



**MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÕES – MCTI**  
**INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA - INPA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENTOMOLOGIA**

Efeito da alimentação suplementar sobre o tamanho populacional estimado e os caracteres morfológicos de adultos de *Melipona seminigra merrillae* Cockerell, 1919 (Apidae, Meliponini)

JANAINA DA CRUZ CAMPELO

Manaus-AM

Fevereiro de 2024

JANAINA DA CRUZ CAMPELO

Efeito da alimentação suplementar sobre o tamanho populacional estimado e os caracteres morfológicos de adultos de *Melipona seminigra merrillae* Cockerell, 1919 (Apidae, Meliponini)

ORIENTADORA: GISLENE ALMEIDA CARVALHO-ZILSE

Dissertação apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Entomologia do INPA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas, área de concentração em Entomologia.

Manaus-AM

Fevereiro de 2024

JANAINA DA CRUZ CAMPELO

Efeito da alimentação suplementar sobre o tamanho populacional estimado e os caracteres morfológicos de adultos de *Melipona seminigra merrillae* Cockerell, 1919 (Apidae, Meliponini)

Aprovada em: 02/ 02/ 2024

Banca Julgadora:

---

Dr. Alberto Moreira da Silva Neto (INPA)

---

Dr. Carlos Alfredo Lopes de Carvalho (UFRB)

---

Dra. Lorena Andrade Nunes (FTC/BAHIA)

**Ficha Catalográfica**

Catalogação na Publicação (CIP-Brasil)



C193e Campelo, Janaina da Cruz  
Efeito da alimentação suplementar sobre o tamanho populacional estimado e os caracteres morfológicos de adultos de *Melipona seminigra merrillae* Cockerell, 1919 (Apidae, Meliponini) / Janaina da Cruz Campelo; orientador Gislene Almeida Carvalho-Zilse. - Manaus: [s.l.], 2024.

2,06 MB

83p. : il. color.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Entomologia) - Coordenação do Programa de Pós-Graduação, INPA, 2024.

1. Abelhas "sem-ferrão". 2. Suplementação alimentar. 3. Morfometria. I. Carvalho-Zilse, Gislene Almeida. II. Título

CDD 595.799

**Sinopse:**

Neste estudo, avaliamos se o fornecimento de alimentação suplementar em colônias de *Melipona seminigra merrillae* Cockerell, 1919, mantidas em meliponário, afeta o tamanho populacional estimado e os caracteres morfológicos das operárias adultas.

**Palavras-chave:** Abelhas “sem-ferrão”, suplementação alimentar, morfometria

*Dedico a minha família por sempre me apoiar durante a minha jornada e aos meliponicultores que buscam informações confiáveis para melhor praticar a atividade de criação de abelhas “sem-ferrão”.*

## Agradecimentos

Primeiramente à Deus, por toda a proteção concedida e por me permitir conhecer e estar entre pessoas maravilhosas.

À minha orientadora Dra. Gislene Almeida Carvalho-Zilse, pela sua valiosa orientação e apoio na elaboração deste trabalho, por ser uma fonte de motivação para que eu persista em avançar sempre.

Aos meus queridos pais (Jaime e Maria de Fátima), irmã (Gilmara) e irmão (Jonilson), por todo suporte que me foi dado ao longo desta jornada. Uma menção especial à minha mãezinha, que sempre me inclui em suas orações, desejando que tudo ocorra da melhor maneira possível.

À minha querida amiga Heliana, que esteve ao meu lado nos momentos de alegrias e nos momentos mais desafiadores, foi essencial e uma grande incentivadora na minha formação profissional. Espero que continue presente em minha vida. Agradeço também ao Fabrício (Bibi), que me acompanhou em algumas excursões para desenvolvimento do experimento. Eles têm sido bons companheiros, sendo como uma família para mim aqui em Manaus.

Aos colegas do Grupo de Pesquisas em Abelhas – GPA-INPA, pela ajuda durante o procedimento de contagem das abelhas. Em especial, quero expressar minha gratidão à Juciane pela companhia e aprendizado compartilhado durante o treinamento da morfometria geométrica.

Aos técnicos Diego Albuquerque e Hélio Vilas Boas expressei minha imensa gratidão pelo incrível suporte que me proporcionaram durante a execução do experimento. Devo mencionar que aprendi bastante com eles, uma vez que eu não possuía conhecimento algum sobre o manejo das abelhas “sem-ferrão”. A ajuda destes foi fundamental para o desenvolvimento da minha pesquisa.

Ao Sr. Itamar, meliponicultor responsável pelo meliponário Alvorecer, por gentilmente fornecer temporariamente algumas de suas colônias de abelhas “sem-ferrão” para realização do experimento.

À Fabiana e Mariuska pelos momentos de descontração regado a pipoca ao lado dos colegas e técnicos do GPA-INPA.

Aos colegas, José Neto pela atenciosa colaboração nas análises estatísticas e José Augusto pela identificação das abelhas.

