicadas as mesmas técnicas de alimentação artificial com Xarope-A, mesmo manejo e o mesmo sistema de revisões para todas as colônias. Tamanhos de potes artificiais foram testados e encontrada uma medida ideal para *Melipona quadrifasciata* Lep., evitando assim o desmanche dos potes e mais trabalho para as operárias.

Durante as revisões, notas foram atribuídas às variáveis relacionadas ao desenvolvimento das colônias. Para avaliar os diferentes métodos, foram utilizadas análises de covariância. As análises de variância foram empregadas para análise do número de dias que as colônias demoraram para atingir o desenvolvimento equivalente à nota 7,0.

Os modelos matemáticos que representaram o comportamento dos métodos 1, 2 e 3 em relação ao crescimento das colônias (nota x leitura) foram, respectivamente:

$$\text{Nota}_1 = 1,202 + 0,262 \times \text{Leitura};$$

$$\text{Nota}_2 = 1,474 + 0,250 \times \text{Leitura};$$

$$\text{Nota}_3 = 1,406 + 0,287 \times \text{Leitura}.$$

O método 3 foi o que demonstrou melhor desempenho quanto ao tempo de desenvolvimento das colônias, ou seja, 195 dias para alcançarem a nota 7,0. Porém, foi o que mais necessitou de equipamentos de laboratório como lupa, estufa e manejo complexo nos primeiros dias de formação das colônias, até o desenvolvimento ovariano das rainhas copuladas.

O método 2 demonstrou ser o mais simples, exigindo menos material e manejo mais facilitado. O único cuidado com este método é não utilizá-lo em regiões onde o número de colônias esteja abaixo de 44. A formação das colônias com rainhas que copulam ao acaso, com zangões de sua mesma área de reprodução pode incorrer à endogamia ou "efeito Yokoiana e Nei", o que representa o principal problema para este método.

O método 1 permite a introdução de rainhas fisogástricas de regiões variadas ou mesmo de longas distâncias, permitindo o aumento no número de alelos na população geneticamente ativa.

A variável peso não deve ser a única observação considerada durante a avaliação de colônias de *Melipona quadrifasciata* Lep. A colônia 4 do método 1, demonstrou comportamento que evidencia esta afirmação, mantendo o peso constante aumentando a nota geral. Desta forma, devem-se desenvolver técnicas mais detalhadas e seguras na avaliação das colônias para não obtermos resultados duvidosos. As colônias filhas de *Melipona quadrifasciata* Lep. foram submetidas à avaliação por elementos durante a multiplicação artificial de colônias matrizes. A época ideal para a divisão de colônias é após a primavera até dois meses antes do inverso.

## 11. SUMMARY OF EXPERIMENTS

Deforestation, burnings and predatory honey harvesting have been responsible for the extinction of most stingless bee species (Meliponini, Apidae) existing in the tropics. When the

number of colonies is fewer than 44, death of colonies increases because both the birth of diploid males and the elimination of the queen by the colony workers occur. Therefore, as time goes by, the absence of workers in those colonies will be a natural consequence.

In order to increase the number of colonies, three methods of artificial multiplication of meliponini colonies were tested: 1) Formation of colonies with physogastric queen mated naturally; 2) Formation of orphan colonies and 3) Formation of colonies with physogastric queen mated in laboratory.

The number of repetitions and the successful results of those methods were: 6 colonies (83,33%) survived; 4 colonies (100%) survived and 7 colonies (71,43%) survived, respectively. The same technique of artificial feeding with Syrup-A, the same handling and the same revision were applied to all colonies.

The mathematical models that represented the performance of the colonies formed were:

$$\text{Grade}_1 = 1.202 + 0.262 \times \text{Reading}$$

$$\text{Grade}_2 = 1.474 + 0.250 \times \text{Reading}$$

$$\text{Grade}_3 = 1.406 + 0.281 \times \text{Reading}$$

In the environment of Viçosa, MG, method 3 presented the best results for artificial formation of colonies reaching grade 7.0 in 195 days. Nevertheless, it was more laborious and required sophisticated laboratory equipment. Method 2 was less laborious, but it should not be used when the number of colonies is

fewer than 44. The reason is that mating occurs at random in this method and, in this case, there is a greater possibility of virgin queens mating with a male which has similar alleles to those of the queens. Method 1 permits the introduction of physiogastric queens from different regions, thus providing the increase of sexual alleles in the genetically active population and so avoiding "Yokoima and Nei effect".

The variable "weight" is not the only one to be taken into consideration for grading the colonies. Colony 4, for example, had constant weight while the grade increased. In the case of *Melipona quadrifasciata* colonies the various elements that form the colony must be evaluated and the sum of the grades gives the colony a general grade. That provides greater precision for grade inference.

