

CRISLAYNE MARIA DE SOUZA

**CONTROLE DA PRODUÇÃO DE RAINHAS EM *Plebeia lucii*, MOURE – 2004  
(HYMENOPTERA, APIDAE, MELIPONINI)**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Viçosa,  
como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação em  
Entomologia, para obtenção do título  
de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2015

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa

T

S729c Souza, Crislayne Maria de, 1987-  
2015 Controle da produção de rainhas em *Plebeia lucii*, Moure -  
2004 (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) / Crislayne Maria de  
Souza. – Viçosa, MG, 2015.  
vi, 25f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexo.

Orientador: Lucio Antonio de Oliveira Campos.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f.20-24.

1. Plebeia - Biologia. 2. Plebeia - Reprodução. 3. Abelha  
sem ferrão. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de  
Biologia Geral. Programa de Pós-graduação em Entomologia.  
II. Título.


CDD 22. ed. 595.799

CRISLAYNE MARIA DE SOUZA

**CONTROLE DA PRODUÇÃO DE RAINHAS EM *Plebeia lucii*, MOURE – 2004  
(HYMENOPTERA, APIDAE, MELIPONINI)**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Viçosa,  
como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação em  
Entomologia, para obtenção do  
título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 28 de julho de 2015.



---

Vander Calmon Tosta



---

Weyder Cristiano Santana



---

Lucio Antônio de Oliveira Campos  
(Orientador)

*À minha mãe Maria Caetana,  
Dedico.  
"In memoriam."*

## AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia e à Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade.

Ao CNPQ, pelo suporte financeiro.

Ao Professor Lúcio Campos, por me receber em seu grupo de estudos e pela orientação.

Ao Professor Weyder Santana, por todo apoio e orientação.

Aos técnicos do Apiário Central, ao Iris Stanciola em especial, pela ajuda na confecção do experimento e ensinamentos.

Aos “Abelhudos”, pelo acolhimento e amizade, que me fizeram ter certeza de que, apesar de tudo, entrei no laboratório certo.

Aos amigos, Camila Folly, Diego Assis, Geisyane Franco, Riudo Paiva, e Talitta Guimarães, por toda ajuda na elaboração deste trabalho.

Aos amigos de ontem, hoje e sempre, Alex Valadares, Camila Folly, Felipe Couto, Marcos Mendes, Henrique Folly, Jerusa Oliveira, Ramon Dominato. Ter vocês por perto foi fundamental.

Aos novos amigos, e nem por isso menos família, Alice Sutana, Hendria Ciqueira, Lucas Braga, Tiago Tolêdo, Vinicius D’avila, que tornaram meus dias mais alegres e me deram apoio que sempre precisei. Levarei vocês por toda a vida.

À todos meus amigos, que se mantiveram presentes mesmo na distância.

Ao Morfeu, meu gato cachorro, pelo carinho, brincadeiras e companhia.

Ao meu pai, pelo apoio incondicional, mesmo sem entender muito bem do que se trata um mestrado.

À minha mãe, que me ensinou a amar as pessoas como elas são e, principalmente, respeitar as escolhas de cada um e, finalmente, a resistir nas adversidades e lutar.

Às minhas irmãs, Layne e Josi, por serem meu porto seguro, e à Gabrielly por ter chegado pra alegrar meus dias. Vocês sempre serão os maiores amores da minha vida.

À Deus.

## SUMÁRIO

RESUMO .....	v
ABSTRACT .....	vi
1. INTRODUÇÃO .....	1
2.OBJETIVOS.....	6
2.1. Objetivo geral.....	6
2.2. Objetivos específicos.....	6
3. MATERIAIS E MÉTODOS .....	7
3.1. Obtenção do Material.....	7
3.2. Tratamentos.....	7
3.3. Células reais obtidas.....	9
3.4. Comparação morfológica.....	9
3.5. Análises estatísticas.....	10
4. RESULTADOS .....	11
4.1 Células reais produzidas.....	11
4.2 Tempo para início da construção de células reais em função dos níveis de isolamento da rainha.....	13
4.3. Análises morfológicas das rainhas .....	14
5. DISCUSSÃO .....	15
6. CONCLUSÃO.....	19
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	20
8. ANEXO.....	25

## RESUMO

SOUZA, Crislayne Maria de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2015. **CONTROLE DA PRODUÇÃO DE RAINHAS EM *Plebeia lucii*, MOURE – 2004 (HYMENOPTERA, APIDAE, MELIPONINI)** Orientador: Lúcio Antônio de Oliveira Campos.

Em Meliponini, o papel da rainha fisiogástrica no controle da produção de células reais ainda não está estabelecido. O objetivo deste trabalho foi verificar a influência da rainha na produção de células reais em *Plebeia lucii*. A construção células reais foi observada em colônias experimentais, divididas em quatro diferentes tratamentos: i) isolados; ii) tela grossa; iii) tela fina; iv) duas telas finas. Para cada tratamento, a rainha foi colocada em apenas um dos lados, deixando o outro lado colmeia sem rainha; Rainhas produzidas nessas diferentes situações foram comparadas com rainhas produzidas em colônias naturais. Maior número de células reais foram construídas na secção das colônias experimentais sem rainha. Em geral, um maior número de células reais foram construídas em lados órfãos. Nos tratamentos onde não havia contato entre os indivíduos dos dois lados da colônia (I e IV), apresentaram as maiores diferenças na quantidade de células reais construídas entre os dois lados da colônia. Assim, os resultados foram semelhantes para quando os feromônios voláteis podem passar de um lado para o outro, e para aqueles em que não há passagem de feromônios voláteis. O tamanho das rainhas produzidas nos tratamentos não diferiu entre rainhas produzidas em condições naturais. Os resultados sugerem que os feromônios de contato, e não feromônios voláteis são importantes no controle da produção de células real em abelhas.

## ABSTRACT

SOUZA, Crislayne Maria de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2015. **CONTROL PRODUCTION OF QUEENS IN *Plebeia lucii* MOURE – 2004 (HYMENOPTERA, APIDAE, MELIPONINI)**. Adviser: Lúcio Antônio de Oliveira Campos.

In Meliponini, the queen's role on royal cell production control is not yet established. Our objective was to investigate the queen's influence in royal cell production in *Plebeia lucii*. The royal cells construction was observed in experimental colonies, divided in four different treatments: i) isolated; ii) opened screen; iii) closed screen; iv) two closed screens. For every treatment, we put the queen at one side, leaving the other side queenless. Queens produced in these different situations were compared with natural queens. In general, a greater number of royal cells were constructed in queenless sides. For treatments where bees from the queen-right side did not have contact with bees from the queenless side (i and iv) we saw the biggest differences in royal cells constructed between sides. Thus, even when volatiles could pass from one side to another, the results were similar to those where none could pass. The size of queens emerged from all treatments did not differ from queens produced in natural conditions. Our results suggest that contact pheromones, and not volatile pheromones, are important in the control of royal cells production in bees.

## 1. INTRODUÇÃO

A tribo Meliponini (Lepelletier, 1836) (Hymenoptera, Apinae) é representada por insetos conhecidos popularmente como abelhas indígenas sem ferrão, por apresentarem seu acúleo (ferrão) atrofiado (Nogueira-Neto, 1997). São insetos sociais com grande diversidade e distribuição geográfica (Sakagami, 1982; Roubik, 1989), encontrados principalmente em regiões tropicais e subtropicais. No Brasil, essa tribo é bastante representativa, com aproximadamente 244 espécies descritas, pertencentes a 29 gêneros (Pedro et al. 2014).

As abelhas sem ferrão possuem um importante papel ecológico, pois são polinizadores de diversas plantas, algumas dependem exclusivamente desses insetos para se reproduzirem, atuando, portanto, na manutenção da diversidade da flora (Kerr, 1996). Acredita-se que, no Brasil, cerca de 40 a 90% das árvores nativas sejam polinizadas por abelhas sem ferrão (Kerr, 1996). Muitas espécies de Meliponini são importantes como polinizadores de culturas agrícolas, e de plantas nativas, apresentando também um importante papel econômico (Jaffé et al. 2015).