Ao Dr. David Nogueira pelas dicas fornecidas para a montagem das asas das abelhas em lâminas, assim como pelas instruções em morfometria geométrica.

À Dr<sup>a</sup>. Lorena Nunes e ao Dr. Edilson Divino pela paciência e pelos valiosos ensinamentos na técnica de morfometria geométrica. Agradeço também ao Darlan, da Universidade Federal de Sergipe – UFS, pelas dicas e treinamento inicial em morfometria geométrica.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 e pela concessão da minha bolsa de mestrado e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM) – POSGRAD e pelos recursos direcionados ao Programa de Pós-graduação em Entomologia.

A todos aqueles que, porventura, tenha deixado de mencionar e que contribuíram para a minha formação. Muito obrigada!

### Resumo (em português)

Os recursos alimentares das abelhas (néctar e pólen) estão sujeitos a grandes flutuações ao longo do ano em virtude do ciclo reprodutivo das plantas, das estações do ano, etc e, portanto, nem sempre estarão disponíveis em quantidade e qualidade suficientes. Ainda, na prática da meliponicultura pode ocorrer a redução da disponibilidade destes recursos como resultado do adensamento de várias colônias num único local. A escassez momentânea de alimento na natureza pode provocar a diminuição ou pausa na postura de ovos pela rainha, enfraquecendo e, até mesmo, levar a colônia à morte. Durante o período em que há escassez temporária de alimento é necessário utilizar alimentação suplementar para garantir que as colônias se mantenham em boas condições até a próxima floração. No entanto, pouco se sabe sobre os efeitos dessa suplementação para as colônias e seus indivíduos. Este estudo avaliou, comparativamente, o efeito da alimentação suplementar sobre o tamanho populacional estimado e os caracteres morfológicos de operárias adultas em colônia de *Melipona seminigra merrillae* Cockerell, 1919 mantidas em meliponário. Utilizamos colônias de dois meliponários urbanos de Manaus (meliponário científico GPA-INPA e meliponário Alvorecer) que, durante um período de 21 semanas (agosto/2021 a janeiro/2022), foram suplementadas semanalmente com as seguintes alimentações: T1–Xarope (Controle), T2–Pólen, T3–Soja e T4–Aminomix além do livre acesso ao pasto meliponícola. O tamanho populacional foi estimado pelo número de células de crias operculadas semanalmente e pelo número de abelhas saindo da colônia em um período de 5 minutos, contabilizados antes (tempo zero) e em distintos tempos (70, 95, 120 e 145 dias) após o início das alimentações. Para a análise da morfometria obteve-se dados quanto à distância interocular, distância intertegular e área da corbícula; além do tamanho da asa e assimetria flutuante (AF) da forma da asa em distintos tempos (0, 70, 95, 120 e 145 dias de suplementação alimentar). Para avaliar o efeito das alimentações no tamanho populacional e nos caracteres morfológicos das abelhas ao longo do tempo e em distintos meliponários, utilizamos diferentes Modelos Lineares Generalizados Mistos (GLMMs) que foram submetidos a Análise de Variância (ANOVA) e, quando possível, realizadas comparações múltiplas de Tukey. Ao final do tempo experimental, observou-se que a média de células de cria para as colônias entre os tratamentos foi a seguinte: T1–Xarope com 5.779 células, T2–Pólen com 5.614 células, T4–Aminomix com 5.162,3 células e T3–Soja com 4.541 células de cria. No entanto, as alimentações suplementares não tiveram efeito significativo no tamanho populacional ao longo do tempo e nos dois meliponários. Por meio da análise dos caracteres



morfológicos, constatou-se que as alimentações T2–Pólen, T3–Soja e T4–Aminomix não afetaram o tamanho corporal e a simetria da forma da asa das operárias ao longo do tempo. Porém, ao avaliar o efeito das alimentações sobre o tamanho corporal das operárias, considerando cada meliponário, resultados distintos foram observados. Enquanto no GPA-INPA a alimentação T4 reduziu a distância interocular ao longo do tempo, no Alvorecer as abelhas alimentadas com T2 tiveram a menor distância intertegular. As variações na composição das alimentações, assim como, as diferenças ambientais no entorno de cada meliponário certamente devem ter contribuído para os efeitos observados. Portanto, consideramos que seria economicamente mais interessante para os meliponicultores utilizar somente o xarope em suas colônias, em comparação com outras alimentações analisadas neste estudo.

