



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO

ALINE OLIVEIRA DE SOUZA

**INFLUÊNCIA DE VARIÁVEIS ABIÓTICAS SOBRE A PRODUÇÃO DE
SEXUADOS EM COLÔNIAS DA ABELHA *Melipona subnitida* (Apidae, Meliponini)**

MOSSORÓ

2018

ALINE OLIVEIRA DE SOUZA

**INFLUÊNCIA DE VARIÁVEIS ABIÓTICAS SOBRE A PRODUÇÃO DE
SEXUADOS EM COLÔNIAS DA ABELHA *Melipona subnitida* (Apidae, Meliponini)**

Exame de Dissertação

Orientador: Prof. Dr. Michael Hrnčíř

MOSSORÓ

2018

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tornar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

0719i Oliveira de Souza, Aline.
INFLUÊNCIA DE VARIÁVEIS ABIÓTICAS SOBRE A
PRODUÇÃO DE SEXUADOS EM COLÔNIAS DA ABELHA
Melipona subnitida (Apidae, Meliponini) / Aline
Oliveira de Souza. - 2018.
39 f. : il.

Orientador: Michael Hrnecir.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal
Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em
Ecologia e Conservação, 2018.

1. insetos eusociais. 2. abelhas sem ferrão.
3. produção de cria. 4. operárias reprodutoras. I.
Hrnecir, Michael , orient. II. Título.

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.]

ALINE OLIVEIRA DE SOUZA

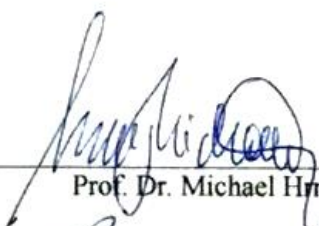
**INFLUÊNCIA DE VARIÁVEIS ABIÓTICAS SOBRE A PRODUÇÃO DE
SEXUADOS EM COLÔNIAS DA ABELHA *Melipona subnitida* (Apidae, Meliponini)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Mestre em Ecologia e Conservação.

Linha de Pesquisa: Ecologia e Conservação de Ecossistemas Terrestres

Defendida em: 27 / 03 / 2018.

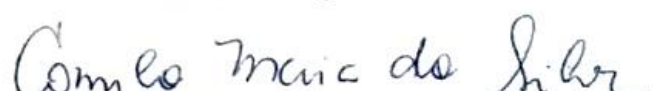
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Michael Hincir



Prof. Dr. Rodrigo Fernandes



Dra. Camila Maia da Silva

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Michael Hrnčíř, muito obrigada por ter aceitado me orientar nesse projeto de mestrado e por toda sua contribuição para minha formação desde a graduação até aqui.

À Dirk Koedam, obrigada pela oportunidade que me deu de iniciar esse mestrado e por suas contribuições para essa dissertação.

A CAPES, obrigada pela concessão da bolsa e à UFRSA, obrigada pelo espaço e pelas condições para que esse trabalho fosse realizado.

A cada membro da banca examinadora, obrigada pelo tempo dedicado à minha dissertação. À Camila Maia, obrigada por mais uma vez aceitar colaborar em minha banca e por suas contribuições desde a graduação até agora. Ao professor Rodrigo Fernandes por aceitar participar da minha banca de defesa do mestrado. E à professora Daniela Florêncio pelas contribuições na minha banca de qualificação.

Ao meu namorado e amigo Fabiano, obrigada por toda parceria, apoio, conselhos, sugestões, ajuda...

À minha família, obrigada por todo incentivo e apoio, e pela segurança de saber que por mais distante que eu esteja não estou sozinha.

Aos colegas e amigos do BeeLab, obrigada por todos os momentos e pelo aprendizado compartilhado. Obrigada principalmente a Sara, Vinício, Paloma e Gustavo que de diferentes formas contribuíram muito com essa dissertação.

Obrigada, a todos os meus amigos e a todos que de alguma forma me ajudaram a seguir. Obrigada especialmente a Elane por toda ajuda e amizade desde a graduação.

RESUMO

Em himenópteros eussociais, incluindo as abelhas, vespas e formigas, as colônias devem priorizar a produção de operárias e investir na produção de sexuais (rainhas e machos) sem que isso comprometa a sobrevivência do grupo. Em ambientes semiáridos, como é o caso do bioma Caatinga, no nordeste do Brasil, a oferta de recursos alimentares durante os períodos de estiagem é extremamente reduzida. Além disso, as condições climáticas podem limitar a atividade de forrageio das operárias fazendo com que as abelhas deixem a colônia apenas quando as condições são minimamente adequadas, o que também influencia os estoques de alimento das colônias que, por sua vez, influenciam a produção de cria. Este estudo teve como objetivo avaliar a influência das variáveis abióticas em curto, médio e longo prazo sobre a produção de sexuais de *Melipona subnitida* (Apidae, Meliponini). As variáveis preditoras consideradas foram: temperatura ambiental (°C) máxima ($T_{\text{máx}}$) e mínima ($T_{\text{mín}}$); umidade relativa do ar (%), máxima ($UR_{\text{máx}}$) e mínima ($UR_{\text{mín}}$) e precipitação acumulada (CHUVA, mm). A produção de cria de duas colônias (A, B) da espécie foi acompanhada ao longo de dois períodos de coleta: 8 de abril a 13 de maio de 2016 e 13 de abril a 12 de maio de 2017. A possível influência das variáveis abióticas sobre a produção foi analisada de três maneiras: (1) influência de longo prazo, que considerou diferenças entre as variáveis abióticas e as diferenças na produção de cria entre o primeiro e o segundo período do estudo; (2) influência de médio prazo, sendo a relação entre a produção de cada disco de cria e as variáveis abióticas referentes ao período de construção do disco; e (3) influência imediata, sendo a relação entre a produção diária de células de cria e as variáveis abióticas referentes a cada dia de produção. Não foi possível verificar influência das variáveis abióticas sobre a produção de cria da colônia B, cuja produção de machos foi superior à colônia A nos dois períodos. A alta produção de machos está possivelmente relacionada com um domínio temporário das operárias sobre a produção (operárias por não serem fecundadas produzem apenas machos, que são haplóides). É possível que as condições ambientais tenham uma menor influência sobre as colônias quando há ocorrência de reprodução pelas operárias, que aproveitam as chances de aumentar o sucesso reprodutivo individual. Em longo prazo, a colônia A apresentou um aumento na produção de machos no período com temperaturas mais baixas e com maior precipitação e umidade relativa, provavelmente resultante da maior oferta de alimento na Caatinga sob essas condições. A produção de rainhas e operárias se manteve estável entre os dois períodos. Em médio prazo, um ambiente externo mais quente e úmido proporcionou um aumento na produção de rainhas e operárias, ao passo que a produção de machos aumentou em um ambiente mais frio e seco. As condições de menor umidade e precipitação, menos favoráveis à oferta de recursos florais na Caatinga, podem aumentar o número de operárias que deixam de forragear e com isso dificultar o controle da rainha sobre a produção de cria. Isso pode ser usado pelas operárias como uma oportunidade para colocarem ovos reprodutivos, fazendo aumentar a produção de machos sob tais condições ambientais. Não foi observada influência imediata das variáveis abióticas sobre a produção de cria. As análises realizadas neste estudo mostram haver influência dos parâmetros ambientais sobre a produção de rainhas, machos e operárias de *M. subnitida*. No entanto, essa influência ocorre de maneiras distintas conforme a escala de tempo considerada e depende de condições intrínsecas à colônia, como, por exemplo, a diminuição do controle das rainhas sobre a produção de cria.

Palavras-chave: insetos eusociais; abelhas sem ferrão, produção de cria; operárias reprodutoras.

ABSTRACT

In eusocial Hymenoptera, including bees, ants and wasps, colonies need to prioritize the production of workers and invest in production of sexual offspring (queens and males) without compromising the group survival. In semi-arid environments, such as the Caatinga biome in north-eastern Brazil, the abundance of food sources is extremely reduced during drought periods. Additionally, climatic conditions may limit the foraging activity of workers. Thus, food collectors leave the colony only when the environmental conditions are minimally suitable. The reduction of foraging activity influences the food intake into the colonies, which, in turn, influence the brood production of the colonies. The aim of this study was to evaluate the short-, medium-, and long-term influence of abiotic parameters on sexual offspring production of stingless bee *Melipona subnitida* (Apidae, Meliponini). The abiotic parameters evaluated were: maximum and minimum environmental temperature (Tmax, Tmin); maximum and minimum relative humidity (URmax, URmin), and accumulated rainfall (CHUVA). The brood production of two colonies (A, B) of *M. subnitida* was monitored during two periods of data collection: April 08 to May 13, 2016, and April 13 to May 12, 2017. The possible influence of the abiotic parameters on production was analysed in three ways: (1) long-term influence, which considered differences between abiotic parameters and differences in breeding production between the first and second period; (2) medium-term influence, which is the relation between the production of each brood comb and the abiotic parameters during its construction; and (3) immediate influence, which is the relationship between the daily brood cells production and the abiotic parameters on each day of production. We found no influence of abiotic parameters on the brood production of colony B, whose males production was superior to colony A in both experimental periods. The high male production was presumably related to a temporary peak in worker reproduction, who are not fertilized, and, therefore, can only produce (haploid) males. It is possible that abiotic conditions have a reduced influence on the colonies brood production during periods with elevated worker reproduction, who take advantage of the chances of increasing individual fitness. Concerning the long-term influences of abiotic parameters, we observed an increase in male production by colony A in the second experimental period, which was characterised by lower ambient temperatures, higher precipitation, and higher relative humidity. This result was probably due to an elevated food supply under these conditions. Both the queen and worker production remained stable between the two periods. Concerning the medium-term influences of abiotic parameters, a warmer and wetter environment resulted in an increase in the production of queens and workers, whereas the production of males increased in a cooler and dry environment. The lower humidity and precipitation conditions, less favourable to the food supply in the Caatinga, presumably leads to an increase in the number of workers within the nest owing to a temporal reduction of foraging activity. This may diminish the queen's control over brood production and can be used by workers as an opportunity to lay reproductive eggs, increasing the production of males under such environmental conditions. There was no immediate influence of abiotic parameters on brood production. Our analysis demonstrates the influence of abiotic parameters on the production of queens, males and workers of *M. subnitida*. However, this influence occurs in different ways according to the time scale considered and depends on colony intrinsic conditions.