During a one-year study, 2.33 colonies were formed for each matrix by artificial multiplication. In nature, 1:1 is the maximum that may occur during this time.

## 12. AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Warwick Estevam Kerr, meu orientador, pela revisão do texto e atenção durante a elaboração dos experimentos e redação deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Lúcio Antônio Oliveira Campos, orientador durante a realização do meu curso de mestrado em Viçosa, MG.

Ao Prof. Dr. Ademilson Espencer Egea Soares, pelo estímulo e apoio, que muito contribuíram para que este trabalho pudesse ser publicado.

Ao Prof. Dr. João Maria Franco de Camargo, pela revisão do texto referente à distribuição geográfica da espécie estudada.

Ao Prof. Dr. Fábio de Melo Sene, pelo encaminhamento final e apoio para a publicação desta monografia.

À Profa. Dra. Zilá Luz Simões, pelas orientações como professora e coordenadora do curso de Doutorado da FFCL de Ribeirão Preto - USP.

Ao Prof. Dr. Paulo Nogueira-Neto, pelo envio de material bibliográfico.

Ao Prof. Dr. Paulo Gustavo Sommer, por ter cedido colônia de *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* Lep. e fornecido informações úteis a respeito da espécie em questão.

A minha irmã Tirza Aidar, pelo auxílio durante a realização das análises estatísticas aqui apresentadas.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico -CNPq, com o qual mantenho vínculo como bolsista desde 1985.

E a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para que este trabalho pudesse existir.

### 13. BIBLIOGRAFIA

- ABSY, M. L. & KERR, W.E. (1977). Algumas plantas visitadas para obtenção de pólen por operárias de *Melipona seminigra nierrillae* em Manaus. *Acta. Amaz.*, 7(3):309-315.
- ABSY, M.L.; BEZERRA, E.B. & KERR, W.E. (1980). Plantas nacteríferas utilizadas por duas espécies de *Melipona* da Amazônia. *Acta. Amaz.*, 10(3): 271-81.
- ABSY, M.L.; CAMARGO, J.M.F.; KERR, W.E. & MIRANDA, I.P.A. (1984). Espécies de plantas visitadas por Meliponinae (Hymenoptera; Apoidea) para coleta de pólen na região do Médio Amazonas. *R. Bras. Biol.*, 44(2): 227-237.
- ADAMS, J.; ROTHMAN, E.D.; KERR, W.E. and PAULINO, Z.L. (1977). Estimation of the number of sex alleles and quem mating from diploid male frequencies in a population of *Apis mellifera* L. *Genetics*, 86: 583-596.
- AIDAR, D.S.; CAMPOS, L.A.O. (1994). Resposta de meliponíneos à alimentação artificial (*Melipona quadrifasciata* Lep, MELIPONINAE, APIDAE). *Ann. Enc. Etologia* 12:105-106.
- AIDAR, D.S. (1995a). Estudo comparativo dos sistemas de reprodução em Meliponinae e Apinae (Hymenoptera, Apidae): conseqüências ecológicas. In: Congresso de Entomologia, 15, Caxambú, MG, *Anais*, pg. 95.
- AIDAR, D.S. (1995b). Multiplicação Artificial e Manejo de Colônias de *Melipona quadrifasciata* Lep. (Hymenoptera Apidae, Meliponinae). Viçosa, MG, 85p (Tese M.S.).
- AIDAR, D.S. (1996a). Proteic feeding to *Melipona quadrifasciata* Lep. on without flowers seasons (HYMENOPTERA, APIDAE, MELIPONINAE). In: *Anais do 15º Congresso Panamericano de Ciências Veterinárias* (in press).
- AIDAR, D.S. (1996b). Multiplicação e Alimentação Artificial de Colônias de Meliponíneos. In: *Anais do XI Congresso Brasileiro de Apicultura*, Terezina, PI. 12 pp. (in press).
- AIDAR, D.S.; CAMPOS, L.A.O.; POMPOLO, S.G.; MESSAGE, D.; AIDAR, T. (1995). Influência ambiental na multiplicação artificial de meliponíneos: *Melipona quadrifasciata* Lep. (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). In: Congresso de Entomologia, 15, Caxambú, MG, *Anais*, pg. 215.
- ALMEIDA, M.G. (1981). Estudo sobre o número de cromossomos e contagem de espermatozoides na abelha *Melipona scutellaris* L. *Ciência e Cultura* 33(4): 539-542.
- ANDRÉ, J. (1962). Contribution a la connaissance du chondriome. Étude de ces modifications ultrastructurales pendant la spermatogênese. *J. Ultrastruct. Rec.*6, (suppl.3)(1).
- BACCETTI, B. & BAIRATI, A. (1964). Indagini sull'ultrastruttura delle cellule germinali maschili in *Dacus oleae* Gmil. *Redia*, XLIX: 1-29.
- BARKER, R.J. & LEHNER, Y. (1972a). Acceptance and sustenance value of naturally occurring sugars fed to newly emerged adult workers of honey bees [*Apis mellifera* L.]. *J. Exp. Zool.* 187: 277-286.
- BARKER, R.J. & LEHNER, Y. (1972b). Influence of diet on sugars found by thin-layer chromatography on thoraces of honey bees [*Apis mellifera* L.]. *J. Exp. Zool.* 188:157-163
- BARROS, J.R.S. & KROGH, H. (1990). Apicultura migratória com a abelha tíuba. *Ciênc. Cult.*, São Paulo 42(10): 847-7.
- BARROS, J.R.S. (1994). Meliponicultura migratória para produção de mel com *Melipona scutellaris* (Uruçu). Jaboticabal, UNESP. (Tese M.S.).