## Resumo em inglês

The food resources of bees (nectar and pollen) are subject to large fluctuations throughout the year due to the reproductive cycle of plants, seasons, etc., and therefore may not always be available in sufficient quantity and quality. Furthermore, in the practice of meliponiculture, the availability of these resources may be reduced because of the clustering of several colonies in a single location. Momentary scarcity of food in nature can cause a decrease or pause in egg laying by the queen, weakening and, even leading the colony to death. During periods of temporary food scarcity, supplemental feeding is necessary to ensure that the colonies remain in good condition until the next flowering season. However, little is known about the effects of this supplementation on colonies and their individuals. This study comparatively evaluated the effect of supplemental feeding on the estimated population size and morphological characteristics of adult workers in a colony of *Melipona seminigra merrillae* Cockerell, 1919 maintained in a meliponary. We used colonies from two urban meliponaries in Manaus (GPA-INPA scientific meliponary and Alvorecer meliponary) that, over a period of 21 weeks (August 2021 to January 2022), were supplemented weekly with the following feedings: T1—Syrup (Control), T2—Pollen, T3—Soy, and T4—Aminomix, in addition to free access to meliponicultural pasture. The population size was estimated by the number of sealed brood cells weekly and by the number of bees leaving the colony in a 5-minute period, counted before (zero time) and at different times (70, 95, 120, and 145 days) after the start of feedings. Morphometric analysis provided data on interocular distance, intertegular distance, corbicular area, wing size, and fluctuating asymmetry (FA) of wing shape at different times (0, 70, 95, 120, and 145 days of supplemental feeding). To evaluate the effect of feedings on population size and morphological characteristics of bees over time and in different meliponaries, we used different Generalized Linear Mixed Models (GLMMs) that were subjected to Analysis of Variance (ANOVA) and, when possible, Tukey's multiple comparisons. At the end of the experimental period, it was observed that the mean number of brood cells for the colonies among treatments was as follows: T1—Syrup with 5,779 cells, T2—Pollen with 5,614 cells, T4—Aminomix with 5,162.3 cells, and T3—Soy with 4,541 brood cells. However, supplemental feedings did not have a significant effect on population size over time and in the two meliponaries. Through analysis of morphological characteristics, it was found that feedings T2—Pollen, T3—Soy, and T4—Aminomix did not affect the body size and symmetry of wing shape of workers over time. However, when evaluating the effect of feedings on body size of

workers, considering each meliponary, different results were observed. While in GPA-INPA feeding T4 reduced the interocular distance over time, in Alvorecer, bees fed with T2 had the smallest intertegrular distance. Variations in the composition of feedings, as well as environmental differences around each meliponary, certainly contributed to the observed effects. Therefore, we consider it economically more interesting for meliponicultors to use only syrup in their colonies compared to other feedings analyzed in this study.

## Sumário

1	Introdução Geral.....	13
2	Objetivos .....	19
2.1	Geral:.....	19
2.2	Específicos: .....	19
3	Organização da Dissertação .....	19
	CAPÍTULO 1 – A alimentação suplementar potencializa o número de indivíduos em colônia de abelha “sem-ferrão”? .....	19
	Introdução .....	21
	Materiais e Métodos .....	22
	Resultados .....	27
	Discussão.....	36
	Conclusão.....	41
	Referências Bibliográficas .....	41
	CAPÍTULO 2 – Variação morfométrica e assimetria flutuante em abelhas <i>Melipona seminigra merrillae</i> Cockerell, 1919 sob diferentes alimentações suplementares .....	46
	Introdução .....	48
	Material e Métodos .....	50
	Resultados .....	57
	Discussão.....	66
	Conclusão.....	70
	Referências Bibliográficas .....	71
4	Conclusões Gerais .....	75
	Referências bibliográficas.....	76
	Apêndice A – Receitas para o preparo das alimentações suplementares utilizadas no experimento.....	80
	Anexo A – Composição do suplemento Aminomix® Pet (Níveis de garantia por kg do produto, fornecido pelo fabricante).....	82

## Lista de Figuras

### Capítulo 1

- Figura 1: Mapa de localização dos meliponários experimentais em Manaus. Fonte: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE, 2022; Google Earth, 2023. Organização: J. Campelo..... 23
- Figura 2: Número de células de cria reabertas em relação ao número de células de cria ovipostas de *Melipona seminigra merrillae* em cada tratamento e em diferentes meliponários..... 30
- Figura 3: Efeito das alimentações suplementares no número de células de cria reabertas de *Melipona seminigra merrillae* em diferentes meliponários. .... 30
- Figura 4: Efeito das alimentações suplementares no tamanho populacional (estimado pelo número de células de cria) de *Melipona seminigra merrillae* ao longo do tempo..... 31
- Figura 5: Efeito das alimentações suplementares no tamanho populacional (estimado pelo número médio de abelhas que saiam da colônia) de *Melipona seminigra merrillae* ao longo do tempo. .... 32
- Figura 6: Efeitos das alimentações suplementares no tamanho populacional (estimado pelo número de células de cria) de *Melipona seminigra merrillae* ao longo do tempo em dois meliponários: A – GPA-INPA e B – Alvorecer..... 33
- Figura 7: Efeitos das alimentações suplementares no tamanho populacional (estimado pelo número médio de abelhas que saiam da colônia) de *Melipona seminigra merrillae* ao longo do tempo em dois meliponários: A – GPA-INPA e B – Alvorecer. .... 35

