

Rainhas e machos em abelhas sem ferrão: o que eles nos ensinam?

Alves, D.A.¹ & Imperatriz-Foseca, V.L.^{1,2}

1- Laboratório de Abelhas, Instituto de Biociências, USP, Rua do Matão, trav. 14 n°321, Cidade Universitária, São Paulo-SP CEP: 05508-900, (11) 3091-7533, daalves@usp.br

2- UFERSA, Av. Francisco Mota n°572, Bairro Costa e Silva, Mossoró, RN CEP 59625-900, vlifonse@ib.usp.br

Resumo

As abelhas sem ferrão exercem importante papel ecológico como polinizadores de muitas espécies vegetais das regiões tropicais e tem significativo potencial para uso na polinização de culturas agrícolas. A criação de espécies de abelhas é um componente essencial para a conservação da biodiversidade, além de uma alternativa de fonte de renda. Para tanto, esforços de conservação e programas de criação em escala comercial requerem conhecimento biológico mais amplo, principalmente os relacionados à produção de sexuais (rainhas e machos). Nesse contexto, apresentamos aqui alguns dos resultados de nossas pesquisas que julgamos importantes para aplicação em programas de criação de abelhas sem ferrão e de melhoramento genético.

Palavras-chave: sexuais, pequenas populações, meliponicultura, conservação, estratégias reprodutivas

Importância das abelhas sem ferrão, em especial as do gênero *Melipona*

As abelhas sem ferrão, Meliponini, compreendem o grupo mais diverso de abelhas eusociais [1, 2], com distribuição nas regiões tropicais e subtropicais do globo [1]. Face à extrema diversidade de espécies, os Meliponini apresentam uma gama de variações quanto a aspectos comportamentais, sistemas de comunicação, estratégias de forrageamento, densidades populacionais, arquiteturas de ninhos, entre outros [1, 2].

Nesse grupo diverso, destaca-se o gênero *Melipona*, que compreende cerca de 65 espécies distribuídas pela região Neotropical [3]. Muitas delas são conhecidas por polinizarem eficiente e efetivamente uma ampla variedade de espécies vegetais em ambientes naturais [4, 5]. Como a polinização é um dos serviços ecossistêmicos essenciais para manter e melhorar o bem-estar humano [6], as abelhas *Melipona*, assim como outras espécies de Meliponini, são agentes de importância crucial para a conservação da biodiversidade natural nos trópicos [7].

Além do valor ecológico, as abelhas *Melipona* têm importância tanto em aspectos culturais, associados a rituais religiosos, quanto econômicos [8]. Por armazenarem considerável quantidade de mel e pólen em seus ninhos, e produzirem bastante cerume, essas abelhas representam importante complemento de renda para muitas famílias [9]. Também, muitas espécies são polinizadoras-chave de culturas agrícolas economicamente importantes, tais como tomate, urucum, pimentão e berinjela [10].

A necessidade de colônias para uso em áreas agrícolas abertas ou em casas de vegetação, atualmente, é uma demanda crescente, e a venda de ninhos para polinização dessas culturas tem se tornado mais uma potencial fonte de renda [9].

Conservação das pequenas populações

As espécies de *Melipona* são sensíveis a distúrbios antropogênicos, especialmente ao desmatamento [11], pois utilizam cavidades arbóreas como substrato de nidificação [1]. Assim como em outras abelhas sem ferrão, nos eventos naturais de reprodução, por exameagem, o vínculo entre colônia-filha e colônia-mãe permanece por certo período, já que a primeira depende de recursos [alimento e materiais de construção] armazenados na colônia-mãe [12]. Essa estreita relação no início do ciclo das colônias-filhas impede que elas se dispersem para grandes distâncias e uma vez que a colônia é fundada e se estabelece no oco, ela permanece ali até o fim do seu extenso ciclo de vida, pois a rainha perde a capacidade de voar [1]. Devido a essas características, as colônias são altamente dependentes da existência de árvores que abrigam seus ninhos e as protegem de potenciais predadores [11, 13], bem como de recursos florais que as provem alimento, e a perda de habitats se torna uma das maiores ameaças à sua contínua existência [14].