- BAWA, S.R. (1964). Electron Microscope Study of Spermiogenesis in a Fire Brat Insect, *Thermobia domestica* Pack. I. Mature Spermatozoon. *J. Cell. Biol.* 23(3): 431.
- BEGO, L.R., MAETA, Y., TESUKA, T., ISHIDA, K. (1989). Floral preference and flower constancy of a brazilian stingless bee, *Nannotrigona testaceicomis* kept in a greenhouse (Hymenoptera, Apidae). *Bull. Fac. Agric. Shim. Univ.*, 23: 46-54.
- BENNETT Jr., CF. (1964). Stingless beekeeping in Western Mexico. *The Geog. Rev.*, 54(1): 85-92.

- BISHOP, G.H. (1920). Fertilization in the honeybee. Part I: The male sexual organs: their histological structure and physiological functioning. *J. Exp. Zool.*, 31: 225-258.
- CAMARGO, CA. (1974). Produção de machos diplóides de *Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera, Apidae). *Cien. Cult.*, 267p.
- CAMARGO, C. A. (1976). Determinação do sexo e controle de reprodução em *Melipona quadrifasciata* Lep. (Hymenoptera, Apidae). Ribeirão Preto, USP, Faculdade de Medicina. 140p (Tese D.S.).
- CAMARGO, C. A. (1977). Properties of the Xo gene, sex-determining in *Melipona quadrifasciata* Lep. (HYMENOPTERA, APIDAE). In: *International Congress of I*, 8, V.S.S.I., 191-192.
- CAMARGO, CA. (1979). Sex determination in bees XI. Production of diploid males and sex determination in *Melipona quadrifasciata*. *Apic. Res.* 18(2): 77-84.
- CAMARGO, J.M.F. (1972). Manual de Apicultura. São Paulo, Ed. Agronômica Ceres, 252p.
- CAMARGO, J.M.F. (1994). Biogeografia de Meliponini (HYMENOPTERA, APIDAE, APINAE): a fauna amazônica. In: Encontro sobre Abelhas, I, Ribeirão Preto. *Anais do 1º Encontro Sobre Abelhas*, Ribeirão Preto, F.F.C.L.R.P., USP. v. 1, p. 46-59.
- CAMPOS, L.A.O. (1987). Reprodução em *Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera, Apidae) II – Cópula com rainha fisogástrica. *Resumos do XIV Congresso Brasil de Zoologia*, Juiz de Fora, MG. CAMPOS, L.A.O. (1991). Abelhas indígenas sem ferrão. Univ. Federal de Viçosa, MG. *Informe Técnico* 12(67): 1-5.
- CARVALHO, G.A.; KERR, W.E.; NASCIMENTO, V.A. (1995). Sex determination in bees. XXXIII. Decrease of Xo heteroalleles in a finite population of *Melipona scutellaris* (Apidae, Meliponini). *R. Bras. Genet.* 18,1,13-16.
- CHAUD-NETO, J. (1980a). Estudos biológicos com rainhas triplóides de *Apis mellifera*. I. Produção de ovos abortivos por rainhas virgens. *Ciência e Cultura* 32(4): 483-486.
- CHAUD-NETO, J. (1980b). Estudos biológicos com rainhas triplóides de *Apis mellifera*. *Ciência e Cultura* 32(5): 611-615.
- COLE, B.J. (1983). Multiple mating and the evolution of social behavior in the Hymenoptera. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 22:191-201.
- COUTO, A.L. (1993). Estudo do desenvolvimento de colônias formadas artificialmente a partir do uso de pacotes de abelha africanizada, européia e Fl (africanizada X européia) sob diferentes condições ambientais. Ribeirão Preto, USP, Faculdade de Medicina, 116p. (Tese M.S.).
- CRUZ-LANDIM, C da. (1967). Estudo comparativo de algumas glândulas das abelhas (Hymenoptera, Apoidea) e respectivas implicações evolutivas. *Arq. Zool. Est. S. Paulo*, 15(3): 177-290.
- DADANT, C.C. (1992). Beekeeping equipment. In: *The hive and the honey bee*. Chapter 12- Edited by Dadant & Sons, Hamilton, Illinois, 537-573p.
- DARAKJIAN, P. (1991). Aspectos da variabilidade do comportamento de postura nas células de cria em *Melipona quadrifasciata* LEPELETIER (HYMENOPTERA, APIDAE, MELIPONINAE). São Paulo, USP, 78p (Tese M.S.).