### Capítulo 2

- Figura 1: Mapa do local de estudo. Fonte: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE, 2022; Google Earth, 2023. Organização: J. Campelo. .... 51
- Figura 2: Estruturas corporais dos espécimes de *Melipona seminigra merrillae* utilizada para a obtenção dos dados de: A – Distância interocular (vista frontal); B – Distância intertegular (vista dorsal) e C – Área da corbícula (vista lateral). .... 54
- Figura 3: Asa anterior direita de *Melipona seminigra merrillae* com os 13 marcos anatômicos estabelecidos..... 55
- Figura 4: Efeito das alimentações suplementares sobre os caracteres morfológicos de operárias de *Melipona seminigra merrillae* ao longo do tempo: A – Distância interocular; B – Distância intertegular e C – Área da corbícula. .... 59
- Figura 5: Efeito das alimentações suplementares no tamanho da asa (tamanho do centróide) de operárias de *Melipona seminigra merrillae* ao longo do tempo no meliponário GPA-INPA.. 60
- Figura 6: Efeito das alimentações suplementares na assimetria flutuante da forma da asa de operárias de *Melipona seminigra merrillae* ao longo do tempo no meliponário GPA-INPA.. 61

Figura 7: Efeito das alimentações suplementares sobre os caracteres morfológicos de operárias de *Melipona seminigra merrillae* ao longo do tempo no meliponário GPA-INPA: A – Distância interocular; B – Distância intertegular e C – Área da corbícula..... 63

Figura 8: Efeito das alimentações suplementares sobre os caracteres morfológicos de operárias de *Melipona seminigra merrillae* ao longo do tempo no meliponário Alvorecer: A – Distância interocular; B – Distância intertegular e C – Área da corbícula..... 65

## 1 Introdução Geral

A Meliponicultura é a atividade de criação de abelhas “sem-ferrão” (Conselho Nacional do Meio Ambiente 2020). E o interesse por tais abelhas vem crescendo em todo o Brasil, tanto por parte de criadores conservacionistas quanto por agricultores tradicionais, os quais veem nessa atividade uma fonte alternativa para a gerar renda (Venturieri 2008, Venturieri et al. 2012, Barbiéri e Francoy 2020). A criação de abelhas "sem-ferrão" é particularmente atraente devido à facilidade de manejo dessas abelhas, pois elas possuem o ferrão atrofiado, sendo assim, não ferroam e nem possuem veneno, o que elimina qualquer risco para o criador – Meliponicultor. Além disso, a criação destas abelhas pode contribuir para o aumento da produção agrícola e regeneração da vegetação natural, por meio do processo de polinização (Venturieri et al. 2003).

As abelhas “sem-ferrão” pertencem a ordem Hymenoptera, família Apidae, tribo Meliponini (Michener 2007). No mundo existem cerca de 530 espécies e 49 gêneros de abelhas “sem-ferrão” (Ascher e Pickering 2020), sendo que para o Brasil são conhecidas 259 espécies válidas, que estão distribuídas em 28 gêneros, dentre estes, *Melipona* Illiger, 1806 é o gênero com maior riqueza de espécies, com cerca de 70 espécies descritas, das quais, 35 espécies são registradas para o Brasil (Nogueira 2023). O gênero *Melipona* constitui-se de abelhas robustas (8 a 15 mm de comprimento) com asas que não ultrapassam o ápice do abdome (Michener 2007).

As abelhas do gênero *Melipona*, assim como as outras abelhas "sem-ferrão", exibem comportamento social, vivem em colônias perenes, seus ninhos são construídos de maneira a permitir o armazenamento de grandes quantidades de alimentos e utilizam um sistema de comunicação complexo e interativo para coordenar suas atividades dentro da colônia (Nogueira-Neto, 1997; Oliveira et al., 2013). Na colônia há sobreposição de gerações, compostas por indivíduos dos sexos feminino e masculino. As fêmeas compõem a maioria dos habitantes do ninho e, dentre estas, há divisão por castas: operárias e rainhas. As operárias são encarregadas por todas as atividades da colônia, dentre as quais, o cuidado com as crias, a construção dos discos de cria e potes de armazenamento de alimento, limpeza do ninho, defesa da colônia e da rainha (Kerr et al., 1996; Carvalho-Zilse e Nunes-Silva, 2012). A rainha fecundada é responsável pela postura de ovos férteis que darão origem a todos os demais indivíduos; as rainhas virgens ou princesas, podem substituir a rainha fecundada em caso de morte, ou podem enxamear com outras operárias para fundar um outro ninho. Os demais indivíduos são machos, que tem função primordial de fecundar a rainha (Nogueira-Neto, 1997;

Oliveira et al., 2013), no entanto, já foram observados machos manipulando cera e trabalhando na lixeira (Carvalho-Zilse et al. 2011).