Como consequência da degradação de habitats, as populações de inúmeras espécies de *Melipona* tem se tornado cada vez menores,

fragmentadas e separadas umas das outras por grandes distâncias [11]. Com a diminuição do número de ninhos em uma área, e a conseqüente redução na diversidade genética, as populações enfrentam uma ameaça adicional à sua sobrevivência, o endocruzamento [14, 15].

Na tentativa de minimizar os efeitos negativos do endocruzamento em pequenas populações, o manejo ou criação de espécies de abelhas se torna um componente essencial para a conservação da biodiversidade [16]. Além das razões econômicas (e.g, venda do mel, pólen e ninhos), a criação de abelhas sem ferrão, conhecida como meliponicultura, no cenário atual, surge como uma atividade de desenvolvimento sustentável indicada para preservação e uso dos recursos naturais [17, 9]. O crescente interesse do público em geral, comunidade científica e órgãos públicos, pela meliponicultura, pode ajudar a compensar, em moderada extensão, a contínua perda de habitat e garantir a polinização adequada de flores de espécies em ambientes naturais e de culturas agrícolas.

Embora no Brasil a meliponicultura tenha crescido rapidamente e haja técnicas de manejo para criação de diferentes abelhas sem ferrão que são constantemente implementadas [17], a maioria dos criadores ainda mantém um pequeno número de ninhos de mesma espécie [9]. Para atender às atuais e às futuras demandas, há a necessidade da criação de colônias em ampla escala e, para isso, a multiplicação de ninhos se torna necessária. Mas para que isso ocorra, num futuro próximo, assim como acontece com algumas espécies de *Bombus* no hemisfério norte [18], uma combinação de fatores se faz necessária, entre eles o conhecimento biológico mais amplo, principalmente os relacionados à produção de sexuais [rainhas e machos].

Produção de rainhas e machos em *Melipona*

Em geral, a produção de sexuais em abelhas sem ferrão é influenciada por condições externas às colônias, como fatores climáticos que agem diretamente na disponibilidade de recursos tróficos, e condições internas, tais como o número de operárias no ninho [19, 20]. Contudo, possivelmente, fatores intrínsecos às colônias sejam mais pronunciados na produção de rainhas e machos, já que cada uma possui sua própria dinâmica [21].

Ao contrário do que ocorre em outros gêneros de Meliponini, todos os indivíduos (rainhas, machos e operárias) em colônias de *Melipona* são produzidos em células de cria de mesmas dimensões e, portanto, eles devem ingerir quantidades similares de alimento [1, 22]. Além disso, as rainhas de *Melipona* são produzidas

em alto número [23, 24, 25]. Na tentativa de compreender essa super-produção de rainhas, algumas teorias foram propostas, baseadas em níveis diferentes de explicação [em termos proximais [como?] e em termos finais [por quê?]]. Kerr foi o primeiro a propor uma explicação proximal de determinação de castas baseada em um modelo de dois-loci-dois-alelos, em que indivíduos duplo-heterozigotos podem ser tornar rainhas [26, 27]. Posteriormente, a teoria foi implementada e condições alimentares foram consideradas importantes para direcionar o destino de casta das larvas femininas determinadas geneticamente a se tornarem rainhas [23, 28]. A explicação evolutiva, ou final, para essa alta produção é dada por considerações teóricas acerca do conflito de castas e estrutura de parentesco [29]. De acordo com esse modelo, uma larva fêmea tem certo controle sobre seu destino de casta e obtém mais benefícios, em termos de aptidão direta, em se tornar uma rainha devido à reprodução direta [29, 24].

Outro aspecto importante na biologia do gênero se refere à frequente presença de operárias reprodutivas não apenas em colônias órfãs, mas também na presença da rainha-mãe [30, 31, 32, 33]. Essas operárias têm ovários desenvolvidos e podem botar óvulos não-fertilizados, que darão origem a machos. Isso acarreta um conflito reprodutivo entre rainha-operária, bem como entre operária-operária, na produção de machos, já que cada uma delas é mais relacionada aos seus próprios filhos, do que aos seus irmãos ou sobrinhos [34, 35].