## 98

- EBADI, R. & GARY, N.E. (1980). Factors affecting survival migration of spermatozoa and onset of oviposition in instrumentally inseminated queen honeybees. *Apic. Res.* 19(2): 96-104.
- EMELLEN, von D.A. (1945). Consultoria do criador de abelhas. *Chác. Quint.*, 72: 471-473.
- FERNANDES, S.P.G. & ZUCOLOTO, F.S. (1994). Influência de microorganismos no valor nutritivo do pólen, para *Scaptotrigona depilis* MOURE (HYMENOPTERA, APIDAE). *Anais do 1º Encontro Sobre Abelhas de Ribeirão Preto*, SP 1: 232-242.
- FERREIRA, F.H.N. (1993). Aspectos da estratégia reprodutiva em *Tetragonisca angustula angustula* Latreille, 1811 (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). Univ. São Paulo - USP, Ribeirão Preto, SP, 105p (Tese Mestrado).
- FRISCH, K. (1984). *La vida de las abejas*. 4ª ed. Editorial Labor, S.A., Barcelona, Espanha, 127-

- 149pp. FRISCH, K. (1958). The solar compass as the basis of communication in the colony. *Am. Bee J.*, 98: 100-101.
- FRISCH, K.V. (1934). Uber den geschmacksinn der bienen. *Z. vergl. Physiol.* 21:1-156.
- FURIERI, P. (1963). Aspetti morfologia della spermiogenesi di *Oryctes Crypus*. *Ollig., Redia*,
- GAROFALO, CA. (1980). Reproductive aspects and evolution of social behavior in bees (Hymenoptera, Apoidea). *Rev. Brasil Genet.* 3:139-152.
- GUIBU, L.S.; RAMALHO, M.; KLEINERT-GIOVANNINI & IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. (1988). Exploração dos recursos florais por colônias de *Melipona quadrifasciata* (APIDAE, MELIPONINAE). *Rev. Brasil. Biol.*, 48(2): 299-305p.
- HARTL, D.L., BROWN, S.W. (1970). The origin of male haploid genetic system and their expected sex ratio. *Theor. Pop. Biol.* 1:165-190.
- HEBERT Jr., E.W. (1992). Honey bee nutrition. In: The hive and the honey bee. Chapter VI. Edited by Dadant & Sons, Hamilton, Illinois, 197-224p.
- HOAGE, T.R. and KESSEL, R.G. (1968). An Electron Microscope Study of the Process of Differentiation during Spermatogenesis in the Drone Honey Bee (*Apis mellifera* L.) with special Reference to Centriole Replication and Elimination. *J. Ultrastructure Research*, 24: 6-32.
- HÖFLING, M.A.C.; CRUZ LANDIN, C. e KITAJIMA, W.E. (1970). The Fine Structure of Spermatozoa from the Honey bee. *An. Acad. Brasil. Ciênc.* 42(1).
- HUNTER, J. (1792). Observations on bees. *Philos. Trans. Roy. Soc. Lond.*, 82:128-195.
- IHERING, H. (1932). A urucu na apicultura nordestina. *Chác. Quintais* 46: 292-296.
- IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. & KLEINERT-GIOVANNINI, A. (1983). Visita das abelhas sociais às flores. *Anais do 1 Encontro Paulista de Etologia*. Jaboticabal, Associação Zootecnistas do Estado de São Paulo, p.187-194.
- INOUE, T.; SAKAGAMI, S.F.; SALMAH, S. & YAMANE, S. (1984). The process of colony multiplication in the Sumatran stingless bee *Trigona (Tetragonula) laeviceps*. *Biotropica* 16(2): 100-111.
- KERR, W.E. (1945). Criando as abelhas indígenas. *Chácaras e Quintais* vol.72: 472-473.
- KERR, W.E. (1948). Estudos sobre o gênero *Melipona* III. *Anais da Escola de Agric. Luiz de Queiroz*, Piracicaba, SP, Vol.5,181-294.
- KERR, W.E. (1951). Bases para o estudo da genética de populações dos Hymenoptera em geral e dos Apinae sociais em particular. *Anais da Escola Superior de Agric. "Luiz de Queiroz"*, 8: 219-341.
- KERR, W.E. (1987). Biologia, manejo e genética de *Melipona compressipes fasciculata* Smith (Hymenoptera: Apidae). Univ. Fed. Maranhão, São Luiz, MA, 141p. (Titular).