Por serem insetos holometábolos, ou seja, as larvas possuem características totalmente distintas dos adultos e a pupa se destaca como um estágio marcante durante a transição (Marques 2024), as abelhas *Melipona* sofrem uma metamorfose completa, passando pelos seguintes estágios de desenvolvimento: ovo (com duração média de dois a nove dias), larva (12 a 26 dias), pupa (de 8 a 24 dias) e adulto, totalizando em média de 40 a 53 dias até a emergência do adulto. A expectativa de vida dos adultos varia em média de 50 a 60 dias para as operárias, de 10 a 15 dias para zangões, enquanto as rainhas podem viver em média de dois a três anos (Kerr 1948, Kerr et al. 1996, Biesmeijer e Tóth 1998, Bruening 2001, Moo-Valle et al. 2004, Nunes 2008, Carvalho-Zilse et al. 2011).

Durante todo o desenvolvimento das abelhas, desde a larva até o adulto, elas se alimentam de mel e pólen fermentado, produzidos a partir do néctar e pólen coletados das flores, respectivamente, processados e armazenados em potes de cerume dentro do ninho (Carvalho-Zilse et al., 2011; Rebelo et al., 2021). Sendo assim, para suprir as necessidades da colônia precisam visitar várias flores, o que torna as abelhas eficientes polinizadoras (Silva et al. 2018). O mel e o pólen são os alimentos básicos que fornecem os nutrientes fundamentais (proteínas, carboidratos, minerais, lipídios, vitaminas e água) para o desenvolvimento das abelhas e exercício de suas atividades dentro da colônia (Brodschneider e Crailsheim 2010).

A coleta do néctar é feita por abelhas operárias que o coletam das flores e o armazenam dentro da vesícula melífera para que possa ser levado até o ninho. No ninho, o néctar é transferido por contato oral (trofalaxia) para outras operárias, que o depositam em potes apropriados para o alimento, onde sofrerá transformações químicas, ocasionadas pela ação de enzimas durante a sua desidratação pelas operárias. Ao fim da atividade enzimática e da desidratação do néctar é obtido o mel (Nogueira-Neto 1997). O mel é fonte de carboidrato e energia da colônia (Somerville 2000, Souza et al. 2006, Sant'ana et al. 2020). O consumo desse alimento pelas abelhas é fundamental para regular a temperatura das crias, possibilitar o voo das operárias e prover energia para as diversas atividades necessárias a qualquer indivíduo da colônia (Somerville 2000).

Já o pólen é levado para o ninho nas corbículas das abelhas campeiras, que o depositam com auxílio de suas mandíbulas diretamente nos potes de cerume. No pote ocorrerá a fermentação deste pólen, feita principalmente por bactérias e leveduras, formando uma massa homogênea, adquirindo odor e cor específicos de acordo com as espécies de plantas que



forneceram o pólen como matéria prima (Testa et al. 1981, Nogueira-Neto 1997). Essa massa de pólen fermentada é chamada de saburá ou samburá (ou pólen meliponícola ou pólen de pote), (Nogueira-Neto 1997). O pólen representa a fonte de proteína para as abelhas (Rebelo et al. 2021). É destinado a nutrir as larvas em crescimento e os jovens membros da colônia, fornecendo a base estrutural necessária para músculos, glândulas e outros tecidos vitais (Somerville 2000, Ueira-Vieira et al. 2013).

Ainda que exista uma grande diversidade de flora para pasto meliponícola, ou seja, flores nectaríferas e poliníferas disponíveis para a alimentação das abelhas, a floração está sujeita a grandes flutuações ao longo do ano (Keller et al. 2005). E o fato de se concentrar várias colônias num único local – Meliponário – na atividade de Meliponicultura pode ocorrer à saturação desse pasto meliponícola (Carvalho et al. 2003, Carvalho-Zilse et al. 2012). Desta maneira, os recursos alimentares necessários à sobrevivência das abelhas/colônias nem sempre estarão disponíveis na natureza em quantidade e qualidade suficientes (Dias et al. 2008). A redução de alimento na natureza faz com que as abelhas consumam as reservas alimentares existentes no ninho, provocando a diminuição ou pausa na postura de ovos pela rainha, estabelecendo-se assim, um desequilíbrio populacional, que pode levar ao enfraquecimento e até mesmo a morte da colônia (Vollet-Neto et al. 2010).

Nos himenópteros, assim como em outros insetos holometábolos, a fase larval é dedicada à alimentação para permitir o crescimento adequado do futuro adulto e armazenar reservas nutricionais que serão utilizadas na metamorfose (Landim 2009). Desta forma, larvas desnutridas, seja pela quantidade e/ou qualidade de recursos alimentares, resultam em abelhas adultas de baixa qualidade, que podem apresentar malformações, redução na expectativa de vida, distorções na anatomia das asas e demais estruturas corporais e influenciar no tamanho corporal dos indivíduos adultos (Roulston e Cane 2000, 2002, Peruquetti 2003, Brodschneider e Crailsheim 2010, Quezada-Euán et al. 2011).