Apesar da maior parte das abelhas serem solitárias, diferentes graus de comportamento social são observados em diversos grupos. As abelhas da tribo Meliponini, juntamente com Apini (Latreille, 1802), são eussociais (Michener, 1974; 2000; Sakagami, 1982; Wille, 1983), comportamento caracterizado por três critérios, i) indivíduos da mesma espécie ajudam de forma cooperativa na criação dos jovens; ii) divisão de tarefas reprodutivas em uma sociedade em que um grupo de indivíduos é infértil e colabora com a criação dos filhos dos indivíduos férteis da colônia, além de desempenharem outras funções de manutenção da colônia; e iii) existência de uma sobreposição de pelo menos duas gerações (Wilson, 1971).

As rainhas possuem função principalmente reprodutiva. Sua presença na colônia é fundamental para garantir a integridade e funcionalidade da sociedade. As operárias são responsáveis pela manutenção da colônia, realizando atividades como; cuidado da prole, coleta de alimento, construção e defesa do ninho, limpeza e provisionamento das células de cria, dentre outras

(Michener, 1974; Page & Peng, 2001). O desenvolvimento de operárias e rainhas diverge do ponto de vista morfológico e fisiológico, culminando em adultos que diferem também em suas características comportamentais (Weaver, 1966; Engels & Imperatriz-Fonseca, 1990).

Em algumas espécies, as operárias apresentam ovários ativos e produzem ovos na presença da rainha (Sakagami et al. 1963). Estes ovos podem ser viáveis e contribuir com a produção de machos (Beig, 1972; 1984; Sommeijer et al. 1999; Paxton et al. 2003), ou podem ser tróficos, que são ingeridos pela rainha antes da postura de seus ovos (Silva et al. 1972) ou pelas próprias operárias durante o processo de postura da rainha (Koedam et al. 2005). Em *Plebeia lucii* Moure (2004), e gêneros como *Frieseomelitta* e *Duckeola* a postura de ovos tróficos não ocorre (Michener, 1946).

Em abelhas do gênero *Apis* (Linnaeus, 1758), a quantidade e a qualidade do alimento larval são fundamentais para a diferenciação de castas. As futuras rainhas são alimentadas com geleia real durante todo o seu desenvolvimento, e as larvas que darão origem às operárias, recebem uma mistura de mel e pólen após o terceiro dia idade (Weaver, 1974; Asencot & Lensky, 1984). O processo de alimentação das larvas em *Apis mellifera* é progressivo, em virtude do fato das operárias nutridoras depositarem o alimento nas células durante visitas periódicas (Michener, 1974).

Nas abelhas sem ferrão não há diferenças na qualidade do alimento oferecido às larvas que originarão rainhas ou operárias (Kerr et al. 1966; Camargo, 1972; Hartfelder & Engels, 1989). Este é constituído por uma secreção produzida pelas glândulas hipofaríngeas das operárias nutridoras, e uma mistura de pólen e mel com aproximadamente, 16% de pólen e 8% de mel (Hartfelder & Engels, 1989). Todas as células de cria recebem alimentação massal, ou seja, todo o alimento consumido pela larva durante seu desenvolvimento é posto pelas operárias na célula de cria antes da oviposição da rainha (Kerr et al., 1966). A diferenciação das castas em Meliponini envolve fatores tróficos e genéticos no gênero *Melipona* ou apenas tróficos nos demais gêneros (Kerr, 1950).

Em espécies do gênero *Melipona* (Illiger, 1806) o mecanismo de determinação das castas tem base genética (Kerr, 1950) modulado por influências ambientais (Kerr & Nielsen, 1966; Kerr, 1974; Engel & Imperatriz-Fonseca, 1990; Velthuis e Sommeijer, 1991). As rainhas se desenvolvem em células com o mesmo tamanho que as células de operárias e de machos (Kerr et al. 1996) (Figura 1<sup>a</sup> - Ribeiro et al, 2006). Neste gênero, a variação na quantidade de alimento associado aos mecanismos genéticos é responsável por regular o sistema de diferenciação entre rainhas e operárias (Kerr, 1950 *apud* Kerr et al. 1996).

No caso da maioria das espécies que apresentam exclusivamente determinação trófica, as células de cria de operárias e rainhas possuem tamanhos diferentes, sendo aquelas que originam rainhas, maiores que as demais, e são chamadas de realeiras ou células reais (Figura 1b - Ribeiro et al, 2006). Nas realeiras, a quantidade de alimento colocado é bem maior que das células das quais emergem operárias e machos (Camargo, 1972; Sakagami, 1982; Zucchi, 1993).

A maioria dos gêneros de Meliponini apresentam as células de cria dispostas em favos, mas em alguns gêneros como *Frieseomelitta*, *Dukeola*, *Leorotrigona* e em algumas espécies de *Plebeia* e de diversos outros gêneros as células de cria são dispostas em forma de cacho (Terada, 1974; Faustino, et al. 2002, Teixeira, 2007; 2012). Nestas espécies de meliponíneos, pelo menos parte das rainhas se desenvolvem em casulos reais formados a partir da junção de duas células de cria de tamanho normal (Figura 1c) (Terada, 1974; Faustino et al. 2002; Teixeira, 2007). A larva que dará origem à rainha, após ingerir o alimento da sua célula, perfura a parede da célula adjacente e ingere o alimento ali presente, desenvolvendo-se então em rainha (Terada, 1974). Nesses casos, larvas fêmeas que recebem alimento de duas células dão origem a rainhas (Teixeira, 2012).

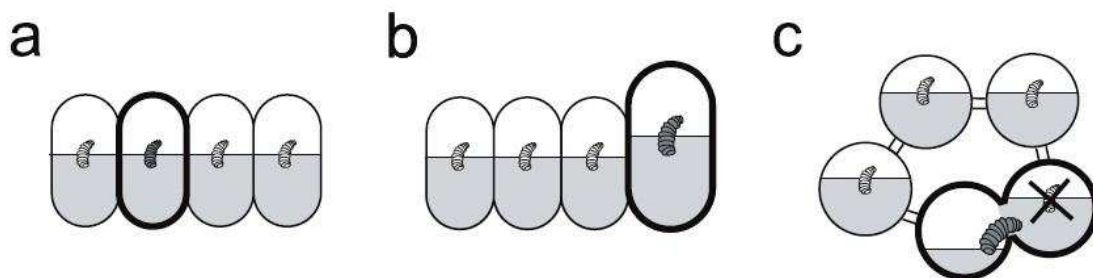


Figura 1: Mecanismos de determinação das castas nas abelhas da tribo Meliponini. a) gênero *Melipona*; b) demais gêneros; c) algumas espécies dos gêneros *Leurotrigona*, *Frieseomelitta* e *Plebeia*. (modificado de Ribeiro et al., 2006).

Geralmente, a produção de rainhas virgens em meliponíneos ocorre durante todo o ano. Rainhas virgens podem substituir a rainha da colmeia em caso de morte desta ou enxamear junto com parte das operárias para fundar um novo ninho; Caso contrário, estas rainhas virgens são mortas ou expulsas da colmeia pelas operárias (Campos & Peruquetti, 1999).

Apesar desta constante produção, há casos nos quais as colônias perdem suas rainhas sem haver na colônia outra para substituí-la. Em *Apis*, em resposta à condição de orfandade, as operárias escolhem larvas em idades específicas para desenvolver-se em rainhas, as quais são chamadas de rainha de emergência (Fell & Morse, 1984).

Em Meliponini há poucos casos registrados de rainhas de emergência e acredita-se que isso se deve ao modo de alimentação das larvas, divergente em relação à *Apis*, uma vez que na alimentação massal as células de cria são fechadas no final do processo de postura (aprovisionamento e postura), já com todo o alimento que a larva consumirá durante seu desenvolvimento. *Plebeia lucii* e *Frieseomelitta varia* produzem rainhas de emergência através da adição de células auxiliares. Trabalhos recentes têm demonstrado que em *P. lucii* a adição de célula auxiliar é o modo utilizado para produção de rainhas tanto em resposta à orfandade quanto em colônias com rainhas, fato que ocorre também em *F. varia*, *F. silvestre* (Faustino et al. 2002; Teixeira, 2007, 2012).