## 98

- KERR, W.E. (1994). Progresso na genética de abelhas. *Anais do X Congresso Brasileiro de Apicultura* 10: 264-277, Pousada do Rio Quente, GO.
- KERR, W.E. (1996). Os heteroalelos XO nas populações de himenópteros. In: *Anais II Encontro sobre Abelhas*, Ribeirão Preto, SP, 2: 3-11.
- KERR, W.E & KRAUSE, W. (1950). Contribuição para o conhecimento da bionomia dos Meliponini. Fecundação da rainha em *Melipona quadrifasciata* Lep. *Dusenya* 1(15): 275-282.
- KERR, W.E., ZUCCHI, R., NAKADAIRA, J.T. & BUTOLO, J.F. (1962). Reproduction in the social bees (Hymenoptera, Apidae). *J. New York Entom. Soc.* 70: 265-276.
- KERR, W.E. & MAULE. (1964). Geographic distribution of stingless bees and its implications (Hymenoptera, Apidae). *J. New York Ent. Soc.* 57: 2-17.
- KERR, W.E. e VENCOSKY, R. (1982). Melhoramento genético em abelhas I. Efeito do número de colônias sobre o melhoramento. *Rev. Brasil. Genét.* 5: 279-285.
- KERR, W.E.; ABSY, M.L. e SOUZA, A.C.M. (1987). Espécies Nectaríferas e Poliníferas utilizadas pela Abelha *Melipona compressipes fasciculata* Smith (Meliponinae, Apidae), no Maranhão. *Acta Amazônica*, 16/17 (número único): 145-156.



- KERR, W.E.; CUNHA, R.; PISANI, J.F. (1978). Genética de determinação do sexo XII. Aplicação de métodos numéricos para agrupar sexos e castas de *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lep. (Apidae). *Rev. Brasil. Biol.* 38(2): 319-394.
- KERR, W.E.; MONTEIRO, S.G.; KERR, H.A.S. (1988). Sex determination in bees. XXV. Adaptive value of the xo gene in its origin. *Brazilian Journ. Gen.* 11(2): 469-473.
- KERR, W.E.; NASCIMENTO, V.A.; CARVALHO, G.A. (1994a). Há salvação para os Meliponíneos? *Anais do P Encontro Sobre Abelhas* 1: 60, Ribeirão Preto, SP.
- KERR, W.E.; CARVALHO, G.A.; NASCIMENTO, V.A. (1994b). Relatório da expedição à estação ecológica Mamirauá (30/01 a 08/02/1994). Projeto Mamirauá. Univ. Fed. de Uberlândia, Departamento de Biociências, Laboratório de Genética. 103p.
- KERR, W.E.; SAKAGAMI, S.F.; ZUCCHI, R.; PORTUGAL ARAÚJO, V. de & CAMARGO, J.M.F. (1967). Observação sobre a arquitetura dos ninhos e comportamento de algumas espécies de abelhas sem ferrão das vizinhanças de Manaus, Amazonas (Hymenoptera, Apoidea). *Atas. Simp. Biota Amazônica*, 5: 255-309.
- KOENIGER, G. and KOENIGER, N. (1990a). Evolution of reproductive behavior in honey bees In: *Social Insects and the Environment* (Veeresh, G.K.; Mallik, B.; Viraktamath, C.A., eds.) Oxford and IBH Publ. Co., Ltd., Bombay Índia, Proc. 11 th. Int. Congr. IUSSI, Índia, 101-102.
- KOENIGER, G. and KOENIGER, N. (1990b). Unterschiedliche Genese der Polyandrie bei *Apis*-Arten. In: *Verh Dtsch Zool. Ges.* (Pfannenstiel, H.D., ed.) Gustav Fisher Verlag, Stuttgart, 618.
- KOENIGER, G. (1986). Reproduction and mating behavior. In: *Bee Genetics and Breeding*, edited by T.E. Rinderer. Academic Press. Inc. 255-280.
- KOENIGER, G.; KOENIGER, N.; MARDAN, M.; OTIS, G.; WONGSIRI, S. (1991). Comparative anatomy of male genital organs in the genus *Apis*. *Apidologie* 22: 539-552.
- LIDLAW Jr., H.H. (1944). Artificial insemination of the Queen Bee (*Apis mellifera* L.): Morphological Basis and Results. *Journ. Morphology*, 74: 429-465.
- LIDLAW Jr., H.H. (1992). Production of queens and package bees. In: *The hive and the honey bee*. Chapter XXIII. Edited by Dadant & Sons, Hamilton, Illinois, 989-1041pp.