Key words: eusocial insects; stingless bees, environmental parameters; breeding production; reproductive workers.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	–	Discos de cria experimentais de <i>M. subnitida</i>	17
Figura 2	–	Produção de cria das colônias A e B no primeiro período do estudo (2016)	21
Figura 3	–	Produção de cria das colônias A e B no segundo período do estudo (2017).	22
Figura 4	–	Temperatura ambiental durante o estudo	23
Figura 5	–	Umidade relativa do ar durante o estudo	24
Figura 6		Produção de cria na colônia A	25
Figura 7		Produção de cria na colônia B	26

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	–	Tabela 1 – Influência do ambiente abiótico sobre a produção de cria em médio prazo	27
Tabela 2	–	Tabela 2 – Influência imediata do ambiente abiótico sobre a produção de cria	28

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	11
2	MATERIAIS E MÉTODOS.....	15
2.1	Área de estudo e espécie estudada.....	15
2.2	Períodos de coleta de dados.....	16
2.3	Mapeamento dos discos de cria.....	16
2.4	Variáveis ambientais.....	18
2.5	Análise dos dados.....	18
3	RESULTADOS.....	19
3.1	Comparação da oviposição diária entre as colônias A e B.....	19
3.2.	Influência dos parâmetros ambientais em longo prazo.....	23
3.2.1	Diferenças nos parâmetros ambientais entre os dois períodos de estudo.....	23
3.2.2	Diferenças na oviposição das colônias entre os dois períodos do estudo.....	24
3.3	Influência dos parâmetros ambientais em médio prazo.....	26
3.4	Influência imediata dos parâmetros ambientais.....	28
4.	DICUSSÃO.....	29
4.1	Diferenças entre colônias com respeito à produção de cria.....	29
4.2	Influência dos parâmetros ambientais em longo prazo.....	30
4.3	Influência dos parâmetros ambientais em médio prazo.....	31
4.4	Influência imediata dos parâmetros ambientais.....	32
5.	CONCLUSÃO.....	33
6	REFERÊNCIAS.....	33

1 INTRODUÇÃO

Algumas poucas espécies de insetos alcançaram um grau de cooperação social tão elevado que possibilitou sua biomassa superar a de todas as demais espécies de insetos do planeta (WILSON; HÖLLDOBLER, 2005; HÖLLDOBLER; WILSON, 2008). Por causa da sua elevada socialidade essas espécies são chamadas de eussociais, ou, verdadeiramente sociais. De acordo com o proposto por Wilson (1971), uma sociedade de insetos precisa apresentar ao menos três características para ser considerada eussocial: (1) indivíduos de uma mesma espécie devem cooperar no cuidado com os imaturos; (2) deve haver uma divisão entre uma ou mais castas de indivíduos mais ou menos estéreis que cooperam em favor da reprodução de uma casta representada por um ou alguns poucos indivíduos férteis dessa sociedade; e (3) deve haver uma sobreposição de ao menos duas gerações, com indivíduos que em algum estágio de suas vidas irão realizar atividades necessárias para a manutenção da colônia.

Em insetos da ordem Hymenoptera, que inclui as vespas, formigas e abelhas, as colônias das espécies eussociais são compostas por machos reprodutores e por fêmeas que se dividem em duas castas: as operárias, que normalmente não se reproduzem, e uma ou algumas poucas rainhas, que representam a casta reprodutiva da colônia (WILSON, 1971). Os machos e as rainhas não realizam atividades de manutenção da colônia. O único papel dos machos é tentar acasalar e com isso, contribuir com o sucesso reprodutivo de sua própria colônia. Enquanto que a rainha, após acasalar será a responsável ao longo de toda sua vida apenas pela produção da cria. As operárias por sua vez, são encarregadas de todas as atividades necessárias para a manutenção da colônia (WILSON, 1971; HÖLLDOBLER; WILSON, 2009). Quando jovens, elas realizam atividades internas, como construção e provisionamento das células, alimentação da rainha e dos indivíduos mais jovens e limpeza do ninho. Depois disso, passam a realizar atividades de defesa da colônia e a coleta de alimento no ambiente externo (WILSON, 1971; WILLE, 1983). As operárias são morfologicamente incapazes de copular e possuem capacidade de reprodução limitada (WILSON, 1971). Sob determinadas condições algumas operárias desenvolvem seus ovários e são capazes de colocar ovos reprodutivos que por não poderem ser fecundados irão produzir apenas indivíduos haplóides (WILSON, 1971; ENGELS; IMPERATRIZ-FONSECA, 1990).

Em himenópteros, a produção de haplóides resulta em indivíduos machos, enquanto que as fêmeas são todas formadas a partir de ovos diplóides. Esse sistema de determinação do sexo é chamado de haplodiplóide (HEIMPEL; DE BOER, 2008). Durante o acasalamento, a rainha armazena os espermatozoides liberados pelo macho em uma estrutura chamada de espermateca; eles serão utilizados ao longo da sua vida apenas para produção de outras fêmeas. Nesse caso, antes da liberação do óvulo pela rainha, ele é fertilizado com espermatozoides armazenados, produzindo assim, um óvulo diploide. Já os machos, são produzidos a partir de ovos não fecundados, dessa forma, não possuem a contribuição de um progenitor masculino, o que permite que eles sejam produzidos também pelas operárias (OSTER; WILSON, 1971; ALCOCK, 2016).

A produção de indivíduos sexuados em himenópteros eussociais ocorre em geral durante curtos períodos ao longo do ano (HOLDOBLER; WILSON, 1990). Em abelhas do gênero *Apis* (Apidae, Apini), por exemplo, as rainhas e os machos são produzidos de acordo com a necessidade de substituição da rainha-mãe ou em condições climáticas que propiciem que a colônia se divida dando origem a uma nova colônia (reprodução colonial) (FREE; WILLIAMS, 1975; PAGE; METCALF, 1984). Em espécies de abelhas sem ferrão (Apidae, Meliponini), no entanto, os sexuados costumam ser produzidos com maior frequência independente da necessidade de substituição da rainha ou reprodução da colônia. Esse grupo de abelhas eussociais é composto por mais de 500 espécies distribuídas principalmente em regiões tropicais do planeta, que vivem em colônias perenes (MICHENER; 2013). Devido à relativa estabilidade dos ambientes tropicais a produção de cria não é tão afetada pelas variações nas ofertas de alimento no ambiente, o que permite que os sexuados sejam produzidos com maior frequência (MOO-VALLE et al., 2001; VELTHUIS et al., 2005). Ainda assim, a produção de operárias costuma ser priorizada, uma vez que elas representam a força de trabalho da colônia e são essenciais para sua sobrevivência, e também para que a colônias tenha condições de se reproduzir (OSTER; WILSON, 1978; VAN VEEN; SOMMEIJER, 2000; MOO-VALLE et al., 2001).

Na maioria das espécies de abelhas sem ferrão a produção de rainhas representa menos de um por cento do total de fêmeas produzidas (MICHENER, 1974; ENGELS; IMPERATRIZ-FONSECA, 1990; SANTOS-FILHO et al., 2006). Nessas espécies a casta é determinada pela quantidade de alimento recebido pela fêmea em desenvolvimento. As fêmeas que recebem um aporte maior de alimento se diferenciam em rainhas (MICHENER, 1974; SAKAGAMI, 1982). Com isso, as operárias responsáveis pela

alimentação da cria conseguem controlar, inibir ou estimular a formação de novas rainhas (MICHENER, 1974; VELTHUIS; SOMMEIJER, 1991). Entre as abelhas sem ferrão do gênero *Melipona*, no entanto, a produção de rainhas pode alcançar 25% do total de fêmeas (MICHENER, 1974). Isso pode ser visto como um desperdício, devido ao fato de que são poucas as chances de que uma rainha virgem venha a substituir a rainha-mãe da colônia ou enxamear formando sua própria colônia (evento que ocorre menos de uma vez por ano em colônia de abelhas sem ferrão), o que faz com que a maioria das rainhas virgens seja morta pelas operárias com poucos dias de vida (WENSELEERS; RATNIEKS, 2004; WENSELEERS et al., 2004; JARAU et al., 2009). Por outro lado, a grande produção de rainhas pode representar uma adaptação evolutiva desse gênero para garantir a presença de uma rainha virgem em situações em que rainha-mãe precise ser substituída (MICHENER, 1974). A produção elevada de rainhas no gênero *Melipona* é possível porque nesse grupo o componente genético é um fator importante na determinação da casta o que limita o papel das operárias nesse processo. De acordo com o proposto por Kerr (1950), todas as fêmeas duplo ou triplo heterozigotas (dependendo da espécie) podem se tornar rainhas desde que recebam uma quantidade adequada de alimento. Se a quantidade de alimento não for suficiente, a fêmea se diferenciara em operária mesmo que possua as características genéticas para se tornar rainha (HARTFLEDER et al., 2006; CARDOSO-JUNIOR et al. 2017).

Em algumas espécies de abelhas sem ferrão a produção de machos é mais restrita a certos períodos do ano, mas na maioria delas essa restrição a períodos determinados não existe, embora a produção de machos costume crescer quando os estoques de alimento nas colônias aumentam (VELTHUIS et al., 2005). Entre as colônias de uma mesma espécie, a produção de machos não costuma ocorrer de maneira sincronizada e, em geral, apresenta picos que variam entre colônias com relação à frequência, à duração e ao tempo em que ocorrem. Esses picos são muitas vezes associados com a produção de ovos reprodutivos por algumas operárias da colônia, que por não serem fecundados produzem apenas machos (CHINH et al., 2003; SOMMEIJER et al., 2003). Esse comportamento é relativamente comum em abelhas sem ferrão (VOLLET-NETO et al. 2018) e pode ser interpretado como uma forma das operárias competirem com a rainha na tentativa de aumentarem seu próprio sucesso reprodutivo (TÓTH et al., 2004).

Nas espécies de himenópteros em que a rainha é inseminada uma única vez, como é o caso na maioria das espécies de abelhas sem ferrão, as operárias compartilham mais

genes com os machos produzidos por outras operárias (37,5%) do que com os machos produzidos pela rainha-mãe (25%), o que faz com que elas reduzam o controle sobre a produção de ovos umas das outras (PETERS et al., 1999; WENSELEERS; RATNIEKS, 2007). Em abelhas do gênero *Apis*, por outro lado, a rainha pode ser inseminada por vários machos. Isso leva a uma redução no compartilhamento genético entre as operárias e seus sobrinhos (compartilhamento de aproximadamente 12,5%). Nesse caso, a baixa proximidade genética entre as operárias e seus sobrinhos estimula a inibição da produção de ovos reprodutivos entre operárias, o que dá um maior controle para a rainha sobre a produção de machos da colônia (PETERS et al., 1999; WENSELEERS; RATNIEKS, 2007).

Nas abelhas sem ferrão, em geral, a produção de cria costuma aumentar quando há maior estoque de alimento dentro das colônias, característica que por sua vez é influenciada pela disponibilidade de espécies em floração no ambiente (ROUBIK, 1982; CHINH; SOMMEIJER, 2005; MAIA-SILVA et al., 2016). Quando a quantidade de alimento é reduzida, a produção de cria também costuma diminuir, e as colônias priorizam a produção de operárias para que a sua sobrevivência não seja comprometida (OSTER; WILSON, 1978; MOO-VALLE et al., 2001). Portanto, em ambientes em que a oferta de alimento sofre muita variação ao longo do tempo, a produção de indivíduos sexuais e de operárias pelas colônias tende a variar mais do que em ambientes onde a oferta é mais constante (VAN BENTHEM et al. 1994; CHINH et al., 2003).

Em ambientes semiáridos, como é o caso do bioma Caatinga no nordeste do Brasil, a oferta de recursos alimentares durante os períodos de estiagem é extremamente reduzida (MAIA-SILVA et al., 2012; MAIA-SILVA et al., 2015). Além disso, as condições climáticas da região podem limitar a atividade de forrageio das operárias fazendo com que as abelhas deixem a colônia apenas quando as condições ambientais são minimamente adequadas, o que também influencia os estoques de alimento dentro das colônias (MAIA-SILVA et al., 2015). As altas temperaturas associadas à ocorrência baixa e irregular de chuvas da Caatinga (PRADO, 2003) fazem com que a diversidade de abelhas sociais seja relativamente baixa quando comparada a outros biomas brasileiros (ZANELLA; MARTINS, 2003). Algumas espécies, no entanto, conseguiram se adaptar às condições climáticas desse ambiente e ajustam suas atividades para conseguir manter vivas suas colônias durante os períodos de maior escassez (ZANELLA; MARTINS, 2003; MAIA-SILVA et al., 2015; MAIA-SILVA et al., 2016).