Em *P. lucii*, as larvas fêmeas que têm acesso ao alimento da sua célula se desenvolvem em operárias, e aquelas que se alimentam de uma quantidade extra, provisionado em uma célula adjacente (célula auxiliar), construída pelas operárias, diferenciam-se em rainha (Figura 2) (Teixeira, 2007). Nesta espécie,

as células de cria que dão origem a rainhas e operárias, possuem inicialmente o mesmo tamanho, mas devido à incorporação da célula auxiliar, as realeiras formadas apresentam o dobro do tamanho da célula original (Teixeira, 2007) (Figura 2).

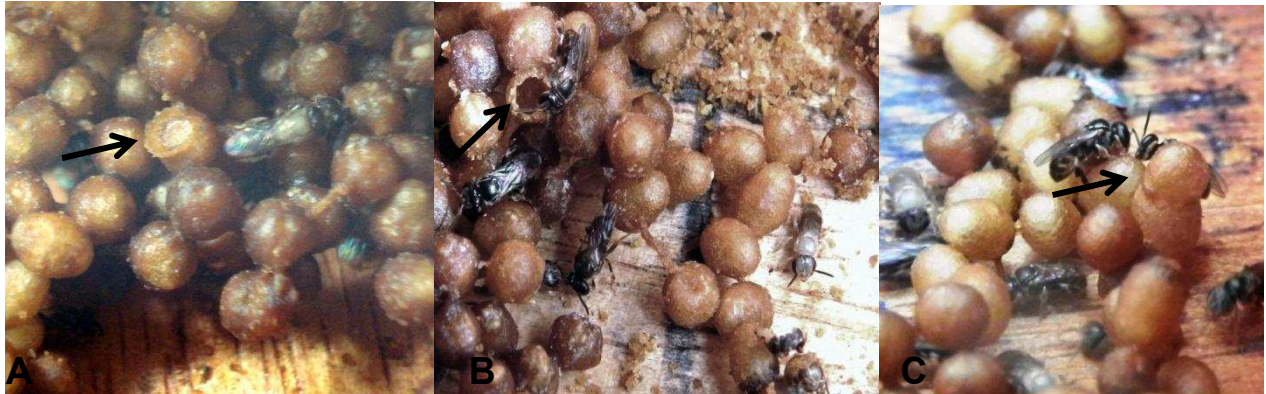


Figura 2. Células auxiliares em diferentes estágios de construção de *P. lucii*. A) Início da construção de célula auxiliar. B) Célula auxiliar quase pronta. C) Célula real formada.

Em *Apis mellifera*, as rainhas produzem feromônios, o que permite que as operárias as identifiquem como rainhas (Velthuis, 1970). Esses feromônios agem como moduladores do comportamento, ou seja, sua produção durante a fase reprodutiva de rainhas ou de operárias férteis provoca a inibição do desenvolvimento ovariano de outras operárias, ou inibe a construção de realeiras (Monnin, 2006). Já em Meliponini, em geral, e nas espécies que constroem células em cacho, em particular, o papel da rainha fisiogástrica no controle da produção de células reais ainda não está estabelecido.

Estudar a biologia e os mecanismos de produção de rainhas é o primeiro passo para possibilitar a multiplicação dos ninhos em larga escala, viabilizando sua utilização como polinizadoras ou para introdução em locais que foram extintas, além de possibilitar estudos sobre a biologia e a determinação de castas nos Meliponini.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Geral:**

Verificar a influência da rainha na produção de células reais em *Plebeia lucii*.

### **2.2. Específicos:**

2.2.1 Verificar o efeito dos quatro diferentes graus de isolamento das rainhas na produção de células auxiliares em colônias de *P. lucii*.

2.2.2 Determinar o tempo de resposta para produção de células auxiliares de *P. lucii* de acordo com grau de isolamento da rainha.

2.2.3 Verificar se ocorre variação de tamanho nas rainhas de *P. lucci* produzidas no experimento em comparação com rainhas produzidas em colônias naturais.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1. Obtenção do material:**

Foram utilizadas 32 colônias de *P. lucci* mantidas em caixas de criação experimental no Apiário Central da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, Minas Gerais, local onde os experimentos foram realizados.

#### **3.2. Tratamentos:**

A observação das construções de células reais foi realizada nos meses de setembro de 2014 a março de 2015.

Inicialmente, as colônias naturais visualmente consideradas médias e fortes (com quantidade razoável de células de cria e operárias), tiveram suas células de cria, potes de alimento, indivíduos adultos e rainha transferidos para caixas experimentais; células reais, eventualmente existentes, foram retiradas e acondicionadas em placa de petri e mantidas em estufa B.O.D., juntamente com operárias jovens para emergência das rainhas, as quais foram utilizadas para avaliação morfológica.

Para colônias experimentais foram confeccionadas caixas de madeira com dimensões 14 X 14 cm e 9 cm de altura, separadas ao meio por divisória, de modo que cada caixa continha dois compartimentos ou secções. Cada metade da caixa recebeu igualmente o mesmo número de células de crias, potes de alimento e de operárias da colônia original, sendo que apenas um dos compartimentos recebeu a rainha. Dessa forma dois *status* foram estabelecidos: compartimento com rainha e compartimento sem rainha (Figura 4).

As colônias experimentais foram cobertas com vidro de modo a permitir a observação, e para evitar a entrada excessiva de luminosidade foi colocada uma cartolina preta sobre o vidro. Estas foram mantidas em estufa B.O.D com temperatura controlada a 28°C, onde foram mantidas fechadas e alimentadas regularmente por um período de 20 dias.

Para verificar a influência da rainha sobre a construção de células reais pelas operárias, foi observada a frequência de construção de células reais em caixas submetidas a quatro diferentes tratamentos (Figura 4):

T1 (isoladas): A divisória foi constituída por uma chapa de alumínio separando, assim, os dois lados da caixa experimental por completo.

T2 (tela grossa): A divisória foi constituída por uma tela que permitia a passagem das operárias entre os dois lados da caixa experimental, mas não da rainha, evitando que esta realizasse postura nos dois compartimentos.

T3 (tela fina): A divisória foi constituída por uma tela fina, onde não permitia a passagem da rainha e das operárias entre os dois compartimentos da colônia, mas permitia contatos como antenação e trofalaxia entre as operárias dos dois lados.

T4 (2 telas finas): A divisória foi constituída por 2 telas finas com distância de 1cm entre elas, desta forma, não houve nenhum tipo de contato físico entre as abelhas dos dois compartimentos da colônia, apenas a passagem de possíveis voláteis.

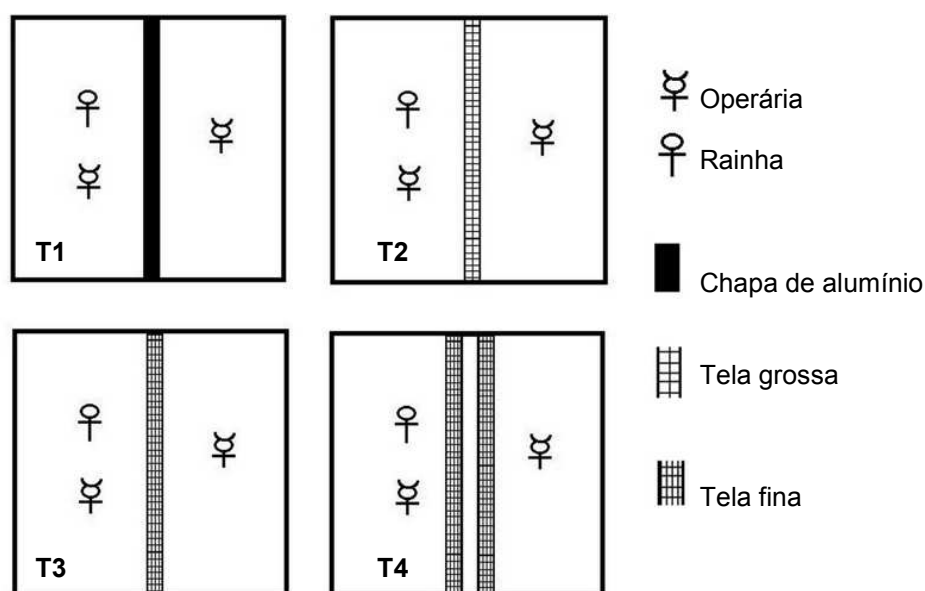


Figura 4. Esquema mostrando a configuração das caixas experimentais.