- LIDLAW, H.H., GOMES, F.P. and KERR, W.E. (1956). Estimation of the number of lethal alleles in a panmitic population of *Apis mellifera* L. *Genetics* 44: 179-188.
- LENSKY, Y. and SHINDLER, H. (1967). Mobility and reversible inactivation of honey bee spermatozoa "in vivo" and "in vitro". *Ann. Abeille*, 10(1): 5-16.
- MACKENSEN, O. (1951) Viability and sex determination in the honey bee (*Apis mellifera* L.). *Genetics* 36: 500-509.
- MACKENSEN, O. (1955). Further studies on a lethal series in the honeybee. *J. Hered.* 46: 72-74.
- MACKENSEN, O. & ROBERTS, W.C. (1948). A manual for the artificial insemination of queen bees. USDA, *Bureau of Entomol Plant Quar.* ET, 250p.
- MELO, G.A.R. & CAMPOS, L.A.O. (1987). Variação do padrão de faixas na população de *Melipona quadrifasciata* Lepeletier, 1936 no Estado de Minas Gerais (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae) *XIV Congresso Brasileiro de Zoologia*, Juiz de Fora, MG, 1 a 6 de Fevereiro.
- MENEZES, A.M.L.; CARVALHO, G.A.; NASCIMENTO, V.A.; AIDAR, D.S. e KERR, W.E. (1993). Transporte de rainhas fisiogástricas-novo método para seleção e aumento da população geneticamente ativa de Meliponíneos. *Rev. Brasil- Genét.* (supl.) 16(3)322.
- MICHENER, CD. (1961). Observation on the nests and behavior of *Trigona* in Austrália and New Guinea (Hymenoptera, Apoidea) *Am. Mus. Nov.*, (2026): 1-46, 73. MICHENER, CD. (1974). The social behavior of the bees. Comparative study. Belknap Press of Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, 404pp..
- MICHENER, CD. (1979). Biogeography of the bees. *Ann. Mo. Bot. Gard.* 66: 277: 347.
- MOURE, J.S. (1975). Notas sobre as espécies de *Melipona* descritos por Lepeletier em 1836 (HYMENOPTERA, APIDAE). *Rev. Brasil. Biol.* 35(4): 615-23. MOURE, J.S. & KERR, W.E. (1950). Sugestões para a modificação da sistemática do gênero *Melipona* (HYMENOPTERA, APOIDEA). *Dusenía* 1 2: 105-29. MOURE, J.S. & CAMARGO, J.M.F. (1995). *Melipona (Michinelia) capixaba*, uma nova espécie de Meliponinae do Sudoeste do Brasil. *Rev. Bras. Zool.* (in press).
- MOURE, J.S. & SAKAGAMI, F. (1962). As mamangabas sociais do Brasil (*Bombus* Latr.) (Hym., Apoidea). *Studia Entomologia* 5(1-4): 65-194.
- NASCIMENTO, V.A.; CARVALHO, G.A.; MENEZES, A.M.L.; AIDAR, D.S. e KERR, W.E. (1993). Técnica para aumento de população da abelha uruçú (*Melipona scutellaris* Lep.) para fins de seleção. *Ciência e Cultura* (supl.) 856.
- NOGUEIRA-NETO, P. (1948). A colméia racional para algumas de nossas abelhas que não ferrom. *Chácaras e Quintais* 77: 559-561.
- NOGUEIRA-NETO, P. (1951). Stingless bees and their study. *Bee World* 32(10): 73-76.
- NOGUEIRA-NETO, P. (1962a). Meliponicultura. *Chácaras e Quintais* 106(2): 324.
- NOGUEIRA-NETO, P. (1962b). O início da apicultura no Brasil. *Biol Agric.* 49: 3-14.
- NOGUEIRA-NETO, P. (1970). A criação racional das abelhas indígenas sem ferrão. 2a Ed. Tecnapis, São Paulo, SP, 365p.
- NOGUEIRA-NETO, P. (1993). Novas técnicas para criar Meliponíneos (HYMENOPTERA, APIDAE, MELIPONINAE). *Publ. Tecnapis sobre Ecologia e Etologia (Ecoetologia) n° 5*, 15p.
- NOGUEIRA-NETO, P; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L.; KLEINERT-GIOVANNINI, A & VIANA, B.F. (1986). Biologia e manejo das abelhas sem ferrão. Tecnapis, São Paulo, SP, 54p.