Melipona subnitida é uma espécie de abelha sem ferrão nativa do bioma Caatinga (CARVALHO et al., 2017). Colônias dessa abelha reduzem significativamente a coleta de alimento e, conseqüentemente, a produção de cria em períodos de escassez de recursos no ambiente (MAIA-SILVA et al., 2015; MAIA-SILVA et al., 2016). Nas épocas curtas e imprevisíveis de chuva, as colônias reagem imediatamente e acumulam rapidamente altas quantidades de alimento, frequentemente disponível apenas durante um tempo limitado (MAIA-SILVA et al., 2015). Em longo prazo, o aumento da disponibilidade de alimento estocado dentro dos ninhos causa um aumento geral na produção de cria (MAIA-SILVA et al., 2016) e deveria também influenciar a produção de machos e rainhas (VAN VEEN et al., 2004; CHINH; SOMMEIJER, 2005; VELTHUIS et al., 2005). Enquanto que, em médio ou curto prazo as condições climáticas podem influenciar a atividade de forrageio e com isso influenciar a quantidade de operárias que deixam a colônia para forragear ou que permanecem dentro da colônia quando as condições de forrageio são pouco favoráveis (MAIA-SILVA et al., 2015). Com mais operárias dentro da colônia em condições pouco vantajosas para o forrageio, pode ser mais difícil para a rainha controlar a postura de ovos pelas operárias (SOMEIJER et al., 1984 apud SOMEIJER et al., 1999; TÓTH et al., 2004) levando dessa forma, a um aumento na produção de machos.

Este estudo teve como o objetivo avaliar a influência dos parâmetros ambientais de curto, médio e longo prazo sobre a produção de sexuais de *M. subnitida*. As hipóteses do estudo foram: (1) a maior quantidade de alimento disponível em anos com mais precipitação resulta em um aumento geral da produção de sexuais (efeito de longo prazo); (2) a produção de machos aumenta sob condições ambientais que levam a uma redução da atividade forrageira das colônias, o que proporciona maiores oportunidades para oviposição por parte das operárias (efeito de médio prazo; efeito imediato).

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 ÁREA DE ESTUDO E ESPÉCIE ESTUDADA

O estudo foi realizado no laboratório do Centro Tecnológico de Apicultura e Meliponicultura (CETAPIS) localizado na Fazenda Experimental Rafael Fernandes, zona rural de Mossoró, Rio Grande do Norte (5° 03' 40" de latitude Sul; 37° 23' 51" de longitude

Oeste; altitude 72 m). A fazenda pertencente à Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA) e possui áreas utilizadas para o cultivo experimental de espécies vegetais além de remanescentes de caatinga arbóreo-arbustiva (MAIA-SILVA et al., 2014).

No estudo foram utilizadas duas colônias de *Melipona subnitida* Ducke, 1910 (Apidae, Meliponini). Essa espécie de abelha sem ferrão, conhecida popularmente como jandaíra, tem sua distribuição restrita a região nordeste do Brasil, ocorrendo principalmente no bioma Caatinga (CAMARGO; PEDRO, 2007; CARVALHO et al., 2017). No ambiente natural a espécie pode ser encontrada nidificando em cavidades pré-existentes em árvores (MARTINS et al., 2004). Além disso, *M. subnitida* está entre as espécies mais utilizadas na atividade de meliponicultura da região (FREITAS; BOMFIM, 2017). As colônias (A, B) foram instaladas em caixas de observação dentro do laboratório e conectadas ao ambiente externo através de tubos plásticos que permitiam a circulação das abelhas entre a caixa e o exterior. As caixas eram cobertas com placas de vidro removível, possibilitando a observação e manipulação interna das colônias quando necessário.

2.2 PERÍODOS DE COLETA DE DADOS

Os dados foram coletados entre 8 de abril a 13 de maio de 2016 e entre 13 de abril e 12 de maio de 2017. Os dois períodos de coleta foram marcados por mudanças ambientais importantes. No ano 2016 a região vinha sendo afetada por um longo período de estiagem iniciado em 2012. Apenas nos meses finais de 2016 as chuvas retornaram com volume dentro do esperado para os períodos considerados chuvosos na região e se estenderam até meados de 2017 (MARENGO et al., 2017).

2.3 MAPEAMENTO DOS DISCOS DE CRIA

Com o objetivo de avaliar a influência das variáveis ambientais sobre a produção de rainhas, machos e operárias de *M. subnitida*, a produção de discos de cria das colônias A e B foi acompanhada ao longo dos dois períodos de coleta, do primeiro ao último dia da construção de cada disco. Para padronizar o tamanho dos discos foi utilizado delimitador circular de plástico (revestido com cera de abelha) de aproximadamente 10 cm de diâmetro

em volta de cada disco em construção (Figura 1A). No primeiro período de coleta (2016), foram monitorados um total de oito discos de cria, sendo quatro discos construídos pela colônia A e quatro discos construídos pela colônia B. No segundo período (2017), foram monitorados ao todo 9 discos, sendo quatro discos construídos pela colônia A e cinco pela colônia B. A cada vinte e quatro horas foi avaliada a construção de novas células de cria (apenas células já operculadas) e foram anotadas sua posição no disco e a data de construção. Trinta e quatro dias após o início da construção de cada disco de cria, o respectivo disco foi removido da colônia e suas células foram desoperculadas (Figura 1B). Nesse período os indivíduos imaturos de *M. subnitida* já tinham atingidos o estágio de pupa e, então, era possível diferenciar entre rainhas, machos ou operárias a partir da morfologia da cabeça (Figura 1D-F). Após a identificação dos indivíduos, as células foram recobertas com cerume (Figura 1C), um material maleável composto de cera e resina vegetal que é produzido pelas abelhas sem ferrão para construção de estruturas coloniais (ROUBIK, 2006). Nesse caso, foi utilizado o cerume das lamelas que costumam envolver as células de cria. Depois de recobertos, os discos foram devolvidos à colônia para que os indivíduos pudessem finalizar seu desenvolvimento (KOEDAM, 2003). Relacionando as informações obtidas através do monitoramento inicial (data e posição no disco de cria) com as informações sobre a identidade das pupas em cada uma das células mapeadas (identificação dos indivíduos e posição no disco de cria) foi possível identificar a data da oviposição das rainhas, dos machos e das operárias presentes em cada disco.

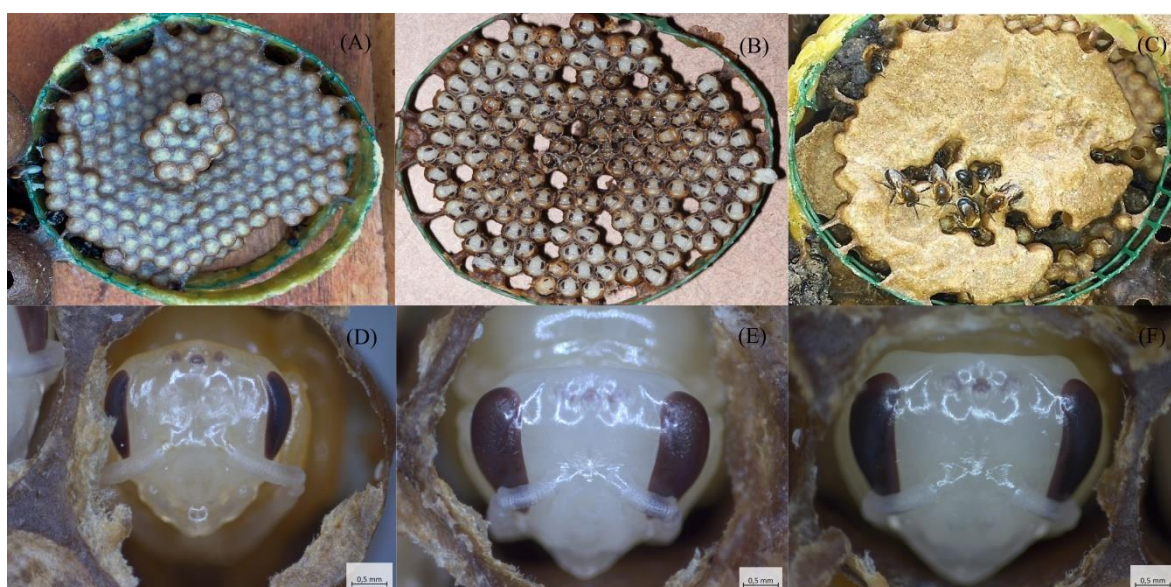


Figura 1 – Discos de cria experimentais de *M. subnitida*. (A) Delimitador utilizado para padronizar o tamanho dos discos de cria; (B) Disco de cria com células desoperculadas;

(C) Disco de cria recoberto com cerume e devolvido à colônia; Pupas de (D) rainha, (E) macho e (F) operária de *M. subnitida* dentro de células abertas. Nas imagens é possível observar diferenças na morfologia das cabeças.

2.4 VARIÁVEIS AMBIENTAIS

As variáveis abióticas avaliadas nesse estudo foram obtidas através da estação meteorológica localizada na Fazenda Experimental Rafael Fernandes e através da estação meteorológica do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) no município de Mossoró (Estação INMET Mossoró-A318), localizada a aproximadamente 15 km da Fazenda Experimental. A estação situada na Fazenda Experimental possui dados disponíveis a partir de 25 de março de 2016, por isso, os dados que correspondem a períodos anteriores foram obtidos do INMET. As variáveis consideradas como preditores abióticos para a produção de cria foram: a temperatura ambiental (°C) máxima ($T_{\text{máx}}$) e mínima ($T_{\text{mín}}$); a umidade relativa do ar (%), máxima ($UR_{\text{máx}}$) e mínima ($UR_{\text{mín}}$) e a precipitação acumulada (CHUVA, mm).

2.5 ANÁLISE DOS DADOS

Possíveis diferenças entre a produção de cria das colônias A e B foram avaliadas através de testes *t* de *Student*, comparando a produção diária de machos, rainhas e operárias e a produção diária total de cria entre as colônias no primeiro e no segundo período do estudo.

A possível influência dos parâmetros ambientais sobre a produção de rainhas, machos e operárias foi analisada de três maneiras distintas: (1) influência de longo prazo, que considerou diferenças entre os parâmetros ambientais e as diferenças na produção de cria entre o primeiro e o segundo período de coleta; (2) influência de médio prazo, sendo a relação entre a produção de cada disco de cria e os parâmetros ambientais referentes ao período de construção do disco; e (3) influência imediata, sendo a relação entre a produção diária de células de cria e os parâmetros ambientais referentes a cada dia de produção.

Para avaliar a possível influência de longo prazo das variáveis abióticas sobre a produção de rainhas, machos e operárias, foram comparados os valores abióticos diários ($T_{\text{máx}}$, $T_{\text{mín}}$, $UR_{\text{máx}}$, $UR_{\text{mín}}$) e a produção diária de cria de cada colônia entre os dois períodos experimentais através de testes t de Student. A precipitação acumulada (CHUVA) foi comparada entre os dois períodos através de um teste Chi-quadrado. Devido à possível influência das condições climáticas anteriores aos períodos de coleta sobre a disponibilidade de alimento no ambiente e, conseqüentemente, sobre o alimento estocado dentro dos ninhos e a produção de cria, os valores abióticos utilizados para essa análise incluíram 120 dias antes dos períodos experimentais para CHUVA e 15 dias para $T_{\text{máx}}$, $T_{\text{mín}}$, $UR_{\text{máx}}$, e $UR_{\text{mín}}$.