Quando há escassez de alimento ou redução na quantidade de proteína no alimento larval, as abelhas tendem a ser menores, enquanto uma maior disponibilidade de alimento ou maior proporção de proteína no alimento pode resultar em um aumento de tamanho corporal (Roulston e Cane 2000, 2002, Peruquetti 2003, Quezada-Euán et al. 2011, Veiga et al. 2012). O desempenho das colônias é diretamente afetado pelo tamanho das abelhas operárias, já que as abelhas maiores conseguem coletar mais recursos devido a sua maior área de forrageamento (Goulson et al. 2002), porém necessitam de maior consumo de alimento para seu desenvolvimento (Quezada-Euán et al. 2011). Por outro lado, as abelhas operárias menores

possuem maior longevidade e conseguem sobreviver em período de menor disponibilidade de recursos, pois suas necessidades energéticas são menores (Couvillon e Dornhaus 2010, Quezada-Euán et al. 2011).

No contexto da Meliponicultura como atividade zootécnica, durante o período em que há redução de alimento na natureza, a utilização de alimentação suplementar se faz importante para que as colônias se mantenham em boas condições e possam chegar até a próxima floração (Carvalho et al. 2003, Evangelista-Rodrigues et al. 2008, Carvalho-Zilse et al. 2012). De acordo Evangelista-Rodrigues et al. (2008) a alimentação suplementar é uma ótima ferramenta, pois aumenta o número de operárias, que são as responsáveis por forragear, transformar e armazenar os recursos alimentares. Gurgel (2014) avaliando os efeitos de diferentes alimentações suplementares em colônias de *Melipona interrupta* Latreille, 1811 e *Melipona seminigra* Friese, 1903, notou que as abelhas que receberam alimentação suplementar produziram mais células de cria do que aquelas que não receberam alimentação extra.

Já Maia et al. (2015) relatam que a alimentação suplementar aumenta a produtividade e fortalece as abelhas, permitindo que o meliponicultor aumente seu plantel de colmeias por meio da multiplicação das colônias. Este aumento no número de colônias, pode proporcionar uma maior produção de mel e até mesmo a comercialização das colônias, gerando renda ao meliponicultor, além de possibilitar a conservação das espécies no ambiente natural, pois é possível aumentar o número de colônias sem que haja a necessidade de capturá-las novamente na natureza (Coletto-Silva 2005, Maia et al. 2015).

A alimentação suplementar também pode ser ofertada em circunstâncias nas quais se deseja promover o desenvolvimento de colônias recém-formadas (Aidar 1996, Nogueira-Neto 1997), estimular a rainha para realizar posturas (Carvalho-Zilse et al. 2011) e em colônias utilizadas para a polinização de culturas agrícolas (Brodschneider e Crailsheim 2010).

Tradicionalmente é oferecido as abelhas uma mistura de água e açúcar (xarope) como fonte de carboidratos para suprir a falta de néctar na natureza (Nogueira-Neto 1997). Entretanto, encontrar um alimento proteico que possa compensar a falta de pólen é mais difícil, devido à grande seletividade das abelhas em relação a este recurso, as quais acabam descartando caso não aceitem o alimento oferecido (Contrera et al. 2011). Alguns estudos já foram conduzidos com o objetivo de desenvolver um alimento suplementar para compensar a escassez temporária de pólen na natureza. Para abelhas *Scaptotrigona depilis* (Moore, 1942), Fernandes-da-Silva e Zucoloto (1990) após testes com diferentes opções alimentares sugeriram um alimento fermentado feito com levedura de cerveja, adicionada de pólen da própria colônia e sucralose.

Com o mesmo propósito, Costa e Venturieri (2009) avaliaram o uso de pólen de *Apis mellifera* (Linnaeus, 1758), comparativamente à levedura de cerveja e ao extrato de soja, com diferentes concentrações de proteína verificando que o alimento à base de soja foi o mais aceito pelas abelhas *Melipona flavolineata* Friese, 1900. Pires et al. (2009) elaboraram um alimento fermentado à base de soja para nutrir *Melipona fasciculata* Smith, 1854 e este alimento foi bem aceito pelas operárias.