- PAGE, R.E. and METCALF, R.A. (1982). Multiple Mating, sperm utilization, and social evolution. *Am.Nat.* 119:263-281.
- PAGE, R.E. (1986). Sperm utilization in social insects. *Ann. Rev. Entomol.* 31: 297-320.
- PAGE JR., R.E.; LAIDLAW, H.H. and ERICKSON, E.H. (1983). Closed population honey bee breeding. 3. The distribution of sex alleles with gyne supersedure. *J. Apic. Res.* 22:184-190.
- PALÁCIO, M.A. (1991) Efeito da inseminação instrumental e da endogamia na dinâmica de populações de abelhas européias e africanizadas na migração de espermatozoides para a espermateca de rainhas de *Apis mellifera* L. Univ. de São Paulo, Fac. de Med. de Ribeirão Preto (Tese M.S.).
- PINTO de OLIVEIRA, A. (1947). In: "A abelha uruçú". *Chácaras e Quintais*, 76: 214-215.
- QUEZADA-EUAN, J.J.G. & GONZALES-ACERETO, J. 1994. A preliminary study on the development of colonies of *Melipona beecheii* in traditional and rational hives. *Journ. Apic. Res.* 33(3): 167-170.
- ROBERT, W.C. (1944). Multiple mating of queen bees proved by progeny and flight tests. *Gleanings in Bee Culture* 72(6): 255-259.
- RODRIGUES, W; VALLE, R.C. (1964). Ocorrência de ocós em matas debaixo da região de Manaus, Amazonas. Estudo preliminar. *Publ. INPA, Série Botânica*, 16:1-8.
- ROTHSCHILD, L. (1955). The spermatozoa of the Honey-Bee. *Trans. Royal Soc. London*, 107: 289.
- ROUBIK, D.W. (1989). Ecology and natural history of tropical bees. Cambridge, University Press, New York, 514p.
- RUTTNER, F. (1988). Biogeography and Taxonomy of Honeybees. Springer Verlag, Berlin.
- RUTTNER, F., WOYKE, J. and KOENIGER, N. (1973). Reproduction in *Apis cerana*. 2.Reproductive organs and natural insemination. *J. Apic. Res.* 12: 21-34.
- SAKAGAMI, S.F. (1966). Tecniques for the observation of behaviour and social organization of stingless bees by using a special hive. *Papéis avulsos do Depto. Zool. Secr. Agric. S.P.*, 19: 151-162, 14 figs.
- SAKAGAMI, S.F.; MONTENEGRO, M.; KERR, W.E. (1965). Behavioral studies of stingless bees with special references to the oviposition process V. *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lepeletier. *Jour. Fac. Sci. Hokkaido Univ. Ser. VI Zool.* 15(4)578-607.
- SAWADA, Y. and CHANG, M.C. (1964). Tolerance of honey bee sperm to deep freezing. *J. Econ. Ent.* 57(6): 891-892.
- SHIMANUKI, H.; KNOX, D.A. & DE JONG, D. (1991). Bee diseases, parasites and pests. In: *The african honey bee*. Spivak, M.; Fletcher, D.J.C.; Breed M.D. editors. Westview Press, Boulder, Colorado, pp. 238-296.
- SIMPSON, H. (1960). Male genitalia of *Apis* species. *Nature* 185: 56.
- SIMPSON, H. The male genitalia of *Apis dorsata* L. (Hymenoptera: Apidae) (1970). *Proc. R. Entomol. Soc. Lond. A.* 45:169-171.
- SNODGRASS, R.E. (1956). The Anatomy of the Honey Bee. Cornell University Press, Ithaca, N.Y.
- SOMMER, P.G. (1994). Ecologia a serviço das abelhas (*in press*).
- SOMMER, P.G. (1980). Observações sobre colônias naturais de *Melipona quadrifasciata* Lep. que ocupam colméias vazias de *Apis mellifera*. *Ciência e Cultura* 33(5)701-702.
- SOUZA, I.C.; MARTINS, M.A.S. & ALVES, R.M.O. 1994. Criação de abelhas sem ferrão. Salvador, Bahia, BA. 56p.