As possíveis influências de médio prazo e imediatas dos parâmetros ambientais sobre a produção de cria foram avaliadas através de modelos de regressões lineares múltiplas (*Multiple Linear Regression Analysis*). Análises do melhor subconjunto (*Best Subset Regression*) identificaram a combinação linear dos preditores abióticos que melhor descrevia a variação na produção de cria, utilizando o valor C_p de Mallows como critério de escolha do modelo (menor valor de C_p de Mallows). Os preditores abióticos foram $T_{\text{máx}}$, $T_{\text{mín}}$, $UR_{\text{máx}}$, $UR_{\text{mín}}$ e CHUVA (influência de médio prazo: valores referentes ao período da construção do respectivo disco de cria; influência imediata: valores referentes ao dia avaliado). As variáveis dependentes foram as porcentagens de rainhas, machos e operárias produzidos no respectivo disco de cria (resposta de médio prazo) ou a cada dia (resposta imediata). As análises de regressão indicaram a magnitude da relação entre os descritores abióticos e a variação na produção de cria (coeficiente de determinação ajustado, R^2_{ADJ}) e o nível de significância (P) de cada modelo. Todas as análises foram feitas no software SigmaPlot for Windows 12.5. O nível de significância foi $P \leq 0,05$.

3 RESULTADOS

3.1 COMPARAÇÃO DA OVIPOSIÇÃO DIÁRIA ENTRE AS COLÔNIAS A E B

A produção diária total de cria (número total de células produzidas por dia) não diferiu significativamente entre as duas colônias em ambos os períodos estudados (Figura 2 e 3D) (2016: colônia A, $19,4 \pm 5,6$ células/dia; colônia B, $20,2 \pm 5,1$ células/dia; teste- t : $t_{42} = -0,45$; $P = 0,652$; 2017: colônia A, $26,2 \pm 5,1$ células/dia; colônia B, $23,1 \pm 5,8$

células/dia; teste- t : $t_{40} = 1,84$; $P = 0,074$). No entanto, as duas colônias apresentaram diferenças significativas com relação à produção diária de rainhas, macho e operárias nos dois períodos do estudo, sendo que a colônia A produziu um número maior de rainhas e operárias, enquanto que a colônia B produziu um número maior de machos em ambos os períodos de estudo (Figuras 2 e 3 A-B) (rainhas: 2016: colônia A, $2,1 \pm 1,6$ rainhas/dia; colônia B, $1,0 \pm 0,9$ rainhas/dia; teste- t : $t_{42} = 2,80$; $P = 0,008$; 2017: colônia A, $2,5 \pm 1,4$ rainhas/dia; colônia B, $1,0 \pm 1,2$ rainhas/dia; teste- t : $t_{40} = 3,58$; $P < 0,001$; machos: 2016: colônia A, $2,8 \pm 3,7$ machos/dia; colônia B, $11,0 \pm 6,4$ machos/dia; teste- t : $t_{42} = -5,36$; $P < 0,001$; 2017: colônia A, $8,4 \pm 5,8$ machos/dia; colônia B, $13,1 \pm 5,3$ machos/dia; teste- t : $t_{40} = -2,75$; $P = 0,009$; operárias: 2016: colônia A, $14,5 \pm 5,2$ operárias/dia; colônia B, $8,3 \pm 4,4$ operárias/dia; teste- t : $t_{42} = 4,17$; $P < 0,001$; 2017: colônia A, $15,4 \pm 6,6$ operárias/dia; colônia B, $9,1 \pm 5,6$ operárias/dia; teste- t : $t_{40} = 3,40$; $P = 0,002$).

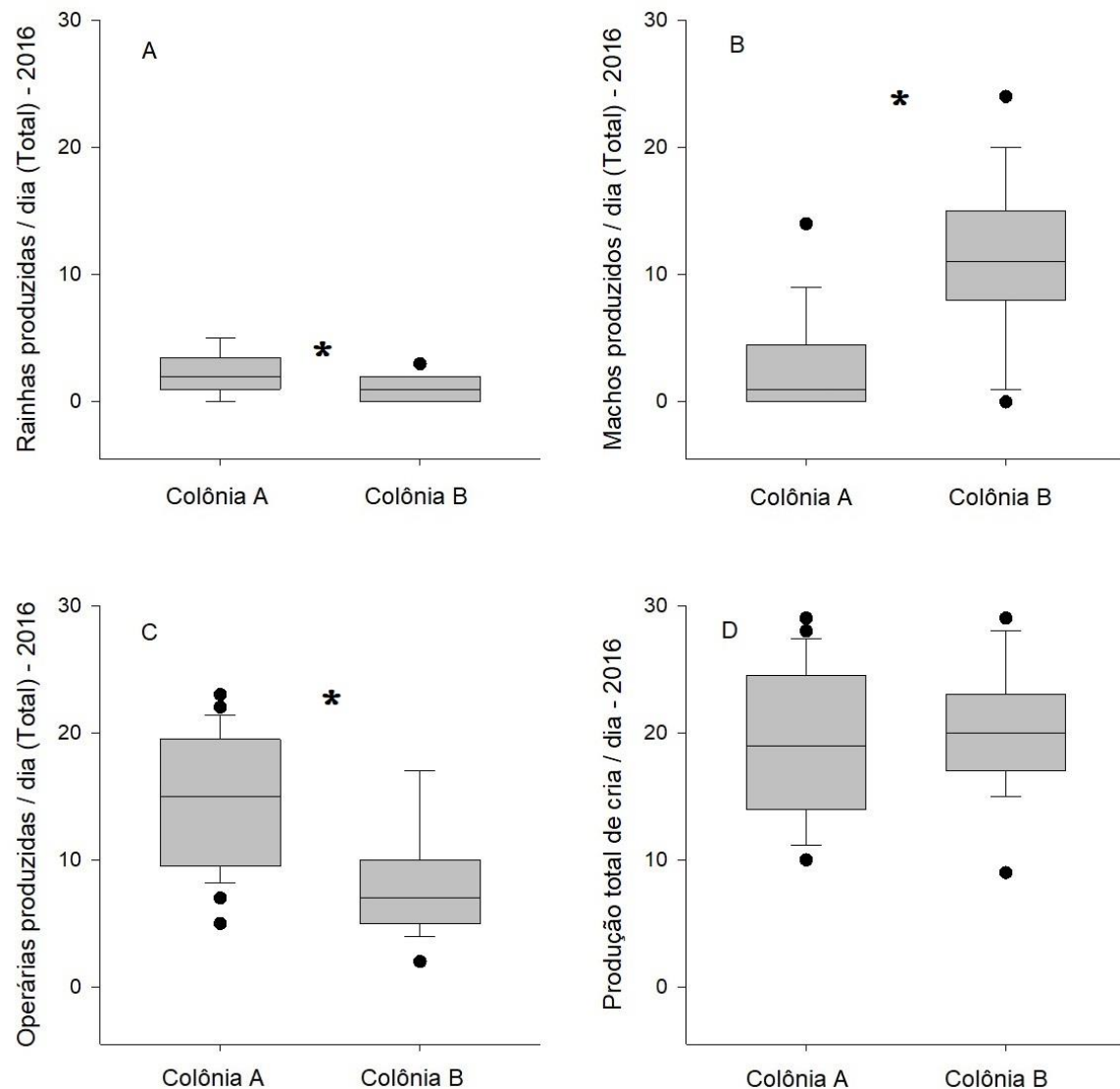


Figura 2 – Produção de cria das colônias A e B no primeiro período do estudo (2016). Comparação entre a produção de cria das colônias A e B com respeito ao total de rainhas (A), machos (B), operárias (C) e produção total de cria (D) no primeiro período do estudo (2016). Nos *boxplots*, as caixas indicam a distribuição de 50 % dos dados, as linhas dentro das caixas indicam a mediana, as hastes delimitam a distribuição de 80 % dos dados e as esferas indicam os valores extremos (*outliers*). Asteriscos indicam diferenças significativas (teste *t* de Student, $P \leq 0,05$) entre as duas colônias.

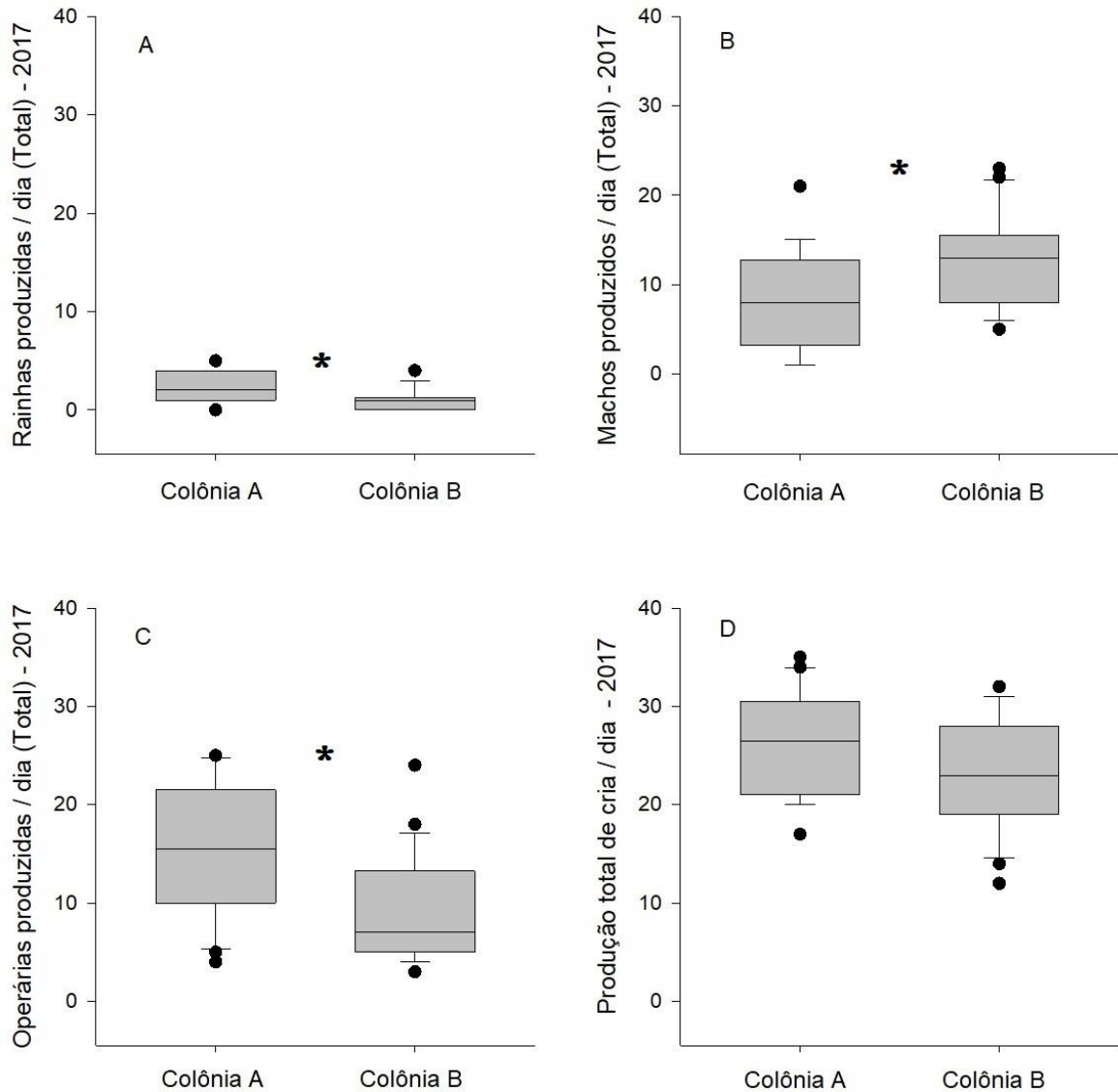


Figura 3 – Produção de cria das colônias A e B no segundo período do estudo (2017). Comparação entre a produção de cria das colônias A e B com respeito ao total de rainhas (A), machos (B), operárias (C) e produção total de cria (D) no segundo período do estudo (2017). Nos *boxplots*, as caixas indicam a distribuição de 50 % dos dados, as linhas dentro das caixas indicam a mediana, as hastes delimitam a distribuição de 80 % dos dados e as esferas indicam os valores extremos (*outliers*). Asteriscos indicam diferenças significativas (teste *t* de Student, $P \leq 0,05$) entre as duas colônias.