Na prática da Meliponicultura, e a despeito da ausência de dados científicos muitos meliponicultores com o objetivo de garantir um bom desenvolvimento de suas colônias oferecem xarope de açúcar enriquecido com suplementos alimentares comerciais contendo aminoácidos, vitaminas e minerais, em analogia ao que é empregado na apicultura (criação de abelhas com ferrão) (Pinheiro et al. 2009, Gurgel 2014, Castagnino et al. 2022). No entanto, as poucas pesquisas sobre o uso de alimentos suplementares em abelhas “sem-ferrão” não avaliaram ou não constaram que estes alimentos levem à melhoria no desenvolvimento das colônias. Como exemplos, Castagnino et al. (2022) que não encontraram efeitos positivos sobre o peso e o desenvolvimento de colônias de *Melipona scutellaris* Latreille, 1811 alimentadas com o suplemento aminoácido-vitamínico Promotor® L47. Também Gurgel (2014), que não observou um aumento no número de células de cria em colônias de *M. seminigra* e *M. interrupta* alimentadas com suplemento comercial aminoácido-vitamínico Vitagold® em comparação as alimentadas apenas com xarope de açúcar. Ainda, há relatos de alterações no tamanho da estruturas internas das abelhas que foram alimentadas com soja, ocorrendo um aumento destas estruturas em comparação às abelhas que consumiram alimentação natural (Costa e Venturieri 2009, Teixeira et al. 2019).

Uma maneira de avaliar como os organismos respondem a variações, sejam elas genéticas ou ambientais, é pela da morfometria. As alterações no tamanho e na forma das estruturas dos organismos podem ser estudadas através de duas abordagens distintas que fazem uso de técnicas da estatística multivariada: a morfometria tradicional ou convencional e a morfometria geométrica (Araújo 2010, Carneiro et al. 2017). A morfometria tradicional consiste em um conjunto de métodos que se baseiam em medidas lineares, como comprimento, largura, ângulos ou proporções, que são calculadas a partir de estruturas ou partes dos organismos (Rohlt e Marcus 1993, Moraes 2003). Por outro lado, a morfometria geométrica, em vez de considerar distâncias e ângulos, emprega métodos para aquisição, processamento e análise de variáveis de forma que mantém toda a informação geométrica presente nos dados originais (Rohlt e Marcus 1993, Moraes 2003). Esses dados são obtidos a partir de coordenadas

cartesianas, chamados de marcos anatômicos ou “landmarks”, os quais mantêm todas as informações geométricas entre o conjunto de marcos (Klingenberg 2002).

Por meio dessas duas abordagens morfométricas, é também possível analisar as perturbações que os organismos podem enfrentar ao longo do seu desenvolvimento embrionário, para que consigam manifestar um determinado fenótipo (Klingenberg 2002, Coda et al. 2017, Graham 2021). Uma maneira de avaliar o efeito de perturbações, sejam elas ambientais ou genéticas, durante a ontogenia do organismo é através da análise de assimetria flutuante (AF) (Palmer e Strobeck 1986, Klingenberg 2002). A AF é definida como pequenas variações aleatórias no desenvolvimento dos lados esquerdo e direito de características bilateralmente simétricas de cada indivíduo, sendo uma ferramenta amplamente utilizada para medir a instabilidade do desenvolvimento (Palmer e Strobeck 1986, Parsons 1992)

Embora o desenvolvimento dos alimentos suplementares visarem suprir a carência alimentar das abelhas nos períodos de redução de recursos alimentares na natureza, é importante ressaltar a necessidade de realizar estudos a curto e a longo prazo para conhecer os efeitos desses alimentos no desenvolvimento das abelhas e da colônia (Costa e Venturieri 2009, Pires et al. 2009, Vilas-Boas 2012, Venturieri et al. 2012, Gurgel 2014). Isso porque tanto a quantidade como a qualidade do alimento que as abelhas recebem durante o estágio larval afetam diretamente seu desenvolvimento e, conseqüentemente, o desenvolvimento da colônia (Roulston e Cane 2000, Goulson et al. 2002).

Em virtude de *Melipona seminigra merrillae* Cockerell, 1919 se destacar como uma das principais espécies criadas na atividade de meliponicultura do estado Amazonas (Kerr et al. 2001, Carvalho-Zilse et al. 2012, Rebouças et al. 2022) optamos por selecioná-la com espécie alvo deste estudo.

*Melipona seminigra merrillae* é uma das setes subespécies conhecidas do complexo de *M. seminigra*, com distribuição limitada ao estado do Amazonas, ocorrendo na região norte dos rios Amazonas e Negro, entre os rios Branco e Uatumã (Camargo et al. 2023). É popularmente conhecida como urucu-boca-de-renda, nome atribuído devido à arquitetura da entrada da colônia que possui a forma circular rendada (Kerr et al. 1994, Oliveira et al. 2013). São abelhas de tamanho médio, com cerca de 11 mm de comprimento, apresentam manchas amareladas mais evidentes em sua face; pilosidade de cor fulvo-avermelhada; escutelo amarelado e abdome de tonalidade castanho-avermelhado-ferrugíneo, sem a presença de uma banda esbranquiçado-marfim na margem apical dos tergos II a V (Oliveira et al. 2013). Suas colônias são populosas

(em média de 2.000 indivíduos) (Oliveira e Aidar 2006, Oliveira et al. 2013) e apresentam boa produção de mel (1,87 a 5,00 kg de mel/colônia/ano) (Carvalho-Zilse e Nunes-Silva 2012).