Para cada tratamento foram realizadas oito repetições, sendo que cada colônia foi usada apenas uma vez.

O número de células reais produzidas em cada tratamento para cada compartimento da colônia experimental foi contabilizado diariamente num período de 20 dias por repetição.

### 3.3. Células reais obtidas:

Ao término de cada período de observação foram retiradas das colônias experimentais todas as células reais obtidas, mantidas em placa de Petri e armazenadas em estufa B.O.D. a 28°C, juntamente com operárias jovens (do mesmo tratamento), para possibilitar a emergência das rainhas virgens. Logo após a emergência, estas foram fixadas em Stefanini's Zamboni (paraformaldeído 4% tamponado e ácido pícrico 0,4%) e mantidas em freezer à 12°C.

### 3.4. Comparação morfológica:

Rainhas virgens obtidas de realeiras retiradas das colônias naturais durante a montagem do experimento, rainhas fisiogástricas e rainhas virgens obtidas no experimento, tiveram a imagem capturada com auxílio de microscópio estereoscópio Zeiss® AxioCam MRc acoplado com câmera digital Canon® (PoweShot A620). As distâncias interorbital e intertégula foram obtidas com auxílio do *software* Image Pro Plus®. A distância interorbital foi medida entre os limites internos dos olhos compostos (Figura 5 A). A distância intertégula foi medida traçando uma linha imaginária sobre o mesoscuto, entre as tégulas, em sua região mais convexa (Figura 5 B).

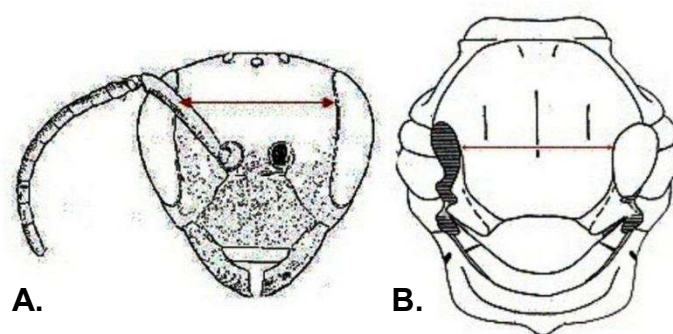


Figura 5. Esquema representando os locais de medição da distância interorbital (A) na cabeça e distância Intertégula (B) no tórax.

### **3.5. Análises estatísticas:**

Todos os dados foram analisados utilizando modelos lineares generalizados (GLM) em software estatístico R (R Core Team, 2014). Os modelos foram analisados para verificar a sua importância e, após a análise, a dispersão dos dados foi verificada para verificar sua distribuição. Para comparação do número de células reais produzidas, e comparação do tamanho das rainhas foi realizada a análise de variância ANOVA e  $X^2$  para os dados não paramétricos.

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Células reais produzidas

Obteve-se um total de 84 células reais, distribuídas conforme a tabela 1.

Tabela 1. Número de células reais produzidas em cada tratamento (c/ra= lado da colônia com rainha, s/ra= lado da colônia sem rainha).

Repetições	Tratamentos							
	Isolado		Tela grossa		Tela fina		2 telas finas	
	c/ra	s/ra	c/ra	s/ra	c/ra	s/ra	c/ra	s/ra
A	1	4	2	2	3	1	0	2
B	0	2	1	1	1	4	0	1
C	0	2	2	2	1	5	1	6
D	0	0	0	2	0	0	0	0
E	0	0	2	0	1	2	0	0
F	1	1	0	0	0	1	0	0
G	1	3	2	7	1	3	0	1
H	0	3	0	3	0	1	2	3
Total	3	15	9	17	7	17	3	13

Agrupando-se os dados dos diferentes tratamentos, houve diferença significativa entre o número total de células produzidas no *status* com rainha (n=22) em relação ao sem rainha (n=62) ( $P < 0,01$ ), como apresentado na figura 6. Os dados gerais mostram que as operárias que estavam em contato direto com a rainha construíram menor número de células reais em relação àquelas do outro *status*. No entanto, nas análises de cada tratamento apenas T1 (Isolado) apresentou diferença significativa entre os *status* (Figura 7).

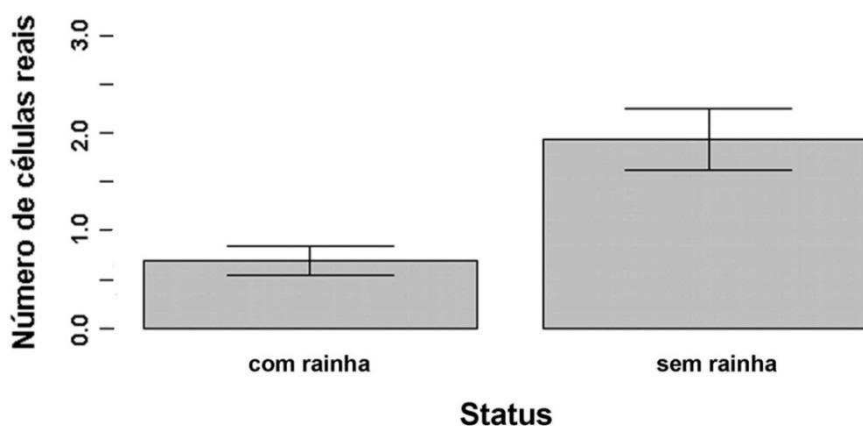


Figura 6. Diferença na construção de células reais totais, entre os *status* com e sem rainha. Anova ( $P < 0,01$ ). Barras com desvio padrão.

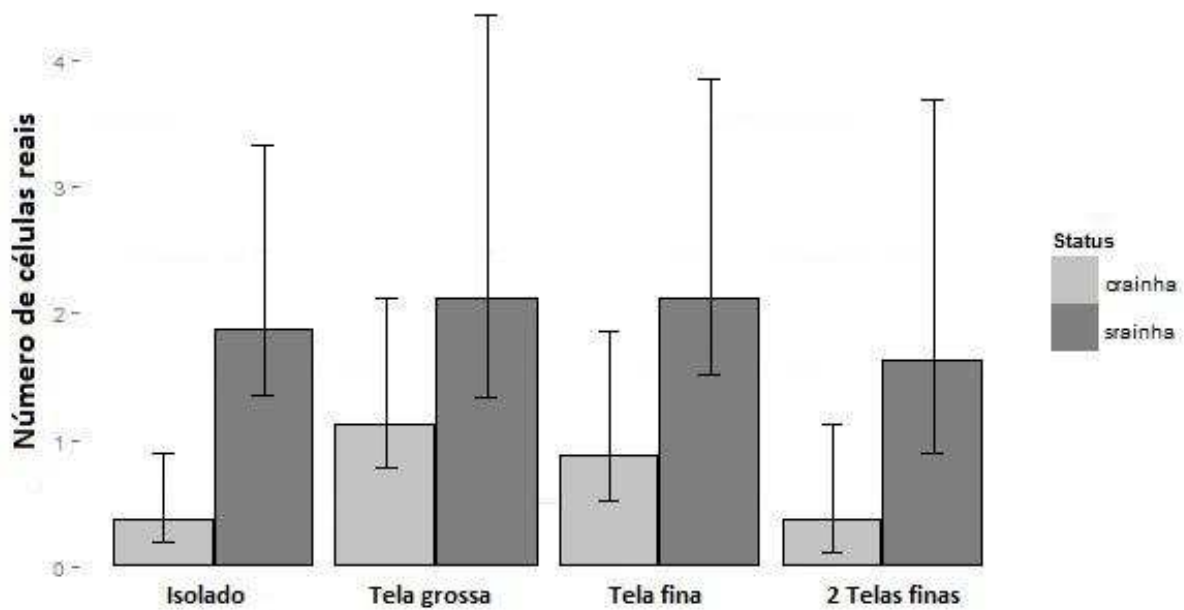


Figura 7. Diferença na construção de células reais entre os *status*, por tratamento. O tratamento Isolado apresentou diferença significativa (  $P=0,006$ ) entre os *status*. Tratamentos Passam ( $P=0,246$ ), Tela fina ( $P=0,075$ ), 2 Telas finas ( $P=0,107$ ) não apresentaram diferença estatística pelo teste Anova a 5% de significância. Barras com desvio padrão.