Principais contribuições de nossos estudos para entender a produção de rainhas e machos em *Melipona* (baseadas em [36])

Nossos trabalhos, nos últimos cinco anos, proporcionaram informações inéditas e atualizadas sobre a produção de machos e rainhas em pequenas populações de *Melipona*, um dos gêneros mais diversos de abelhas sem ferrão. Uma das principais contribuições foi a demonstração que uma população de *M. scutellaris*, iniciada com poucas colônias e em condições de isolamento genético (na Fazenda Aretuzina, em São Simão, SP), possui menor variabilidade genética, tanto no loco neutro quanto no sexual, quando comparada à população mantida na área natural de ocorrência da espécie (na Granja São Saruê, em Igarassu, PE). Dado que apenas 4 alelos sexuais estavam presentes na população de S. Simão, cerca de metade das rainhas que realizaram vôos nupciais eram fecundadas por machos que compartilhavam um mesmo alelo sexual. Conseqüentemente, havia alta produção de machos diplóides, que representam um

custo elevado para as colônias que os produzem e, finalmente, para a população. Sem dúvida, o manejo adequado e constante (como por exemplo, prover abundante flora apícola, alimentação artificial com solução açucarada, caixas com isolamento térmico, trocar favos de cria de colônias fortes para colônias fracas) possibilitou que os ninhos fossem multiplicados sucessivamente e a população fosse criada com sucesso por dez anos, minimizando os efeitos negativos da produção dos machos diplóides na viabilidade da população [37].

Outro fator, que provavelmente contribuiu para diminuir os efeitos dos machos diplóides, foi a substituição das rainhas-mãe que os produzem [37]. Embora as operárias não matem a rainha-mãe logo após o aparecimento dos primeiros machos diplóides, ou seja, assim que eles emergem, elas o fazem alguns dias depois. Assim, uma nova rainha inicia as atividades de postura de ovos, havendo a possibilidade de que essa rainha não produza machos diplóides. E para corroborar esse mecanismo de compensação na produção desses machos, dois resultados foram fundamentais. O primeiro foi relativo à longevidade de rainhas que produzem machos diplóides, que vivem cerca da metade do tempo que vivem as rainhas que não os produzem [37]. O outro resultado, de certa forma surpreendente, foi que as freqüências de rainhas nas colônias de S. Simão foram significativamente maiores que as mantidas em Igarassu, onde o número de alelos sexuais foi elevado, 26 [37]. Assim, produzir alto número de rainhas pode ser uma resposta para a alta taxa de trocas de rainhas que copularam com machos que compartilhavam mesmo alelo sexual e, portanto, produziram machos diplóides. Ou seja, criar muitas rainhas, embora seja um custo para a colônia, pois deixa-se de produzir algumas operárias (ie., para cada rainha produzida, uma operária deixa de ser criada), pode ser um mecanismo que limita os efeitos negativos do baixo número de alelos sexuais na população [36]).

Também, o baixo número de alelos sexuais em S. Simão foi, provavelmente, o fator que influenciou as altas freqüências de rainhas e machos. Isso porque tanto as operárias quanto os sexuais criados por colônias em S. Simão e em Igarassu eram de tamanhos corporais similares. Ou seja, as colônias investiram quantidades semelhantes de recursos na produção desses indivíduos e, portanto, o fator quantidade de recurso não pareceu ter sido a maior influência nessa diferença [36].