3.2 INFLUÊNCIA DOS PARÂMETROS AMBIENTAIS EM LONGO PRAZO

3.2.1 Diferenças nos parâmetros ambientais entre os dois períodos de estudo

Houve diferenças significativas nos parâmetros ambientais entre o primeiro e o segundo período do estudo. O segundo período apresentou uma redução das temperaturas tanto para $T_{\text{máx}}$ quanto para $T_{\text{mín}}$ e um aumento da $UR_{\text{máx}}$ e $UR_{\text{mín}}$ (Figuras 4 e 5A-B) (2016: $T_{\text{máx}}$, $34,98 \pm 1,95$; 2017: $T_{\text{máx}}$, $34,19 \pm 1,28$ $t_{92} = 2,29$; $P = 0,012$; 2016: $T_{\text{mín}}$, $23,58 \pm 1,25$; 2017: $T_{\text{mín}}$, $23,11 \pm 0,85$; teste- t : $t_{92} = 2,1$; $P = 0,019$; 2016: $UR_{\text{máx}}$, $92,94 \pm 4,57$; 2017: $UR_{\text{máx}}$, $95,32 \pm 2,17$; teste- t : $t_{92} = -3,15$; $P = 0,001$; 2016: $UR_{\text{mín}}$, $47,7 \pm 9,15$; 2017: $UR_{\text{mín}}$, $55,07 \pm 8,21$ $t_{92} = -4,08$; $P < 0,001$). Além disso, o segundo período apresentou um valor acumulado de precipitação de 453 mm, significativamente maior ($X^2 = 25,99$; $P < 0,001$) que o total acumulado no primeiro, que foi de 312 mm.

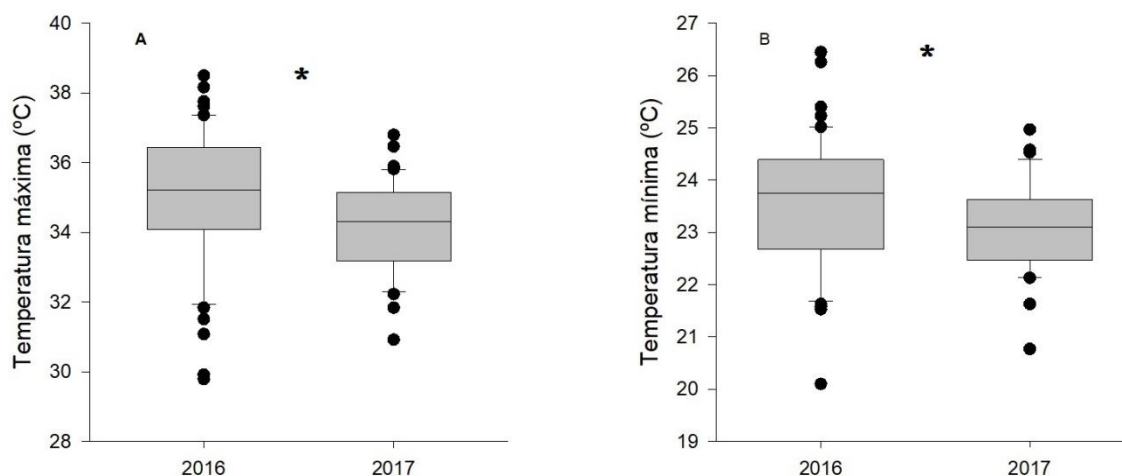


Figura 4 – Temperatura ambiental durante o estudo. Comparação dos valores de $T_{\text{máx}}$ (A) e $T_{\text{mín}}$ (B) referentes aos dois períodos do estudo (2016 e 2017). Nos *boxplots*, as caixas indicam a distribuição de 50 % dos dados, as linhas dentro das caixas indicam a mediana, as hastes delimitam a distribuição de 80 % dos dados e as esferas indicam os valores extremos (*outliers*). Asteriscos indicam diferenças significativas (teste t de Student, $P \leq 0,05$) entre os dois períodos de estudo.

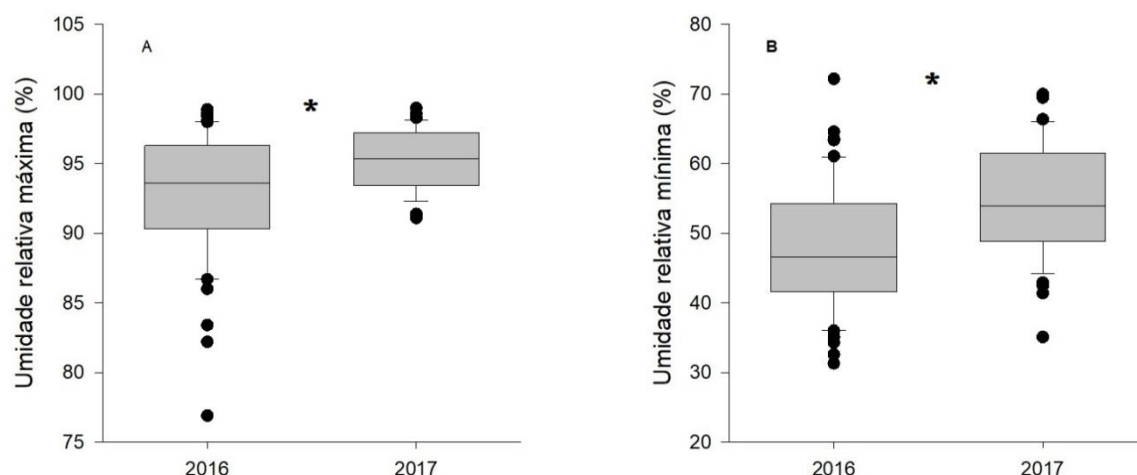


Figura 5 – Umidade relativa do ar durante o estudo. Comparação dos valores de UR_{máx} (A) e UR_{mín} (B) referentes aos dois períodos do estudo (2016 e 2017). Nos *boxplots*, as caixas indicam a distribuição de 50 % dos dados, as linhas dentro das caixas indicam a mediana, as hastes delimitam a distribuição de 80 % dos dados e as esferas indicam os valores extremos (*outliers*). Asteriscos indicam diferenças significativas (teste *t* de Student, $P \leq 0,05$) entre os dois períodos de estudo.

3.2.2 Diferenças na oviposição entre os dois períodos do estudo

A comparação das taxas diárias de oviposição entre os dois períodos do estudo revelou apenas uma diferença significativa com respeito à produção de machos na colônia A. Nesse caso, houve uma produção diária significativamente maior no ano mais úmido (2017) do que no ano mais seco (2016) (Figura 6B). Não houve diferença na produção diária de rainhas ou operárias na colônia A (Figura 6A e C) e para nenhum dos casos na colônia B (Figuras 7A-C). Além disso, nenhuma das colônias apresentou variação significativa entre os dois períodos com relação à produção total de cria (Figuras 6D e 7D). (Colônia A: rainhas: 2016: $1,87 \pm 1,69$ rainhas/dia; 2017: $2,16 \pm 1,69$ rainhas/dia; *test-t* $t_{54} = -0,65$, $P = 0,517$; machos: 2016: $2,26 \pm 3,45$ machos/dia; 2017: $7,72 \pm 6,5$ machos/dia; *test-t* $t_{54} = -4,03$, $P < 0,001$; operárias: 2016: $12,71 \pm 6,08$ operárias/dia, 2017: $14,16 \pm 6,87$ operárias/dia; *test-t* $t_{54} = -0,84$, $P = 0,406$; Colônia B: rainhas: 2016: $0,88 \pm 0,93$ rainhas/dia; 2017: $1,04 \pm 1,23$ rainhas/dia; *test-t* $t_{51} = -0,51$, $P = 0,609$; machos: 2016: $9,52$

$\pm 6,56$ machos /dia; 2017: $10,89 \pm 6,47$; $test-t \ t_{51} = -0,77$, $P = 0,45$; operárias: 2016: $7,44 \pm 4,53$ operárias/dia; 2017: $7,93 \pm 1,13$ operárias/dia; $test-t \ t_{51} = -0,33$, $P = 0,741$)

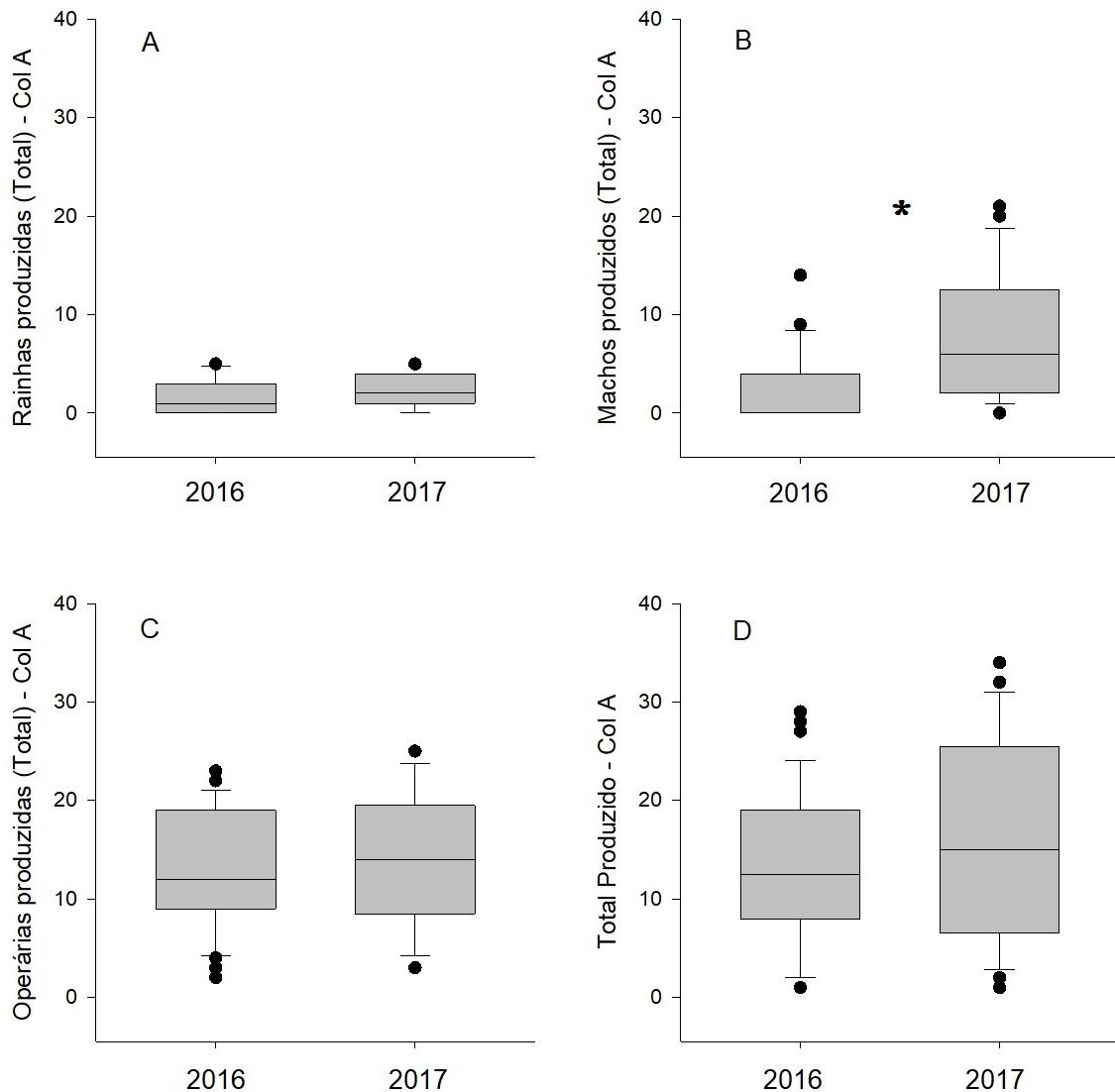


Figura 6 – Produção de cria na colônia A. Comparação da produção de rainhas (A), machos (B), operárias (C) e produção total de cria (D) da colônia A nos dois períodos do estudo (2016 e 2017). Nos *boxplots*, as caixas indicam a distribuição de 50 % dos dados, as linhas dentro das caixas indicam a mediana, as hastes delimitam a distribuição de 80 % dos dados e as esferas indicam os valores extremos (*outliers*). Asteriscos indicam diferenças significativas (teste *t* de Student, $P \leq 0,05$) entre os dois períodos de estudo.