Os diferentes tratamentos apresentaram semelhantes números totais de produção de célula real (T1=18; T2=26; T3=24; T4=16;  $p>0,05$ ; ANOVA) (Figura 8).

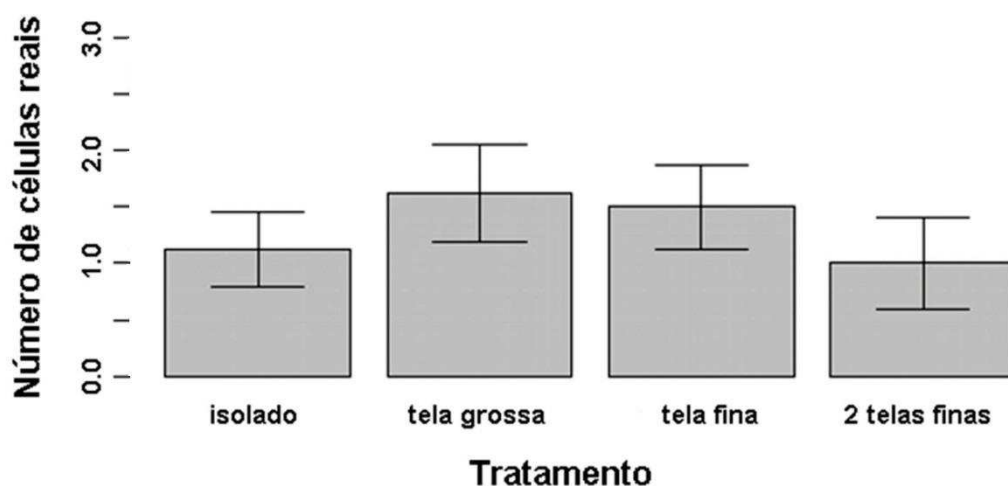


Figura 8. Comparação entre o total de células reais produzidas nos tratamentos experimentais. Barras com desvio padrão.

## 4.2. Tempo para início da construção de células reais em função dos níveis de isolamento

A construção de células reais se concentrou nos primeiros dias após a montagem das colônias experimentais, principalmente na parte da colônia sem a rainha fisiogástrica, havendo um declínio na produção de células reais com o passar dos dias (Figura 9). Na parte da colônia com a rainha fisiogástrica, a construção de células reais se iniciou tardiamente em relação à anterior e se manteve constante durante todo experimento (Tabela 2).

Algumas células reais só foram observadas ao final do período experimental, por estarem escondidas, impossibilitando determinar o dia de sua construção. Frequentemente houve construção de mais de uma célula real por dia.

Tabela 2. Tempo para início e decorrido para a de construção de células reais em função dos níveis de isolamentos.

Tratamentos		Repetições							
		A	B	C	D	E	F	G	H
<b>Isolados</b>	c/ ra	20(1)	-	-	-	-	11(1)	18(1)	-
	s/ra	8(1)-12(1)-20(2)	6(1)-12(1)	8(1)-10(1)	-	-	4(1)	12(3)	6(1)-11(1)-19(1)
<b>Tela grossa</b>	c/ra	12(1)-16(1)	5(1)	20(2)	-	5(2)	-	18(2)	-
	s/ra	8(1)-16(1)	5(1)	11(1)-14(1)	4(2)	-	-	4(3)-20(4)	2(2)-11(1)
<b>Tela fina</b>	c/ra	7(1)-11(1)-16(1)	10(1)	10(1)	-	4(1)	-	14(1)	-
	s/ra	6(1)	6(1)-8(3)	6(1)-10(2)-20(2)	-	4(1)-8(1)	7(1)	4(1)-7(1)-14(1)	12(1)
<b>2telas finas</b>	c/ra	-	-	14(1)	-	-	-	-	8(1)-18(1)
	s/ra	3(2)	12(1)	4(1)-6(4)-14(1)	-	-	-	2(1)	4(1)-6(1)-18(1)

Dias decorridos para construção de células reais, entre parênteses o número de células reais construídas. Com rainha (c/ra) e sem rainha (s/ra).

### 4.3. Análises morfológicas das rainhas

Do total de 84 realeiras construídas, emergiram 53 rainhas, sendo 34 provenientes do compartimento sem rainha e 19 do compartimento com rainha fisiogástrica. Foram obtidas 36 rainhas virgens de colônias naturais e 25 rainhas fisiogástrica, as quais foram utilizadas para as análises morfológicas.

A comparação do tamanho entre os três tipos de rainhas (fisiogástrica, virgens de campo, virgens do experimento) não apresentou diferença significativa, a respeito do tamanho da cabeça medidos entre as interórbitas ( $P=0,841$ ) e largura do tórax medidos entre as intertégulas ( $P=0,411$ ) pelo teste de análise de variância ANOVA a 5% de significância (figuras 10 A e B). Medidas em anexo (Tabela 3).

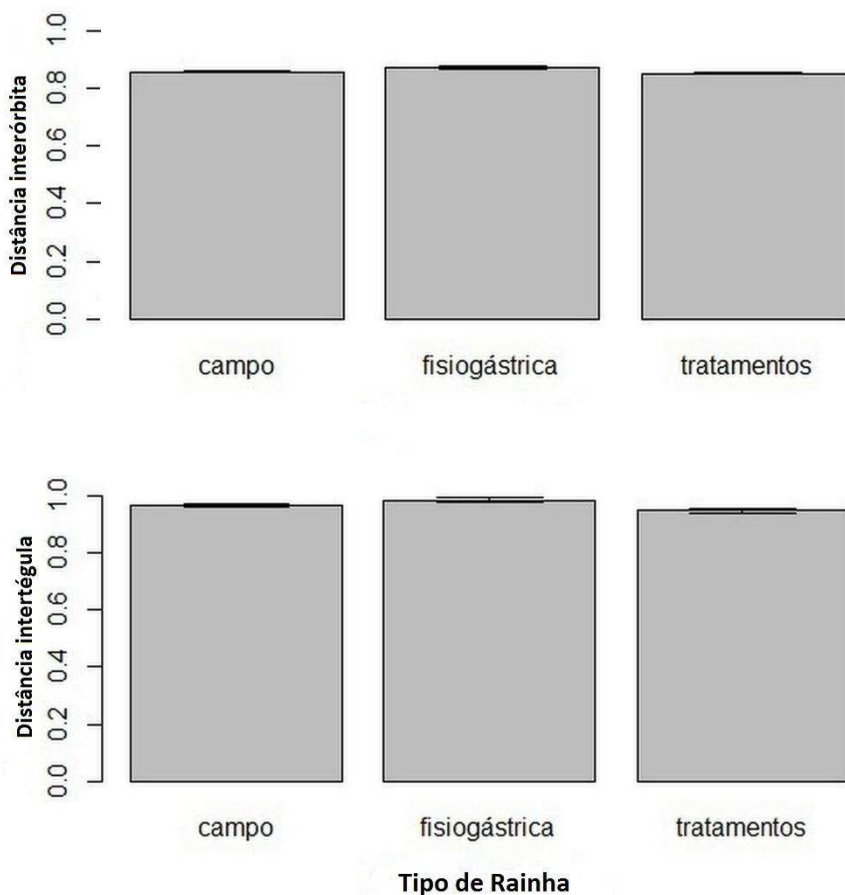


Figura 10. Tamanho (mm) da cabeça medido Interorbital e do tórax medido entre intertégula de rainhas obtidas no experimento, em campo e fisiogástricas de *Plebeia lucii*. Barras com desvio padrão.

## 5. DISCUSSÃO

A quantidade total de células reais construídas nas colônias experimentais foi significativamente maior na condição da ausência da rainha, *status* sem rainha com 60 realeiras e 22 realeiras na presença da rainha. Resultado semelhante foi relatado por Teixeira (2007) para esta mesma espécie, o qual reforça que a presença da rainha é o fator principal para a inibição da construção de células reais; de outro modo, a ausência da rainha é um estímulo à construção das células reais pelas operárias.