Mas independente da localidade em que colônias de *Melipona* estejam e quais sejam as

influências, elas sempre produzem rainhas. Em maior ou em menor número, elas sempre estão presentes e, na grande maioria das vezes, são mortas pelas operárias [38, 39]. Mas se elas são mortas frequentemente, a pergunta pode ser: por que muitas rainhas são produzidas continuamente, se representam um gasto de recursos para as colônias? Até então, essa pergunta, em relação a termos de funcionalidade, era respondida em diferentes contextos: 1) as rainhas são produzidas para eventos de enxameagem; 2) as rainhas são produzidas para alguma substituição casual de suas rainhas-mãe, seja por motivo fisiológico (e.g. senilidade) ou mesmo quando essas produzem machos diplóides [40, 41]. Assim, até o momento, a alta taxa de rainhas era entendida como um verdadeiro estoque para eventualidades. Contudo, outra contribuição dessa tese é que as rainhas, caso escapem de serem mortas pelas operárias em suas colônias-natais, e não acompanhem um enxame ou não substituam suas mães, possuem outra estratégia reprodutiva. Quando não encontram oportunidades reprodutivas em seus ninhos-natais, elas acham-nas em outras colônias [36, 42, 43]. Ou seja, muitas rainhas podem sair de suas colônias [44], provavelmente devem se acasalar com machos disponíveis nas proximidades, penetram em colônias órfãs [45], são aceitas pelas operárias dessas colônias e lá iniciam normalmente suas atividades de postura de ovos, agindo como parasitas sociais, uma vez que vão operárias não-aparentadas a ajudam na criação de sua prole [36, 43]. Dessa forma, no geral, em termos de aptidão, as rainhas parasitas obtêm benefícios diretos ao invadir outros ninhos e lá colocarem seus ovos, e as operárias que as expulsam, ou as deixam, das colônias obtêm benefícios indiretos [45], pois suas irmãs tem oportunidades reprodutivas em outros ninhos [36, 43].

Dado que rainhas penetram em ninhos não-natais e são bem-sucedidas em suas atividades de postura [36, 43] esperava-se que, no caso de poliginia em *M. quadrifasciata* (descoberta por um meliponicultor) alguma(s) das oito rainhas fisogástricas não tivesse(m) relação de parentesco com as demais [46]. Outro complemento a essa hipótese foi que as oito rainhas se estabeleceram no mesmo período, em que a colônia estava órfã. Os resultados apontaram que todas as oito rainhas substituíram sua mãe no mesmo momento e, portanto, eram irmãs completas, embora nem todas (cinco) contribuíram nas atividades de postura [46]. Esse episódio ocasional de

poliginia deve ser outra estratégia reprodutiva e, provavelmente deve ocorrer quando algumas rainhas virgens saem da colônia órfã para realizar o vôo nupcial e retornam, mais ou menos, no mesmo momento. Dessa forma, elas exploram o curto período de tempo que as operárias aceitam as rainhas recém-acasaladas. Se muitas rainhas podem aproveitar a chance de se reproduzirem, nem que seja por pouco tempo, elas obtêm amplos benefícios, em termos de aptidão direta [46]. Porém, não só as rainhas tem oportunidades reprodutivas na produção de cria. As operárias, embora impossibilitadas de se acasalarem, também as tem. Conseqüentemente, um conflito pela maternidade dos machos ocorre na arena do favo de cria, seja entre rainha-operária, seja entre operária-operária [33]. Isso porque, ter um filho (relacionamento genético (r), $r = 0,50$) é mais vantajoso, em termos de relacionamento genético, do que ter um irmão ($r = 0,25$) ou sobrinho ($r = 0,375$). Apesar de as rainhas serem as maiores produtoras de machos em *M. scutellaris*, 20% deles são filhos de operárias [33]. O mais surpreendente não foi esse resultado, mas sim que as operárias que mais produziram machos (80%) foram aquelas que eram filhas das rainhas que foram substituídas [33]. Ou seja, as operárias filhas de uma dada rainha ainda permaneciam no ninho, mesmo após a substituição de sua mãe e a produção de novas operárias (sobrinhas), tendo uma longevidade maior do que a média das demais operárias, as que não se reproduziram. Essas operárias mais longevas parasitam reprodutivamente a força de trabalho da geração seguinte e obtêm mais benefícios em explorar a colônia quando os custos são arcados por indivíduos menos relacionados, que no caso, foram as suas sobrinhas [33]. Dessa forma, esses estudos contribuíram para entender melhor a produção de sexuais em pequenas populações, além de prover informações úteis para a criação de abelhas sem ferrão, que pode ser aliada a ações voltadas para conservação. Além do mais, os resultados obtidos mostraram que há necessidade de reavaliar as metodologias e conceitos, utilizados até o momento, no melhoramento genético das abelhas sem ferrão e na manutenção de pequenas populações em meliponários. Também mostrou a importância do uso da biologia molecular como uma ferramenta que se torna cada vez mais necessária, devido ao seu amplo potencial em resolver questões de cunho evolutivo e ecológico, além de ser uma prática acessível,