## 101

- STEINBERGER, E. and STEINBERGER, A. (1975). Spermatogenic function of the testis. Endocrinology, male reproduction system. *American Physiology Society*, Washington, 5:1-19.
- SWAMMERDAM, J. (1958). The book of nature, or the history of insects: Reduced the distinct classes, confirmed by particular instances, displayed in the anatomical analysis of many species. English trans. from the Dutch and Latin original editions by Thomas Floyd. Revised and improved by John Hill London.
- TAMBASCO, A.J. (1979). Processo reprodutivo em *Melipona quadrifasciata* e seu impacto na população geneticamente ativa. *Ciênc. Cult.* (Supl.) 103-4.
- TERADA, Y. (1972). Enxameagem em *Frieseomelitta varia* Lepeletier (Hymenoptera, Apidae). In: Cruz-Landim, C. da; Hebling, N.J.; Lello, E. de & Takahashi, C.S. (eds.). *Homenagem à W. E. Kerr*, Rio Claro, p.293-297.
- TINGEK, S.; MARDAN, M.; RINDERER, T.E.; KOENINGER, N. & KOENINGER, G. (1988). Rediscovery of *Apis vechli* (Maa, 1953): the Saban honey-bee. *Apidologie* 19: 97-102.
- TRIASKO, V.V. (1953). Signs indicating the matings of queens. *Bee Wld.* 34(1): 14.
- TRIASKO, V.V. (1956). Repeated and multiple mating of queens. *Pshelovodstvo*, 33: 43-50.
- VASIL, I.K. & HERRERA-ESTRELLA, L. (1994). Da revolução verde à revolução genética. *O Correioda Unesco*, 22(8): 30-34.
- VELLARD, J. (1939). Une civilization du miel. Les indiens Guaiakys du Paraguay. Ed.: Libraire

- Gallinard, Paris, 1-189, 24 pls. WALKER, I. (1991). Algumas considerações sobre um programa de zoneamento da Amazônia. 2º capítulo de "Bases científicas para estratégias de preservação e desenvolvimento da Amazônia: fatos e perspectivas". Ed. Adalberto L. Val., Roberto Figlionolo, Eliana Feldberg. INPA, Manaus, AM 1: 37-46.
- WALLER, G.D. (1972). Evaluating responses of honey bees to sugar solutions using an artificial-flower feeder. *Ann. Entomol. Soc. Amer.* 65: 857-862.
- WERNER, G. (1964). Untersuchungen iiber die Spermiogenese beim Silberfischchen *Lepisma saccharina* L. *Z. Zellforschg* 63: 880. WHITING, P.W. (1940). Multiple alleles in complementary sex determination of *Habrobracon*. *Genetics* 28: 365-382
- WHITING, P.W. (1943). Sex-linkage in *Pteromatus*. *Am. Natur.* 64: 377-379.
- WIESE, H. (1986). Nova apicultura. 7ª ed. Porto Alegre, Agropecuária, 493p.
- WILLE, A. & OROZCO, E. (1975). Observations on the founding of a new colony of *Trigona cupira* (Hymenoptera, Apidae) in Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 22(2): 253-287.
- WOIKE, J. (1963). What happens to diploid drone larvae in a honeybee colony. *J. Apic. Res.* 2: 73-76.
- WONGSIRI, S.; LIMBIPICHAI, K.; TANGKANASING, P.; MARDAN, M.; RINDERER, T.E.; SYLVESTER, H.A.; KOENINGER, G. & OTIS, G. (1990). Evidence of reproductive isolation confirms that *Apis andreniformis* (Smith, 1858) is a separati species from sympatric *Apis florea* (Fabricius, 1787). *Apidologie* 21:47-52.
- WOYKE, J. & JASINSKI, Z. (1976). The influence of age on the results of instrumental insemination of honey bee queens. *Apidologie* 7(4): 301 -306.
- WOYKE, J. & JASINSKI, Z. (1973). Influence of external conditions on the number of spermatozoa entering the spermatheca of instrumentally inseminated honeybee queens. *J. Apic. Res.* 12(3): 145-149.

- WOYKE, J. (1971). Biology of reproduction as a basis for production of new varieties of honeybees. Final Technical Report. Warsaw, Poland: Warsaw Agricultural University.
- YOKOYAMA, S. & NEI, M. (1979). Population dynamics of sex-determining alleles in honey bees and self-incompatibility alleles in plants. *Genetics* 91: 609-626.
- ZUCOLOTO, F.S. (1994). Aspectos gerais da nutrição de insetos, com especial referência em abelhas. *Anais do 1º Encontro Sobre Abelhas, de Ribeirão Preto, SP*, 1: 27-37.