Em Meliponini, as espécies conhecidas nas quais as operárias modificam o destino de algumas larvas induzindo a formação de rainhas de emergência, a partir de larvas que, de outra forma, deveriam originar operárias, são, *F. varia* (Faustino, 2002), *F. silvestri* (Teixeira, 2012), *A. australia* (Teixeira, 2012) *T. carbonaria* (Nunes et al., 2015) e *P. lucii* (Teixera, 2007); fato reafirmado para *P. lucii* neste trabalho, onde houve uma grande quantidade de células reais produzidas na ausência da rainha.

Em subespécies de *A. mellifera*, a quantidade de realeiras construídas varia de acordo com o tamanho e número de indivíduos da colônia, ou diferenças na produção e distribuição dos feromônios inibitórios (Feel & Morse, 1984; Neumann et al, 2000). Assim, o comportamento das operárias frente às estas condições é o determinante na substituição da rainha, portanto, na construção de células reais (Schneider & Degrandi-Hoffman, 2008; Winston, 1989). Butler (1953) afirma que em *A. mellifera*, para que haja inibição da construção de células reais, é necessário o contato direto das operárias com a rainha, para que haja troca de substâncias inibitórias, hidrocarbonetos cuticulares, que atuam na inibição da produção de realeiras. Em Meliponini até o momento existem poucas evidências sobre o efeito dos feromônios voláteis influenciarem na inibição da construção de células reais.

Nos experimentos aqui realizados com *P. lucii*, a maior diferença observada na construção de realeiras entre os *status* com e sem rainha, foi nos tratamentos, T1 (isolados) e T4 (2 telas finas). Em ambos os tratamentos não houve contato entre a rainha fisiogástrica e as operárias de um lado com as

operárias do lado oposto. Isso sugere que possíveis substâncias voláteis produzidas pelas rainhas de *P. lucii*, como observadas neste trabalho, não influenciaram, de modo significativo, as taxas de produção de células auxiliares, e que o contato entre a rainha e operárias, é necessário para que se tenha inibição da construção de realeiras, como foi verificado por Nunes et al. (2014) em *Friesella schrottkyi*, onde os hidrocarbonetos cuticulares são os responsáveis pela identificação e controle social por rainhas fisiogástricas nesta espécie de Meliponini.

Nos tratamentos T2(tela grossa), e T3(tela fina) não houve diferença significativa na construção de células reais entre os diferentes *status* da colônia. As operárias estavam livres para circular entre os dois compartimentos da colônia em T2, assim, possivelmente, existia o contato indireto entre rainha e todas operárias de toda colônia. Em T3 havia apenas uma tela fina, possibilitando antenação e possivelmente trofalaxia entre as operárias dos dois compartimentos. Resultado semelhante foi apresentado por Müssbichler (1952) onde rainhas de *A. mellifera* enjauladas dentro da colônia, exerciam inibição da construção de células reais, desde que as operárias pudessem realizar algum contato com sua rainha através da jaula (antenação e trofalaxis). O autor também relata que quando o contato entre a rainha e as operárias era interrompido por um tempo, estas abelhas logo apresentavam sinais de orfandade; isso também ocorre quando a colônia está superpovoada, o que impede que haja contato da rainha com todas operárias da colônia (Winston 1990).

Os insetos sociais apresentam mecanismos de comunicação, nos quais estão envolvidos compostos não voláteis como muitos hidrocarbonetos (Howard & Blomquist 2005). Estas substâncias apresentam uma assinatura específica para as diferentes castas, e é necessário que haja contato direto entre os indivíduos para sua percepção, já que não são compostos voláteis. Os hidrocarbonetos cuticulares atuam como feromônios moduladores e desencadeadores de comportamentos. Testes sobre a influência da presença da rainha no desenvolvimento ovariano de formigas mostram que a inibição só ocorre por meio de feromônios de contato como alguns hidrocarbonetos cuticulares (Wilson,1963 *apud* Liebig et al., 2000). Esse efeito modulador

também foi observado em *Bombus terrestris* por Lopez- Vaamonde e colaboradores (2007). Neste estudo os autores demonstraram que os feromônios não voláteis inibem tanto o comportamento de postura de operárias, quanto o desenvolvimento de outras rainhas em colônias da espécie (Velthuis *et al.* 2002, Tóth *et al.* 2002, Koedam *et al.* 2005, Ratnieks *et al.* 2006). Para Meliponini Nunes *et al.* (2014) verificaram que hidrocarbonetos cuticulares de rainhas fisiogástricas inibem o desenvolvimento ovariano das operárias, o artigo não trata sobre o a construção de células reais.

O comportamento agressivo da rainha também é uma forma de controle da construção de células reais, este comportamento ocorre principalmente para espécies eussociais primitivas com colônias pequenas, entretanto em colônias com grande quantidade de indivíduos essa dominância física é improvável (Keller & Nonacs, 1993). Agressividade da rainha nos Meliponini ainda não foi muito bem estudada, e neste trabalho não foi observado tal comportamento.

A construção de realeiras, em todos os casos mencionados, quando ocorre inibição, é necessário que haja contato direto entre operárias e rainha. Desta forma, em colônias órfãs as operárias apresentam comportamentos diferentes daquelas que estão em contato direto com a rainha, resultando em ativação do ovário, ou diretamente na construção de realeiras, comportamento verificado neste trabalho. A produção de realeiras em *Apis* é inibida somente pela presença física da rainha e não pelas suas secreções voláteis. (Butler, 1960. Lensky & Slabezki 1980). Assim dados obtidos permitem sugerir que em *P. lucii* a inibição de células reais também é realizada por feromônios da rainha, principalmente por feromônios de contato, desta forma, é necessário que se tenha presença da rainha ou de seus compostos, para que a inibição da construção de realeiras ocorra.

Nos experimentos com *P. lucii* a construção de células reais iniciou com 48 horas após a divisão experimental, na parte da colônia sem a rainha, com maior número de células reais construídas com 96 horas após a divisão experimental, havendo um declínio na produção de células reais com o passar dos dias, fato semelhante foi verificado por Teixeira (2007) para colônias órfãs desta espécie. Já na parte da colônia com a rainha, a construção de células

reais se iniciou com 96 horas após a divisão experimental, e se manteve constante até os dias finais das observações, semelhante ao observado em colônia com rainhas fisiogástricas (Teixeira, 2007). Em *F. schrottkyi*, o tempo para início da construção das realeiras ocorreu em até 24h da montagem experimental, estando relacionado à percepção da ausência da rainha pelas operárias, ou melhor, do tempo de permanência dos feromônios de rainha, que são hidrocarbonetos cuticulares (Nunes et al., 2014). Corroborando ao comportamento já observado em colônias órfãs de *A. mellifera* (Winston et al 1989), Nunes et al (2014) em outro experimento com colônias órfãs de *Tetragonula carbonaria* (Smith, 1854) verificou que a construção de realeiras se inicia entre o terceiro e sexto dia de orfandade da colônia.

Houve emergência de 53 rainhas virgens das 82 células reais produzidas no experimento. Com relação ao tamanho, estas rainhas não diferiram estatisticamente de rainhas produzidas em colônias naturais, demonstrando que, rainhas produzidas experimentalmente, em situações controladas, são produzidas através de processos semelhantes, como a construção de células auxiliares e também com a mesma quantidade de alimento depositado pelas operárias nas células de cria e auxiliar, tanto em colônias órfãs como naturais. Teixeira e Campos (2005) e Teixeira (2007) relataram que rainhas de *P. lucii* produzidas em colônias órfãs experimentais, eram menores do que aquelas produzidas em colônias naturais com rainha fisiogástrica.

Em Meliponini, é comum a variação de tamanho entre rainhas, havendo inclusive espécies que produzem, além das rainhas com tamanho natural, rainhas miniaturas ou anãs, as quais são produzidas em células de mesmo tamanho que as de operárias e apresentam tamanho menor que as rainhas emergidas de células reais típicas (Engels & Imperatriz-Fonseca, 1990; Imperatriz-Fonseca et al., 1997; Bourke & Ratnieks, 1999; Ribeiro, 2004; Wenseelers et al., 2005; Ribeiro et al., 2006). O presente trabalho mostrou que os tamanhos das rainhas produzidas em resposta à orfandade em colônias experimentais ou em condições naturais são semelhantes, ou seja, os tamanhos variam de modo semelhante dentro dos tratamentos e em condições naturais.