relativamente barata e altamente confiável, quando bem empregada e interpretada.

Assim, como as práticas de criação de abelhas podem influenciar profundamente a diversidade genética das populações naturais, além de transmissão de patógenos e hibridização, algumas recomendações são necessárias:

a) escolher espécies que ocorrem na região onde o meliponário será mantido e prover boas e adequadas condições de manejo;

b) evitar a troca de favos de cria, de rainhas fecundadas e mesmo de colônias entre regiões geográficas muito distintas, já que cada população está adaptada às condições ambientais locais. Além disso, a freqüente troca de material genético tem como conseqüência a homogeneização do conjunto (*pool*) genético entre diferentes regiões geográficas [47, 48];

c) iniciar um meliponário com, no mínimo, quatro colônias, para que a população tenha variabilidade genética (ao menos seis alelos sexuais) suficiente para minimizar as conseqüências de baixo número de alelos e a conseqüente produção de machos diplóides – esses cálculos foram baseados no caso da população-fonte (ie., de onde as colônias são obtidas) ter cerca de 25 alelos sexuais. Estudos anteriores em populações manejadas de outras espécies de abelhas sem ferrão (*M. bicolor* (Alves *et al.*, em preparação), *M. compressipes* [49], *M. quadrifasciata* [50], *M. scutellaris* [51], *Scaptotrigona postica* [52] e *Trigona carbonaria* [53]), embora tenham mostrado que machos diplóides foram produzidos, nenhuma delas tinha menos de seis alelos sexuais, o que novamente, corrobora os cálculos realizados [36, 37].

d) avaliar se as colônias estão produzindo machos diplóides. Para isso, embora o uso de marcadores moleculares seja mais eficaz, a porcentagem de machos presentes nos favos de cria é um bom indicativo [54]. Caso mais de um favo contenha porcentagem superior a 50% de machos entre as pupas presentes, essa é uma maneira adequada de verificar se a rainha-mãe está produzindo machos diplóides, já que os estes não diferem em tamanho corporal dos machos haplóides;

e) considerar a mobilidade das rainhas que escapam de suas colônias e penetram em ninhos órfãos, para os programas de melhoramento genético e organizar um modelo de organização espacial dos ninhos no meliponário a fim de selecionar as características desejáveis das colônias (e.g. maior produção de mel, maior estoque de pólen, resistência a doenças, maior produção de cria, produção de própolis, agressividade).

Para revisão, sobre métodos de seleção para melhoramento genético em abelha sem ferrão, [55].

Agradecimentos

Agradecemos à FAPESP e ao CNPq pelos auxílios financeiros concedidos. Em especial nós somos muito gratas ao Dr. Paulo Nogueira-Neto, Sr. Francisco Chagas e Sra. Selma Carvalho por todo apoio e suporte oferecidos ao longo dos cinco anos de pesquisa e que tão gentilmente nos autorizaram a estudar seus ninhos de abelhas mantidos na Fazenda Aretuzina (São Simão, SP) e na Granja São Saruê (Igarassu, PE). Também, agradecemos à Dra. Marilda C. Laurino por ter nos ajudado em algumas viagens de coletas de dados; ao Prof. Tom Wenseleers, pelas facilidades concedidas e apoio durante o projeto de doutoramento; ao Biól. Cleiton Geuster, por ter concedido gentilmente o ninho com muitas rainhas-mãe de *M. quadrifasciata*.

Referências Bibliográficas

1 - MICHENER, C.D. **The Social Behavior of the Bees**. Massachusetts: Harvard University Press, 1974.