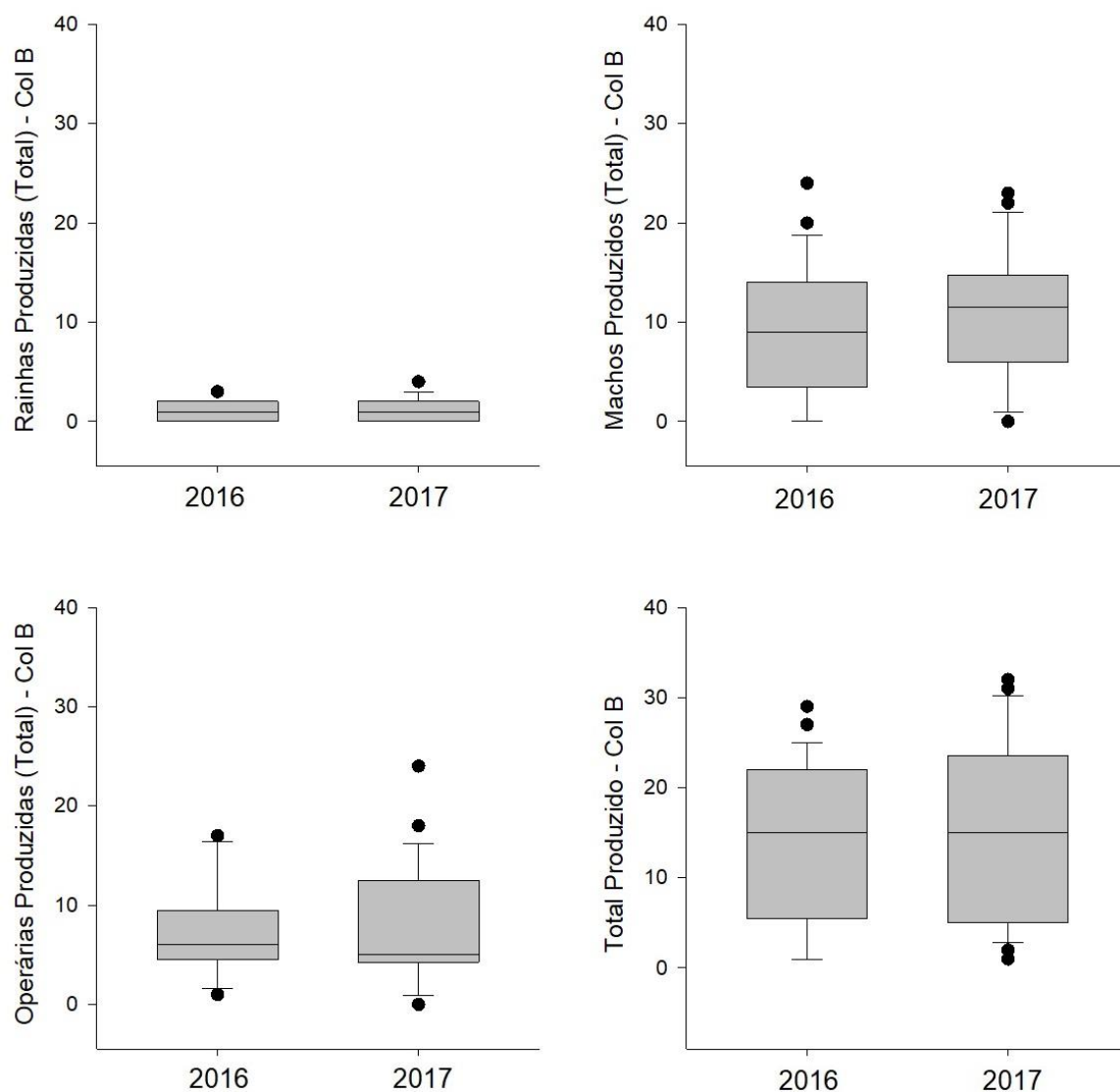


Figura 7 – Produção de cria na colônia B. Produção de cria na colônia A. Comparação da produção de rainhas (A), machos (B), operárias (C) e produção total de cria (D) da colônia B nos dois períodos do estudo (2016 e 2017). Nos *boxplots*, as caixas indicam a distribuição de 50 % dos dados, as linhas dentro das caixas indicam a mediana, as hastes delimitam a distribuição de 80 % dos dados e as esferas indicam os valores extremos (*outliers*). Não houve diferenças significativas (teste *t* de Student, $P \leq 0,05$) entre os dois períodos de estudo.

3.3 INFLUÊNCIA DOS PARÂMETROS AMBIENTAIS EM MÉDIO PRAZO

Para identificar a possível influência de parâmetros ambientais sobre a produção de cria em médio prazo, foi avaliada a relação entre a proporção de rainhas, machos e

operárias dentro de um disco de cria e as variáveis abióticas (temperatura, umidade relativa e precipitação) durante sua construção. Em média, os discos foram construídos em 9 dias (colônia A: 2016, $10 \pm 1,63$ dias; 2017, $9,25 \pm 1,26$ dias; colônia B: 2016, $8,25 \pm 0,5$ dias; 2017, $7,4 \pm 0,55$ dias). As duas colônias estudadas reagiram de forma diferente à variação nos parâmetros ambientais. Enquanto na colônia B a produção de indivíduos em cada disco não foi influenciada pelo ambiente externo (Tabela 1), os parâmetros abióticos explicaram aproximadamente 90% da variação na proporção de rainhas, machos e operárias nos discos da colônia A. Nessa colônia, a produção relativa de rainhas por disco foi relacionada de maneira positiva com $T_{\text{máx}}$ e CHUVA e de forma negativa com a $T_{\text{mín}}$ ($R^2_{\text{ADJ}} = 0,90$; $P = 0,007$; Tabela 1). Assim, a proporção de rainhas produzidas por disco aumentou com o aumento da variação térmica diária ($T_{\text{máx}}$ maiores, $T_{\text{mín}}$ menores) e com o aumento da precipitação durante o período da construção do disco. Já a produção relativa de machos apresentou uma relação negativa com $T_{\text{máx}}$, $UR_{\text{máx}}$ e CHUVA ($R^2_{\text{ADJ}} = 0,91$; $P = 0,005$; Tabela 1), ou seja, a proporção de machos produzidos por disco aumentou em períodos com temperaturas mais baixas e mais secos. Em contraste, a produção relativa de operárias aumentou em períodos mais quentes e úmidos (influência positiva de $T_{\text{máx}}$, $UR_{\text{máx}}$ e CHUVA; $R^2_{\text{ADJ}} = 0,90$; $P = 0,006$; Tabela 1).

Tabela 1 – Influência do ambiente abiótico sobre a produção de cria em médio prazo.

Análise do tipo *Best Subset Regression* para identificação dos parâmetros ambientais que melhor se relacionam com a porcentagem de rainhas, machos e operárias produzidos por disco de cria das colônias (Col) A e B. Os parâmetros ambientais utilizados foram temperatura máxima ($T_{\text{máx}}$) e mínima ($T_{\text{mín}}$) e pluviosidade (CHUVA). A análise foi realizada com os dados referentes aos dois períodos do estudo separados apenas por colônia.

Col	Variável dependente	Constant	$T_{\text{máx}}$	$T_{\text{mín}}$	CHUVA	R^2_{adj}	P
A	Rainhas (%)	-56,57	3,23	-2,41	0,20	0,89	0,007
A	Machos (%)	538,39	-13,97	-	-1,42	0,66	0,030
A	Operárias (%)	-314,46	10,29	-	1,36	0,63	0,035
B	Rainhas (%)	35,52	-	-1,46	0,19	0,12	0,286
B	Machos (%)	346,48	-8,06	-	-	0,09	0,160
B	Operárias (%)	-242,84	7,83	-	-	0,08	0,302

3.4 INFLUÊNCIA IMEDIATA DOS PARÂMETROS AMBIENTAIS

Para identificar a possível influência imediata do ambiente abiótico sobre a produção de cria, foi avaliada a relação entre a proporção de rainhas, machos e operárias produzidos diariamente e as variáveis abióticas (temperatura e precipitação) durante o respectivo dia. As variáveis abióticas apresentaram influência imediata significativa sobre a produção de machos e operárias da colônia A, e rainhas e operárias da colônia B, explicando menos de 15 % da variação na produção pelas colônias A (machos: influência negativa da precipitação; $R^2_{ADJ} = 0,05$; $P = < 0,001$; operárias: influência positiva da $T_{\min}$ e precipitação; $R^2_{ADJ} = 0,13$ $P = 0,023$) e B (rainhas: influência negativa da precipitação; $R^2_{ADJ} = 0,01$; $P = < 0,001$; operárias: influência positiva da $T_{\max}$ e precipitação; $R^2_{ADJ} = 0,11$; $P = 0,04$ (Tabela 2).

Tabela 2 – Influência imediata do ambiente abiótico sobre a produção de cria. Análise do tipo *Best Subset Regression* para identificação dos parâmetros ambientais que melhor se relaciona com a porcentagem de rainhas, machos e operárias produzidos por dia nas colônias (Col) A e B. Os parâmetros ambientais utilizados foram temperatura máxima ($T_{\max}$) e mínima ($T_{\min}$), e pluviosidade (CHUVA). A análise foi realizada juntando os dados referentes aos dois períodos do estudo separados apenas por colônia.