## 6. CONCLUSÃO

Em colônias experimentais de *P. Lucii*, a quantidade de realeiras produzidas é maior quando as operárias não possuem nenhum tipo de contato físico com a rainha. Desta forma pode-se verificar que provavelmente são os feromônios de contato da rainha que atuam na inibição da construção de novas células reais e conseqüentemente na produção de rainhas.

A resposta das operárias de *P. Lucii* em relação à perda de contato com a rainha é iniciada nas primeiras 48 horas, resultando em construção de realeiras, mostrando que as operárias percebem rapidamente a falta da rainha na colônia e iniciam o processo de produção de rainhas de emergência.

Rainhas produzidas em condições controladas apresentam tamanhos semelhantes às rainhas produzidas em colônias naturais, mostrando que estas rainhas são possivelmente produzidas de forma semelhante às produzidas em colônias naturais. Os experimentos também mostram que é possível produzir rainhas em colônias experimentais, que podem ser utilizadas na substituição da rainha fisiogástrica ou na multiplicação de colônias.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASENCOT, M.; LENSKY, Y. Juvenile hormone induction of 'queenliness' on female honey bee (*Apis mellifera* L.) larvae reared on worker jelly and on stored royal jelly. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, v. 78, n. 1, p. 109-117, 1984.

BEIG, D. The production of males in queenright colonies of *Trigona* (*Scaptotrigona*) *postica*. *Journal of Apicultural Research*, v. 11, n. 1, p. 33-39, 1972.

BUTLER, C. G. The method and importance of the recognition by a colony of honeybees (*A. mellifera*) of the presence of its queen. *Transactions of the Royal Entomological Society of London*, v. 105, n. 2, p. 11-29, 1954.

BUTLER, C. G. The significance of queen substance in swarming and supersedure in honey-bee (*Apis mellifera* L.) colonies. *Proceedings of the Royal Entomological Society of London. Series A, General Entomology*. Vol. 35. No. 7-9. Blackwell Publishing Ltd, 1960.

CAMARGO, J. M. F. *Manual de apicultura*. São Paulo: Agronômica Ceres, 252p. 1972.

CAMPOS, L. A. O.; PERUQUETTI, R. C. *Biologia e criação de abelhas sem ferrão*. Viçosa: Conselho de Extensão. Universidade Federal de Viçosa, Informe Técnico 82. 38p. 1999.

DE TOLEDO, V. A. A.; NOGUEIRA-COUTO, R. H., MALHEIROS, E. B., FAQUINELLO, P., & SEREIA, M. J. Produção de realeiras em colônias híbridas de *Apis mellifera* L. e longevidade de rainhas. *Global Science and Technology*, v. 5, n. 2, 2012.

ENGELS, W.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. Caste development, reproductive strategies, and control of fertility in honey bees and stingless bees. In *Social Insects*. Springer Berlin Heidelberg. pp. 167-230 1990

FAUSTINO, C. D.; MATOS, E. V. S.; MATEUS, S.; ZUCCHI, R. First record of emergency queen rearing in stingless bees. *Insectes Sociaux*, v. 49, p.11-113, 2002.

FELL, R. D.; MORSE, R. A. Emergency queen cell production in the honey bee colony. *Insectes sociaux*, v. 31, n. 3, p. 221-237, 1984.

HARTFELDER, K.; ENGELS, W. The composition of larval food in stingless bees: Evaluating nutritional balance by chemosystematic methods. *Insectes Sociaux*, v. 36, p. 1-14, 1989.

HOWARD, R. W.; BLOMQUIST, G. J. Ecological, behavioral, and biochemical aspects of insect hydrocarbons\*. *Annual Review of Entomology*. v. 50, p. 371-393, 2005.

INOUE, Tamiji et al. The process of colony multiplication in the Sumatran stingless bee *Trigona (Tetragonula) laeviceps*. *Biotropica*, p. 100-111, 1984.

JAFFÉ, R.; POPE, N.; CARVALHO, A. T.; MAIA, U. M.; BLOCHTEIN, B.; DE CARVALHO, C. A. L.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. Bees for development: Brazilian survey reveals how to optimize stingless beekeeping. *PloS one*, v. 10, n. 3, 2015.

KELLER, Laurent; NONACS, Peter. The role of queen pheromones in social insects: queen control or queen signal? *Animal Behaviour*, v. 45, n. 4, p. 787-794, 1993.

Kerr, W. E., A. C. Stort, and MONTENEG. MJ. "Importância de alguns fatores ambientais na determinação das castas no gênero *Melipona*." *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 38.1: 149, 1966.

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

KERR, W. E.; CARVALHO, G. A.; SILVA, A. C.; ASSIS, M. G. P. Aspectos pouco mencionados da biodiversidade amazônica. *Parcerias Estratégicas*, Brasília - DF, n. 12, p. 20-41. 2001.

KERR, W. E.; CARVALHO, G. A.; NASCIMENTO, V. M. Abelha Uruçu. *Biologia, Manejo e Conservação. Coleção Manejo da Vida Silvestre*, v. 2. Fundação Acangá, Belo Horizonte, 143 pp. 1996.

KOEDAM, D.; CONTRERA, F. A. L.; FIDALGO, A. O.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. How queens and workers share in male production in the stingless bee *Melipona subnitida* Ducke (Apidae, Meliponini). *Insectes Soc.* v. 52, p. 114-121, 2005.

LENSKY, Y.; SLABEZKI, Y. The inhibiting effect of the queen bee (*Apis mellifera* L.) foot-print pheromone on the construction of swarming queen cups. *Journal of Insect Physiology*, v. 27, n. 5, p. 313-323, 1981.

LIEBIG, J.; PEETERS, C.; OLDHAM, N. J.; MARKSTÄDTER, C.; HÖLLDOBLER, B. Are variations in cuticular hydrocarbons of queens and workers a reliable signal of fertility in the ant *Harpegnathos saltator*? *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 97, n. 8, p. 4124-4131, 2000.

LOPEZ-VAAMONDE, C.; BROWN, R. M.; LUCAS, E. R.; PEREBOOM, J. J.; JORDAN, W. C.; BOURKE, A. F. Effect of the queen on worker reproduction and new queen production in the bumble bee *Bombus terrestris*. *Apidologie*, v. 38, n. 2, p. 171-180, 2007.

MICHENER, C. D. Notes on the habits of some Panamanian stingless bees (Hymenoptera, Apidae). *Journal of the New York Entomological Society*, p. 179-197, 1946.

MICHENER, C. D. The bees of the world. Baltimore: The Johns Hopkins University Press, p. 913, 2000.

MICHENER, C.D. The social behavior of bees. Cambridge, Massachusetts: The Belknap Press of Harvard University Press. 404p. 1974.

MONNIN T, Chemical recognition of reproductive status in social insects. *Annales Zoologici Fennici*. 43, 515–530. 2006,

MOURE, J.S. Duas espécies novas de *Plebeia* Schwarz do Brasil (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). *Revista Brasileira de Entomologia* 48(2): 199-202. 2004.

Müssbichler, A. "Die Bedeutung äusserer Einflüsse und der Corpora allata bei der Afterweiselentstehung von *Apis mellifica*." *Zeitschrift für vergleichende Physiologie* 34.3 (1952): 207-221.

NEUMANN, P.; HEPBURN, H. R.; RADLOFF, S. E. Modes of worker reproduction, reproductive dominance and brood cell construction in queenless honeybee (*Apis mellifera* L.) colonies. *Apidologie*, v. 31, n. 4, p. 479-486, 2000.

NIJHOUT, H. F.; WHEELER, D. F. Juvenile hormone and the physiological basis of insect polymorphisms. *The Quarterly Review of Biology*, v. 57, n. 2,p. 109-133, 1982.

NOGUEIRA-NETO. Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão. São Paulo: Edição Nogueirapis, 1997.

NUNES, T. M.; MATEUS, S.; FAVARIS, A. P.; AMARAL, M. F.; VON ZUBEN, L. G.; CLOSOSKI, G. C. LOPES, N. P. Queen signals in a stingless bee: suppression of worker ovary activation and spatial distribution of active compounds. *Scientific reports*, v. 4, 2014.

NUNES, T. M.; HEARD, T. A.; VENTURIERI, G. C.; OLDROYD, B. P. Emergency queens in *Tetragonula carbonaria* (Smith, 1854) (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). *Austral Entomology*, v. 54, n. 2, p. 154-158, 2014.