2 - SAKAGAMI, S.F. Stingless bees. In: HERMANN, H. R. (Ed.). **Social Insects, Vol. III**. London: Academic Press, 1982. p. 361-423.

3 - 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.

4 - WILMS, W.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L.; ENGELS, W. Resource partitioning between highly eusocial bees and possible impact of the introduced africanized honey bee on native stingless bees in the Brazilian Atlantic Rainforest. **Stud. Neotrop. Fauna Environ.**, v.31, p.137-151, 1996.

5 - RAMALHO, M. Stingless bees and mass flowering trees in the canopy of Atlantic Forest: a tight relationship. **Acta Botânica Brasileira**, v.18, n.1, p.37-47, 2004.

6 - COSTANZA, R.; D'ARGE, R. *et al*. The value of the world's ecosystem services and natural capital. **Nature**, v.387, n.6630, p.253-260, 1997.

7 - ROUBIK, D.W. **Ecology and Natural History of Tropical Bees**. Cambridge: Cambridge University Press, 1989. (Cambridge Tropical Biology Series).

8 - QUEZADA-EUÁN, J.J.G.; MAY-ITZÁ, W.D.; GONZÁLEZ-ACERETO, J.A. Meliponiculture in

Mexico: problems and perspective for development. **Bee World**, v.82, n.4, p.160-167, 2001.

9 - CORTOPASSI-LAURINO, M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. *et al*. Global meliponiculture: challenges and opportunities. **Apidologie**, v.37, n.2, p.275-292, 2006.

10 - SLAA, E.J.; SANCHEZ CHAVES, L.A.; MALAGODI-BRAGA, K.S.; HOFSTEDE, F.E. Stingless bees in applied pollination: practice and perspectives. **Apidologie**, v.37, n.2, p.293-315, 2006.

11 - BROWN, J.C.; ALBRECHT, C. The effect of tropical deforestation on stingless bees of the genus *Melipona* (Insecta: Hymenoptera: Apidae: Meliponini) in central Rondonia, Brazil. **J. Biogeogr.**, v.28, n.5, p.623-634, 2001.

12 - NOGUEIRA-NETO, P. Notas bionômicas sobre Meliponíneos. III. Sobre a enxameagem. **Arquivos do Museu Nacional do Rio de Janeiro**, v.42, p.419-451, 1954.

13 - ELTZ, T.; BRUHL, C.A.; IMIYABIR, Z.; LINSENMAIR, K.E. Nesting and nest trees of stingless bees (Apidae: Meliponini) in lowland dipterocarp forests in Sabah, Malaysia, with implications for forest management. **For. Ecol. Manag.**, v.172, n.2-3, p.301-313, 2003.

14 - GOULSON, D.; LYE, G.C.; DARVILL, B. Decline and Conservation of Bumble Bees. **Annu. Rev. Entomol.**, v.53, p.191, 2008.

15 - ZAYED, A. Bee genetics and conservation. **Apidologie**, v.40, n.3, p.237-262, 2009.

16 - JAFFÉ, R.; DIETEMANN, V. *et al*. Estimating the density of honeybee colonies across their natural range to fill the gap in pollinator decline censuses. **Conserv. Biol.**, v.24, n.2, p.583-593, 2010.

17 - NOGUEIRA-NETO, P. **Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão**. São Paulo: Editora Nogueirapis, 1997.

18 - VELTHUIS, H.H.W.; VAN DOORN, A. A century of advances in bumblebee domestication and the economic and environmental aspects of its commercialization for pollination. **Apidologie**, v.37, n.4, p.421-451, 2006.

19 - ROUBIK, D.W. Seasonality in colony food storage, brood production and adult survivorship: studies of *Melipona* in tropical forest (Hymenoptera: Apidae). **J. Kans. Entomol. Soc.**, v.55, n.4, p.789-800, 1982.

20 - BEGO, L.R. On social regulation in *Nannotrigona* (*Scaptotrigona*) *postica* Latreille with special reference to productivity of colonies (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). **Rev. Bras. Entomol.**, v.34, n.4, p.721-738, 1990.