Col	Variável dependente	Constant	$T_{\max}$	$T_{\min}$	CHUVA	R^2_{adj}	P
A	Rainhas (%)	-37,77	0,40	-	-	0,05	0,169
A	Machos (%)	23,75	-	-	-2,62	0,04	<0,001
A	Operárias (%)	-62,69	-	5,58	2,30	0,13	0,023
B	Rainhas (%)	4,83	-	-	-0,59	0,01	<0,001
B	Machos (%)	255,45	-5,70	-	-3,27	0,07	0,093
B	Operárias (%)	-174,82	6,11	-	3,99	0,11	0,04

4 DISCUSSÃO

No presente estudo não foi possível verificar qualquer influência do ambiente externo sobre a produção de rainhas, machos e operárias da colônia B. Somente a colônia A apresentou influência dos parâmetros ambientais considerados. Em longo prazo, foi observada influência apenas com relação à produção de machos, que foi maior no período com temperaturas mais baixas e com maior precipitação e umidade relativa. A produção de rainhas e operárias se manteve estável entre os dois períodos do estudo. Já em médio prazo, um ambiente externo mais quente e úmido proporcionou um aumento na produção de rainhas e operárias, enquanto que a produção de machos aumentou em condições mais frias e secas. Não foi encontrada influência imediata sobre a produção de rainhas, machos ou operárias.

4.1 DIFERENÇAS ENTRE COLÔNIAS COM RESPEITO À PRODUÇÃO DE CRIA

Embora as colônias não tenham apresentado diferenças na produção total de cria em nenhum dos dois períodos do estudo, a produção de machos da colônia B foi superior à colônia A tanto no período de 2016 quanto no de 2017. Isso pode indicar uma participação importante das operárias na produção dos ovos reprodutivos da colônia B. Em colônias de *M. favosa*, por exemplo, foi observada uma alta produção de machos em períodos em que a produção de ovos reprodutivos pelas operárias era mais intensa, fazendo com que em algumas colônias os machos representassem até 75% dos indivíduos imaturos. Esses picos de produção, no entanto, ocorreram em diferentes períodos em cada colônia (CHINHN et al., 2003; SOMMEIJER et al., 2003). Nesses períodos, as rainhas foram frequentemente observadas em locais distantes dos discos de cria onde as operárias estavam ovipositando. Já quando presentes nas regiões de oviposição, as rainhas apresentavam um comportamento passivo, diferente do observado em períodos de baixa atividade reprodutiva das operárias (SOMMEIJER et al., 2003).

Em *M. subnitida*, a espécie investigada em nosso estudo, também ocorrem picos periódicos na produção de machos por operárias, semelhantes àqueles observados em *M. favosa* (KOEDAM et al., 1999; KOEDAM et al., 2005). Durante esses picos, operárias reprodutivas foram vistas empurrando outras operárias das células de cria para então colocar seu próprio ovo reprodutivo. Após a oviposição, imediatamente fechavam a célula

e deixavam o local, um comportamento diferente daquele normalmente executado pelas operárias durante a oviposição da rainha (KOEDAM et al., 1999; KOEDAM et al., 2005).

A presença de uma rainha desatenta, inexperiente ou velha pode significar a oportunidade para as operárias colocarem ovos reprodutivos e é uma possível explicação para a ocorrência periódica desse comportamento entre as operárias (TÓTH et al. 2004). Rainhas jovens podem levar algum tempo até serem aceitas pela colônia (ENGELS; IMPERATRIZ-FONSECA, 1990), enquanto que rainhas velhas podem apresentar uma resposta mais lenta no momento em que uma célula está pronta para ser ovipositada (SOMMEIJER; VAN BUREN, 1992; TÓTH et al. 2004). De qualquer modo, a reprodução pelas operárias não impede que a rainha continue a produzir machos (KOEDAM et al., 2005), o que pode potencializar ainda mais a produção de machos em uma colônia.

4.2 INFLUÊNCIA DOS PARÂMETROS AMBIENTAIS EM LONGO PRAZO

Nesse estudo, observamos um aumento significativo na produção de machos (colônia A) no período com maior precipitação ao longo de quatro meses antes do início das observações. Esse aumento foi possivelmente relacionado à maior oferta de recursos florais associada ao aumento na precipitação. No bioma Caatinga a floração da maioria das espécies de plantas ocorre nos períodos de maior umidade e precipitação que é, portanto, o período de maior oferta de alimento para abelhas (MAIA-SILVA et al. 2012; MAIA-SILVA et al., 2015). Esses períodos irregulares e incertos de recursos alimentares em abundância representam para as colônias de abelha na Caatinga uma oportunidade de aumentarem suas reservas de alimento e com isso a produção de cria (MAIA-SILVA et al., 2015). Períodos de escassez de recursos no ambiente levam a uma diminuição no estoque de alimento dentro das colônias de abelhas, o que consequentemente fazem com que as colônias diminuam ou parem de produzir nova cria (ROUBIK, 1982; MAIA-SILVA et al., 2016). Uma forma de evitar o comprometimento da sobrevivência colonial é investir na produção de machos apenas quando a colônia possui um bom estoque de alimento (VELTHUIS, et al. 2005). Em um estudo realizado com duas colônias de *M. subnitida*, o incremento na quantidade de alimento das colônias levou a um aumento na produção de machos de 3% e 0% para 47% e 25%, respectivamente, provavelmente devido à estimulação da produção de machos tanto pelas rainhas quanto pelas operárias (KOEDAM

et al., 2005). Isso pode ajudar a explicar o aumento do número de machos produzidos pela colônia A no período mais chuvoso, associado supostamente a uma maior oferta de alimento no ambiente.

Quando a rainha tem maior controle sobre a produção de cria, supõe-se uma maior influência das condições ambientais, como ocorre invariavelmente nas espécies *Melipona beecheii* e *Tetragonisca angustula*, cuja dependência das condições ambientais é facilmente percebida, visto que os machos são produzidos de maneira sazonal e apenas pela rainha (VAN VEEN et al., 2004; PRATO; SOARES, 2013). Isso pode explicar as diferenças na influência de fatores ambientais entre as colônias investigadas em nosso estudo. Enquanto havia uma forte influência do ambiente sobre a produção de machos na colônia A, a influência em longo prazo dos parâmetros ambientais na colônia B pode ter sido mascarada pela oportunidade de reprodução das operárias nessa colônia que, possivelmente, se sobrepõem às condições ambientais quando têm a possibilidade de investir no próprio sucesso reprodutivo.

Em contraste à produção de machos, as alterações ambientais de longo prazo parecem ter pouca influência sobre a produção de rainhas (SOMMEIJER et al. 2003; CHINH; SOMMEIJER, 2005; VELTHUIS et al., 2005), fazendo com que não houvesse alteração significativa entre os dois períodos em nenhuma das duas colônias estudadas. O resultado vai ao encontro do que foi observado em outros estudos onde a manipulação experimental das quantidades de alimento da colônia mostrou pouca ou nenhuma variação na produção de rainhas (MOO-VALE et al., 2001; KOEDAM et al., 2005). A variação baixa na produção de rainhas reforça a importância do fator genético na determinação da casta em abelhas do gênero *Melipona*, o que faz com que a produção de rainhas em relação ao total de fêmeas se mantenha em proporções próximas de 12,5% e 25% dependendo da espécie (KERR, 1950; KERR; NIELSEN, 1966).

4.3 INFLUÊNCIA DOS PARÂMETROS AMBIENTAIS DE MÉDIO PRAZO

Além das variações sazonais, a oferta de alimento no ambiente sofre mudanças que ocorrem durante períodos mais curtos e que também são afetadas pelas condições ambientais (ROUBIK, 1992; STANLEY; LINSKENS, 2012). Períodos de baixa umidade e precipitação, por exemplo, são menos favoráveis à abundância de recursos florais na Caatinga e fazem com que as operárias reduzam sua atividade de forrageio (MAIA-SILVA

et al., 2015). O aumento na quantidade de indivíduos dentro das colônias quando as condições de forrageio são pouco vantajosas, pode dificultar o controle da rainha sobre a reprodução de operárias, visto que as rainhas se utilizam de hidrocarbonetos cuticulares para sinalizar sua presença, compostos pouco voláteis e que exigem maior proximidade entre os indivíduos para que sejam percebidos (SOMEIJER et al., 1984 apud SOMEIJER et al., 1999; NUNES et al., 2004; TÓTH et al., 2004). Isso pode ajudar a explicar a influência positiva da umidade relativa e da precipitação sobre a produção de machos por disco de cria. Em um estudo com a espécie *M. favosa* foi visto que nos momentos em que as operárias colocavam ovos reprodutivos era comum haver uma concentração maior de operárias nos discos (SOMMEIJER et al., 2003). É possível que as operárias utilizem essas situações de maior aglomeração dentro da colônia como uma oportunidade para investirem no próprio sucesso reprodutivo, uma vez que em abelhas sem ferrão as operárias possuem uma maior proximidade genética com os machos produzidos por outras operárias da colônia do que com os machos produzidos pela rainha-mãe. Isso faz com que as operárias se beneficiem da reprodução umas das outras e diminuam o investimento no controle sobre essa produção pelas irmãs (PETERS et al., 1999; WENSELEERS; RATNIEKS, 2007). Enquanto que a temperatura, a umidade e a precipitação elevada provocaram um aumento na produção de operárias, essas mesmas condições levaram a redução na produção de machos. Isso pode refletir o *trade-off* ou custo de oportunidade utilizado pelas colônias, que diminuem a produção de operárias quando o risco em investir na produção de machos (e consequentemente em reprodução) é menor (SANTOS-FILHO et al., 2016).

4.4 INFLUÊNCIA IMEDIATA DOS PARÂMETROS AMBIENTAIS

Os parâmetros abióticos não tiveram influência imediata sobre a produção de cria de *M. subnitida*. Esse resultado talvez se deva a capacidade da espécie de regular, ainda que minimamente, a temperatura dentro do ninho, principalmente nas proximidades da área de cria (FERREIRA, 2014; FERREIRA et al., 2017). É possível ainda, que a espécie possa regular a umidade colonial assim como observado em colônias de *Austroplebeia essingtoni* em uma região árida da Austrália (AYTON et al., 2016) e também para a espécie *Apis mellifera scutellata* (HUMAN et al., 2006). Essa regulação do microclima

colonial reduz a variabilidade das condições dentro dos ninhos (FERREIRA et al., 2017) e, consequentemente, o impacto imediato das variações externas sobre a produção de cria.

5 CONCLUSÃO

As análises realizadas neste estudo mostram uma influência dos parâmetros ambientais sobre a produção de rainhas, machos e operárias de *M. subnitida*. No entanto, essa influência ocorre de maneiras distintas conforme a escala de tempo considerada. (1) Em longo prazo, condições de maior precipitação e umidade relativa associadas a uma maior disponibilidade de alimento dentro dos ninhos levam a um aumento na produção de machos; (2) Em médio prazo, em condições desfavoráveis de forrageamento, a acumulação de operárias dentro do ninho poder dificultar o controle da rainha sobre a reprodução fazendo com que as operárias coloquem mais ovos reprodutivos, aumentando assim a produção de machos da colônia.

6 REFERÊNCIAS

ALCOCK, J. **Comportamento animal: uma abordagem evolutiva**. Porto Alegre: Artmed Editora, 2016, 624p.

AYTON, S. et al. Phenophysiological variation of a bee that regulates hive humidity, but not hive temperature. **Journal of Experimental Biology**, v. 219, n. 10, p. 1552-1562, 2016.

CAMARGO, J. M. F.; PEDRO, S. R. M. Meliponini Lepeletier, 1836. In: MOURE, J. S. et al. (Ed.). **Catalogue of bees (Hymenoptera, Apoidea) in the neotropical region**. Curitiba: Sociedade Brasileira de Entomologia, 2007. p. 272-578.

CARDOSO-JÚNIOR, C. A. M. et al. Epigenetic modifications and their relation to caste and sex determination and adult division of labor in the stingless bee *Melipona scutellaris*. **Genetics and Molecular Biology**, v. 40, n. 1, p. 61-68, 2017.