PAGE, R. E.; PENG, C. Y. S. Aging and development in social insects with emphasis on the honey bee, *Apis mellifera* L. *Experimental gerontology*, v. 36, n. 4, p. 695-711, 2001.

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, p. 174-181, 2003.

PEDRO, S. R. M. The Stingless Bee Fauna In Brazil (Hymenoptera: Apidae). *Sociobiology*, v. 61, n. 4, p. 348-354, 2014.

RATNIEKS, F. L. W; FOSTER, K. R.; WENSELEERS, T. Conflict resolution in insect societies. *Annual Review of Entomology.* v. 51, p. 581-608, 2006.

- RIBEIRO, M. F. *et al.* Miniature queens in stingless bees: basic facts and evolutionary hypotheses. *Apidologie*, v. 37, n. 2, p. 191-206, 2006.
- ROUBIK, D. W. Ecology and natural history of tropical bees. Cambridge: Cambridge University Press, p. 514, 1989.
- SAKAGAMI, S. F. Stingless bees. In: Hermann, H. R. (Ed.). *Social insects*. New York: Academic, v.3, p.361- 423. 1982.
- SCHNEIDER, S. S.; DEGRANDI-HOFFMAN, G. Queen replacement in African and European honey bee colonies with and without afterswarms. *Insectes sociaux*, v. 55, n. 1, p. 79-85, 2008.
- SILVEIRA, F. A.; MELO, G. A. R.; ALMEIDA, E. A. B. Abelhas brasileiras. *Sistemática e Identificação*. Fundação Araucária, Belo Horizonte, 2002.
- SILVA, D. L. N.; ZUCCHI, R.; KERR, W. E. Biological and behavioral aspects of the reproduction in some species of *Melipona* (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). *Animal Behaviour*. v. 20, p. 123-132, 1972.
- SOMMEIJER, M. J.; CHINH, T. X.; MEEUWSEN, F. J. A. J. 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.
- TEIXEIRA, L. V. Produção de rainhas em colônias de *Plebeia lucii* (Hymenoptera, Apidae, Meliponina). Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Viçosa/UFV, Viçosa, 30p. 2007.
- TEIXEIRA, L. V. Produção de rainhas em espécies de abelhas sem ferrão com células de cria dispostas em cacho (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). Tese de Doutorado. Universidade Federal de Viçosa. 2012.
- TEIXEIRA, L. V.; CAMPOS, L. A. O. Produção de rainha de emergência em *Plebeia lucii* (Hymenoptera, Apidae, Meliponina). Simpósio Brasileiro de Insetos Sociais, Belo Horizonte, Brazil. CD-ROM, 2005.
- TERADA, Y. Contribuição ao estudo da regulação social em *Leurotrigona muelleri* e *Frieseomelitta varia* (Hymenoptera, Apidae). Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, Brasil. 1974.
- VELTHUIS, H. H. W. Queen substance from the abdomen of honey bee queen. *Zeitschrift für vergleichende Physiologie*. Utrecht, 70:210-222. 1970.
- 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.
- ZUCCHI, R. Ritualized dominance, evolution of queen-worker interactions and related aspects in stingless bees (Hymenoptera, Apidae). *Evolution of Insect Societies*, p.209-249. 1993.

WEAVER, N. Physiology of caste determination. Annual Review of Entomology. v. 11, p. 79-102, 1966.

WENSELEERS, T.; RATNIEKS, F. L.; DE F RIBEIRO, M.; DE A ALVES, D.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. Working-class royalty: bees beat the caste system. Biology letters, v. 1, n. 2, p. 125-128, 2005.

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

WILSON, E. O. et al. The insect societies. The insect societies, 1971.

WINSTON, M. L.; SLESSOR, K. N.; WILLIS, L. G.; NAUMANN, K., HIGO, H. A., WYBORN, M. H., & KAMINSKI, L. A.. The influence of queen mandibular pheromones on worker attraction to swarm clusters and inhibition of queen rearing in the honey bee (*Apis mellifera* L.). Insectes sociaux, v. 36, n. 1, p. 15-27, 1989.

WINSTON, M. L.; HIGO, H. A.; SLESSOR, K. N. Effect of various dosages of queen mandibular gland pheromone on the inhibition of queen rearing in the honey bee (Hymenoptera: Apidae). Annals of the Entomological Society of America, v. 83, n. 2, p. 234-238, 1990.

## ANEXO

Tabela 3. Medidas da largura intertégula e interorbita dos três grupos de rainhas utilizadas para avaliação morfológicas no experimento.

Rainhas fisiogástricas			Rainhas do experimento			Rainhas do campo		
indivíduo	med. da cabeça	med. do tórax	indivíduo	med. da cabeça	med. do tórax	indivíduo	med. da cabeça	med. do tórax
F 01	0,85	1,05	T 01	0,87	0,93	C 01	0,84	1,00
F 02	0,89	0,97	T 02	0,81	0,87	C 02	0,85	0,94
F 03	0,87	0,94	T 03	0,80	0,91	C 03	0,84	0,94
F 04	0,87	0,97	T 04	0,88	0,89	C 04	0,88	1,04
F 05	0,91	0,97	T 05	0,87	0,96	C 05	0,87	1,00
F 06	0,85	0,91	T 06	0,85	0,94	C 06	0,89	0,96
F 07	0,90	1,04	T 07	0,86	0,99	C 07	0,87	0,93
F 08	0,88	1,00	T 08	0,82	0,88	C 08	0,81	1,05
F 09	0,84	0,97	T 09	0,87	0,92	C 09	0,90	1,03
F 10	0,90	0,99	T 10	0,86	0,94	C 10	0,85	0,92
F 11	0,92	0,95	T 11	0,90	1,04	C 11	0,86	0,94
F 12	0,91	1,01	T 12	0,85	0,96	C 12	0,88	0,97
F 13	0,86	0,97	T 13	0,87	0,99	C 13	0,88	0,95
F 14	0,86	0,97	T 14	0,87	0,96	C 14	0,89	0,94
F 15	0,88	1,04	T 15	0,84	0,88	C 15	0,82	0,96
F 16	0,88	1,02	T 16	0,84	0,95	C 16	0,87	0,91
F 17	0,86	1,01	T 17	0,83	1,00	C 17	0,88	0,97
F 18	0,90	1,09	T 18	0,85	0,99	C 18	0,84	0,96
F 19	0,87	0,98	T 19	0,78	0,90	C 19	0,85	0,94
F 20	0,82	0,93	T 20	0,91	1,01	C 20	0,92	0,99
F 21	0,85	1,05	T 21	0,85	0,95	C 21	0,89	0,92
F 22	0,89	0,97	T 22	0,84	0,85	C 22	0,81	0,99
F 23	0,87	0,94	T 23	0,83	0,88	C 23	0,85	0,99
F 24	0,87	0,97	T 24	0,93	1,00	C 24	0,87	0,99
F 25	0,91	0,97	T 25	0,84	0,90	C 25	0,88	1,00
			T 26	0,86	0,97	C 26	0,84	0,94
			T 27	0,89	0,97	C 27	0,85	0,94
			T 28	0,83	0,88	C 28	0,84	1,04
			T 29	0,81	0,94	C 29	0,85	1,00
			T 30	0,87	0,94	C 30	0,84	0,96
			T 31	0,89	0,99	C 31	0,85	0,93
			T 32	0,79	0,88	C 32	0,85	1,05
			T 33	0,85	0,93	C 33	0,81	1,03
			T 34	0,83	0,93	C 34	0,85	0,92
			T 35	0,87	1,00	C 35	0,86	0,94
			T 36	0,89	1,02	C 36	0,86	0,97
			T 37	0,88	0,99			
			T 38	0,89	1,06			
			T 39	0,81	0,85			
			T 40	0,88	0,94			
			T 41	0,82	0,91			
			T 42	0,86	0,94			
			T 43	0,87	0,95			
			T 44	0,88	0,95			
			T 45	0,87	0,98			
			T 46	0,84	1,22			
			T 47	0,78	0,85			
			T 48	0,83	0,94			
			T 49	0,83	0,90			
			T 50	0,87	0,99			
			T 51	0,87	0,98			
			T 52	0,84	0,91			