- 21 - VELTHUIS, H.H.W.; KOEDAM, D.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. The males of *Melipona* and other stingless bees, and their mothers. **Apidologie**, v.36, p.169-185, 2005.
- 22 - HARTFELDER, K.; MAKERT, G.R. *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.
- 23 - KERR, W.E. Some aspects of the evolution of social bees (Apidae). **Evolutionary Biology, Volume 3**. New York: Appleton-Century Crofts, 1969. p. 119-175.
- 24 - WENSELEERS, T.; RATNIEKS, F.L.W. Tragedy of the commons in *Melipona* bees. **Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.**, v.271, n.SUPPL. 5, p.S310-S312, 2004.
- 25 - SANTOS-FILHO, P.S.; ALVES, D.A.; ETEROVIC, A.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L.; KLEINERT, A.M.P. Numerical investment in sex and caste by stingless bees (Apidae: Meliponini): a comparative analysis. **Apidologie**, v.37, n.2, p.207-221, 2006.
- 26 - KERR, W.E. Estudos sobre o gênero *Melipona*. **Anais Escola Superior Agrícola "Luiz de Queiros"**, v.5, p.181-276, 1948.
- 27 - _____. Evolution of the mechanism of caste determination in the genus *Melipona*. **Evolution**, v.4, p.7-13, 1950.
- 28 - JARAU, S.; VAN VEEN, J.W. *et al.* Workers make the queens in *Melipona* bees: Identification of geraniol as a caste determining compound from labial glands of nurse bees. **J. Chem. Ecol.**, v.36, n.6, p.565-569, 2010.
- 29 - RATNIEKS, F.L.W. Heirs and spares: Caste conflict and excess queen production in *Melipona* bees. **Behav. Ecol. Sociobiol.**, v.50, n.5, p.467-473, 2001.
- 30 - KOEDAM, D.; CONTRERA, F.A.L.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. Clustered male production by workers in the stingless bee *Melipona subnitida* Ducke (Apidae, Meliponinae). **Insectes Soc.**, v.46, p.387-391, 1999.
- 31 - SOMMEIJER, M.J.; CHINH, T.X.; MEEUWSEN, F. Behavioural data on the production of males by workers in the stingless bee *Melipona favosa* (Apidae, Meliponinae). **Insectes Soc.**, v.46, n.1, p.92-93, 1999.
- 32 - TÓTH, E.; STRASSMANN, J.; NOGUEIRA-NETO, P.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.; QUELLER, D. Male production in stingless bees: variable outcomes of queen-worker conflict. **Mol. Ecol.**, v.11, n.12, p.2661-7, 2002.
- 33 - ALVES, D.A.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. *et al.* The queen is dead – long live the workers: intraspecific parasitism by workers in the stingless bee *Melipona scutellaris*. **Mol. Ecol.**, v.18, p.4102-4111, 2009.
- 34 - TÓTH, E.; QUELLER, D.C.; DOLLIN, A.; STRASSMANN, J.E. Conflict over male parentage in stingless bees. **Insectes Soc.**, v.51, n.1, p.1-11, 2004.
- 35 - WENSELEERS, T.; RATNIEKS, F.L.W. Comparative analysis of worker reproduction and policing in eusocial Hymenoptera supports relatedness theory. **Am. Nat.**, v.168, p.E163-E179, 2006.
- 36 - ALVES, D.A. **Estratégias reprodutivas em *Melipona*, com ênfase em pequenas populações de *Melipona scutellaris* (Apidae, Meliponini)**. PhD thesis, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010, 102p.
- 37 - ALVES, D.A.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. *et al.* Successful maintenance of a stingless bee population despite a severe genetic bottleneck. submetido.
- 38 - SILVA, D.L.N.; ZUCCHI, R.; KERR, W.E. Biological and behavioural aspects of the reproduction in some species of *Melipona* (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). **Anim. Behav.**, v.20, p.123-132, 1972.
- 39 - KOEDAM, D.; MONGE, I.A.; SOMMEIJER, M.J. Social interactions of gynes and their longevity in queenright colonies of *Melipona favosa* (Apidae: Meliponinae). **Neth. J. Zool.**, v.45, n.3-4, p.480-494, 1995.
- 40 - 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**. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 1990. p. 167-230.
- 41 - IMPERATRIZ-FONSECA, V.L.; ZUCCHI, R. Virgin queens in stingless bee (Apidae, Meliponinae) colonies: a review. **Apidologie**, v.26, p.231-244, 1995.
- 42 - ALVES, D.A.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L.; WENSELEERS, T. Parasitismo social em abelhas sem ferrão (Apidae, Meliponini). In: Anais do IX Encontro sobre Abelhas. 2010. p.191.
- 43 - WENSELEERS, T.; ALVES, D.A.; FRANCOY, T.M.; BILLEN, J.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L.