CARVALHO, A. T. et al. Distribuição geográfica atual da abelha jandaíra e previsões para sua distribuição futura. In: IMPERATRIZ-FONSECA V. L.; KOEDAM D.; HRNCIR, M. (Ed.) **A abelha jandaíra no passado, presente e futuro**. Mossoró: EdUFERSA, 2017. p. 73-78.

CHINH, T. X.; SOMMEIJER, M. J. Production of sexuals in the stingless bee *Trigona (Lepidotrigona) ventralis flavibasis* Cockerell (Apidae, Meliponini) in northern Vietnam. **Apidologie**, v. 36, n. 4, p. 493-503, 2005.

CHINH, T. X. et al. Patterns of male production in the stingless bee *Melipona favosa* (Apidae, Meliponini). **Apidologie**, v. 34, n. 2, p. 161-170, 2003.

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

FREE, J. B.; WILLIAMS, I. H. Factors determining the rearing and rejection of drones by the honeybee colony. **Animal Behaviour**, v. 23, p. 650-675, 1975.

HARTFELDER, K. et al. Physiological and genetic mechanisms underlying caste development, reproduction and division of labor in stingless bees. **Apidologie**, v. 37, n. 2, p. 144-163, 2006.

HEIMPEL, G. E.; DE BOER, J. G. Sex determination in the Hymenoptera. **Annual Review of Entomology**, v. 53, p. 209-230, 2008.

HILÁRIO, S. D. et al. Flight activity and colony strength in the stingless bee *Melipona bicolor bicolor* (Apidae, Meliponinae). **Revista Brasileira de Biologia**, v. 60, n. 2, p. 299-306, 2000.

HÖLDOBLER, B.; WILSON, E. O. **The superorganism: the beauty, elegance, and strangeness of insect societies**. New York: WW Norton & Company, 2009, 522p

HUMAN, H. et al. Do honeybees, *Apis mellifera scutellata*, regulate humidity in their nest? **Naturwissenschaften**, v. 93, n. 8, p. 397-401, 2006

FERREIRA, N. S. **Temperatura colonial e tolerância térmica de *Melipona subnitida*, uma espécie de abelha sem ferrão (Hymenoptera, Apidae, Meliponini), da Caatinga.** 2014. 56 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró/RN, 2014.

FERREIRA, N. S. et al. Como a abelha jandaíra consegue sobreviver no calor da Caatinga? In: IMPERATRIZ-FONSECA V. L.; KOEDAM D.; HRNCIR, M. (Ed.) **A abelha jandaíra no passado, presente e futuro.** Mossoró: EdUFERSA, 2017. p. 201-209.

FREITAS, B. M.; BOMFIM, I.G.A. Meliponíneos e polinização: a abelha jandaíra e outro meliponíneos na polinização agrícola no semiárido. In: IMPERATRIZ-FONSECA V. L.; KOEDAM D.; HRNCIR, M. (Ed.) **A abelha jandaíra no passado, presente e futuro.** Mossoró: EdUFERSA, 2017. p. 221-226.

JARAU, S. et al. Virgin queen execution in the stingless bee *Melipona beecheii*: the sign stimulus for worker attacks. **Apidologie**, v. 40, n. 4, p. 496-507, 2009.

KERR, W. E. Genetic determination of castes in the genus *Melipona*. **Genetics**, v. 35, n. 2, p. 143-152, 1950.

KERR, W. E.; NIELSEN, R. A. Sex determination in bees (Apinae). **Journal of Apicultural Research**, v. 6, n. 1, p. 3-9, 1967.

KOEDAM, D. Production of queens, workers and males in the stingless bee *Melipona favosa* (Apidae: Meliponinae): patterns in time and space. **Netherlands Journal of Zoology**, v. 49, n. 4, p. 289-302, 1999.

KOEDAM, D. A non-invasive method for sampling *Melipona* brood combs and determining caste and sex ratios. **Apoidea neotropica: Homenagem aos 90 anos de Jesus Santiago Moure**, v. 90, p. 153-156, 2003.

KOEDAM, D. et al. Clustered male production by workers in the stingless bee *Melipona subnitida* Ducke (Apidae, Meliponinae). **Insectes Sociaux**, v. 46, n. 4, p. 387-391, 1999.

KOEDAM, D. et al. How queen and workers share in male production in the stingless bee *Melipona subnitida* Ducke (Apidae, Meliponini). **Insectes Sociaux**, v. 52, n. 2, p. 114-121, 2005.

- MAIA-SILVA, C. et al. **Guia de plantas visitadas por abelhas na Caatinga**. Fortaleza: Fundação Brasil Cidadão, 2012, 196p.
- MAIA, S. et al. Trilha dos polinizadores UFERSA: um passeio ecológico na Caatinga. Mossoró/RN. **Mensagem Doce**. v. 126, p. 2-5, 2014.
- MAIA-SILVA, C. et al. Survival strategies of stingless bees (*Melipona subnitida*) in an unpredictable environment, the Brazilian tropical dry forest. **Apidologie**, v. 46, n. 5, p. 631-643, 2015.
- MAIA-SILVA, C. et al. Stingless bees (*Melipona subnitida*) adjust brood production rather than foraging activity in response to changes in pollen stores. **Journal of Comparative Physiology A**, v. 202, n. 9-10, p. 723-732, 2016.
- MARENGO, J. A. et al. Drought in Northeast Brazil – past, present, and future. **Theoretical and Applied Climatology**, v. 129, n. 3-4, p. 1189-1200, 2017.
- MARTINS, C. F. et al. Tree species used for nidification by stingless bees in the Brazilian caatinga (Seridó, PB; João Câmara, RN). **Biota Neotropica**, v. 4, n. 2, p. 1-8, 2004.
- MICHENER, C. D. **The social behavior of the bees**. Massachusetts: Harvard University Press, 1974. 404 p.
- MOO-VALLE, H. et al. The effect of food reserves on the production of sexual offspring in the stingless bee *Melipona beecheii* (Apidae, Meliponini). **Insectes Sociaux**, v. 48, n. 4, p. 398-403, 2001.
- NUNES, T. M. et al. Queen signals in a stingless bee: suppression of worker ovary activation and spatial distribution of active compounds. **Scientific Reports**, v. 4, p. 1-7, 2014.
- OSTER, G. F.; WILSON, E. O. **Caste and ecology in the social insects**. Princeton: Princeton University Press, 1979, 352p.
- PAGE JR, R. E.; METCALF, R. A. A population investment sex ratio for the honey bee (*Apis mellifera* L.). **The American Naturalist**, v. 124, n. 5, p. 680-702, 1984.

PETERS, J.M. et al. Mate number, kin selection and social conflicts in stingless bees and honeybees. **Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences**, v. 266, n. 1417, p. 379-384, 1999.

PRADO, D. As caatingas da América do Sul. In: LEAL, I. R.; TABARELLI, M.; SILVA, J. M. C. (Ed.). **Ecologia e Conservação da Caatinga**. 1. ed. Recife: Editora Universitária da UFPE, 2003. p. 75-134.

PRATO, M.; SOARES, A. E. E. Production of sexuals and mating frequency in the stingless bee *Tetragonisca angustula* (Latreille) (Hymenoptera, Apidae). **Neotropical Entomology**, v. 42, n. 5, p. 474-482, 2013.

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

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

ROUBIK, D. W. Stingless bee nesting biology. **Apidologie**, v. 37, n. 2, p. 124-143, 2006.

SANTOS-FILHO, P. S. et al. Numerical investment in sex and caste by stingless bees (Apidae: Meliponini): a comparative analysis. **Apidologie**, v. 37, p. 207-221, 2006.

SOMMEIJER, M. J. Distribution of labour among workers of *Melipona favosa* F.: age-polyethism and worker oviposition. **Insectes Sociaux**, v. 31, n. 2, p. 171-184, 1984.

SOMMEIJER, M. J.; VAN BUREN, N. W. M. Male production by laying workers in queenright colonies of *Melipona favosa* (Apidae, Meliponinae). In: **First European Congress of Social Insects, Leuven (Belgium), 19-22 Aug 1991**. Leuven: Leuven University Press, 1992.

SOMMEIJER, M. J. et al. Behavioural data on the production of males by workers in the stingless bee *Melipona favosa* (Apidae, Meliponinae). **Insectes Sociaux**, v. 46, n. 1, p. 92-93, 1999.

- SOMMEIJER, M. J. et al. Natural patterns of caste and sex allocation in the stingless bees *Melipona favosa* and *M. trinitatis* related to worker behaviour. **Insectes Sociaux**, v. 50, n. 1, p. 38-44, 2003.
- STANLEY, R. G.; LINSKENS, H. F. **Pollen: biology biochemistry management**. New York: Springer-Verlag Berlin · Heidelberg, 1974, 310p.
- TOTH, E. et al. Conflict over male parentage in stingless bees. **Insectes Sociaux**, v. 51, n. 1, p. 1-11, 2004.
- VAN BENTHEM, F. D. J.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; VELTHUIS, H. H. W. Biology of the stingless bee *Plebeia remota* (Holmberg): observations and evolutionary implications. **Insectes Sociaux**, v. 42, n. 1, p. 71-87, 1995.
- VAN VEEN, J. W.; SOMMEIJER, M. J. Colony reproduction in *Tetragonisca angustula* (Apidae, Meliponini). **Insectes sociaux**, v. 47, n. 1, p. 70-75, 2000.
- VAN VEEN, J. W. et al. Production of queens and drones in *Melipona beecheii* (Meliponini) in relation to colony development and resource availability. **Proceedings of the Netherlands Entomological Society Meeting**, v. 15, p.35-39, 2004.
- VELTHUIS, H. H. W.; SOMMEIJER, M. J. Roles of morphogenetic hormones in caste polymorphism in stingless bees. **Morphogenetic Hormones of Arthropods**, v. 3, p. 346-383, 1991.
- VELTHUIS, H. W. et al. The males of *Melipona* and other stingless bees, and their mothers. **Apidologie**, v. 36, n. 2, p. 169-185, 2005.
- VOLLET-NETO, A. et al. Recent advances in reproductive biology of stingless bees. **Insectes Sociaux**, p. 1-12, 2018.
- WENSELEERS, T. et al. Queen execution and caste conflict in the stingless bee *Melipona beecheii*. **Ethology**, v. 110, n. 9, p. 725-736, 2004.
- WENSELEERS, T.; RATNIEKS, F. L. W. Tragedy of the commons in *Melipona* bees. **Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences**, v. 271, n. Suppl 5, p. S310-S312, 2004.

WENSELEERS, Tom; RATNIEKS, Francis LW. Comparative analysis of worker reproduction and policing in eusocial Hymenoptera supports relatedness theory. **The American Naturalist**, v. 168, n. 6, p. E163-E179, 2006.

WILLE, A.. Biology of the stingless bees. **Annual Review of Entomology**, v. 28, n. 1, p. 41-64, 1983.

WILSON, E. O. **The insect societies**. Cambridge: Harvard University Press 1971, 548p.

WILSON, E. O.; HÖLLDOBLER, B. Eusociality: origin and consequences. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 102, n. 38, p. 13367-13371, 2005.

WILSON, E. O. One giant leap: how insects achieved altruism and colonial life. **BioScience**, v. 58, n. 1, p. 17-25, 2008

ZANELLA, F. C. V.; MARTINS, C. F. Abelhas da Caatinga: biogeografia, ecologia e conservação. In: LEAL, I. R.; TABARELLI, M.; SILVA, J. M. C. (Ed.). **Ecologia e Conservação da Caatinga**. Recife: Editora Universitária da UFPE, 2003. p. 75-134.