Intraspecific colony take-over by unrelated queens in a highly eusocial bee. submetido.

44 - SOMMEIJER, M.J.; BRUIJN, L.L.M.; MEEUWSEN, F.; SLAA, E.J. Reproductive behaviour of stingless bees: nest departures of non-accepted gynes and nuptial flights in *Melipona favosa* (Hymenoptera: Apidae, Meliponini). **Entomologische Berichten**, v.63, p.7-13, 2003.

45 - SOMMEIJER, M.J.; BRUIJN, L.L.M.; MEEUWSEN, F. Reproductive behaviour of stingless bees: solitary gynes of *Melipona favosa* (Hymenoptera: Apidae, Meliponini) can penetrate existing nests. **Entomologische Berichten**, v.63, n.2, p.31-35, 2003.

46 - ALVES, D.A.; MENEZES, C.; IMPERATIZ-FONSECA, V.L.; WENSELEERS, T. First discovery of a rare polygyne colony in the stingless bee *Melipona quadrifasciata* (Apidae, Meliponini). **2010**, v., 2010.

47 - CARVALHO-ZILSE, G.A.; COSTA-PINTO, M.F.F.; NUNES-SILVA, C.G.; KERR, W.E. Does beekeeping reduce genetic variability in *Melipona scutellaris* (Apidae, Meliponini)? **Genetics and Molecular Research**, v.8, n.2, p.758-765, 2009.

48 - DE LA RÚA, P.; JAFFÉ, R.; DALL'OLIO, R.; MUÑOZ, I.; SERRANO, J. Biodiversity, conservation and current threats to European honeybees. **Apidologie**, v.40, n.3, p.263-284, 2009.

49 - KERR, W.E. Sex determination in bees XXI. Number of xo-heteroalleles in a natural population of *Melipona compressipes fasciculata* Apidae. **Insectes Soc.**, v.34, n.4, p.274-279, 1987.

50 - AIDAR, D.S.; KERR, W.E. Número de alelos XO em uma população de *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lepeletier (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). **Rev. Bras. Zool.**, v.18, n.4, p.1237-1244, 2001.

51 - CARVALHO, G.A. The number of sex alleles (CSD) in a bee population and its practical importance (Hymenoptera: Apidae). **Journal of Hymenoptera Research**, v.10, n.1, p.10-15, 2001.

52 - PAXTON, R.J.; BEGO, L.R.; SHAH, M.M.; MATEUS, S. Low mating frequency of queens in the stingless bee *Scaptotrigona postica* and worker maternity of males. **Behav. Ecol. Sociobiol.**, v.53, n.3, p.174-181, 2003.

53 - GREEN, C.L.; OLDROYD, B.P. Queen mating frequency and maternity of males in the stingless bee *Trigona carbonaria* Smith. **Insectes Soc.**, v.49, n.3, p.196, 2002.

54 - CAMARGO, C.A. Sex determination in bees. XI Production of diploid males and sex determination in

Melipona quadrifasciata. **J. Apic. Res.**, v.18, n.2, p.77-84, 1979.

55 - KERR, W.E. Métodos de seleção para melhoramento genético em abelhas. **Magistra**, v.18, n.4, p.209-212, 2006.