A meliponicultura vem se expandindo rapidamente no Brasil e é notória a prática entre os meliponicultores do uso de suplementos aleatórios nas colônias, tornando-se indispensável compreender os efeitos desses suplementos no desenvolvimento das abelhas visando garantir uma adequada saúde e produtividade das colônias em prol da profissionalização da meliponicultura e da conservação das abelhas.

## **2 Objetivos**

### **2.1 Geral:**

Analisar o efeito da alimentação suplementar sobre o tamanho populacional estimado e os caracteres morfológicos de operárias adultas em colônias de *Melipona seminigra merrillae* mantidas em meliponário.

### **2.2 Específicos:**

Estimar, comparativamente, o efeito dos diferentes suplementos alimentares sobre o tamanho populacional estimado, medido pelo número de células de cria e de abelhas saindo da colônia, de *M. seminigra merrillae*.

Avaliar, comparativamente, o efeito de diferentes suplementos alimentares sobre os caracteres morfológicos e a assimetria flutuante da forma da asa de operárias adultas de *M. seminigra merrillae*.

## **3 Organização da Dissertação**

Esta dissertação está organizada em dois capítulos (correspondentes aos objetivos específicos) em formato de manuscrito para publicação e uma conclusão geral.

### **Capítulo 1 – A alimentação suplementar potencializa o número de indivíduos em colônia de abelha “sem-ferrão”?**

Neste estudo avaliamos, comparativamente, o efeito das alimentações suplementares Xarope (Controle), Pólen, Soja e Aminomix (suplemento comercial aminoácido-vitâmico) sobre o número populacional estimado de colônias de *M. seminigra merrillae* ao longo do tempo e em dois meliponários. O tamanho populacional das colônias de *M. seminigra merrillae* não foi afetado significativamente, seja pelo efeito isolado das alimentações suplementares, seja

pela interação das alimentações ao longo do tempo e pela interação entre as alimentações ao longo do tempo nos dois meliponários.

## **Capítulo 2 – Variação morfométrica e assimetria flutuante em abelhas *Melipona seminigra merrillae* Cockerell, 1919 sob diferentes alimentações suplementares**

Aqui avaliamos, comparativamente, o efeito das alimentações suplementares (Xarope – Controle, Pólen, Soja e Aminomix - suplemento comercial aminoácido-vitamínico) na morfometria e assimetria flutuante de abelhas *M. seminigra merrillae* entre os tratamentos, na interação entre as alimentações ao longo do tempo, e ainda, estes efeitos em dois meliponários (GPA-INPA e Alvorecer). As alimentações de Pólen, Soja e Aminomix não afetaram o tamanho corporal das operárias e não causaram variação significativa na assimetria flutuante da forma da asa ao longo do tempo. Porém, ao avaliar o efeito das alimentações sobre caracteres morfológicos das operárias, considerando cada meliponário, resultados distintos foram observados: enquanto no meliponário GPA-INPA a suplementação de Aminomix levou a redução da distância interocular das operárias ao longo do tempo, no meliponário Alvorecer as operárias suplementadas com Pólen tiveram a menor distância intertegular.

## CAPÍTULO 1

---

Campelo, J. C., Corrêa Neto, J J, Carvalho-Zilse, G. A.  
Alimentação suplementar: gasto desnecessário com  
abelhas “sem-ferrão”? Manuscrito formatado para o  
periódico *Acta Amazonica*

## **A alimentação suplementar potencializa o número de indivíduos em colônia de abelha “sem-ferrão”?**

### **Resumo:**

A suplementação alimentar é uma prática constante entre os meliponicultores, portanto é essencial compreender os efeitos dessa prática no desenvolvimento das colônias, a fim de garantir uma produtividade adequada. Este estudo avaliou, comparativamente, o efeito de alimentações suplementares sobre o tamanho populacional estimado de colônias de *Melipona seminigra merrillae* Cockerell, 1919. O estudo foi realizado em dois meliponários localizados na cidade de Manaus: meliponário GPA-INPA e meliponário Alvorecer. Em cada meliponário, as abelhas foram suplementadas semanalmente (por 21 semanas) com as seguintes alimentações: T1–Xarope (Controle), T2–Pólen, T3–Soja e T4–Aminomix. O tamanho populacional foi estimado contando-se o número de células de crias e de abelhas saindo da colônia, contabilizados em distintos tempos (0, 70, 95, 120 e 145 dias). Para avaliar o efeito das alimentações, a interação entre a alimentação e tempo, e estes efeitos em distintos meliponários sobre o tamanho populacional, utilizamos Análise de Variância (ANOVA) e, quando possível, comparações múltiplas de Tukey. Ao final do tempo experimental, as médias de células de cria para as colônias entre os tratamentos foram: T1–Xarope com 5.779 células; T2–Pólen com 5.614 células, T4–Aminomix com 5.162,3 e T3–Soja com 4.541. No entanto, a análise de variância revelou que as alimentações suplementares não influenciaram significativamente o tamanho populacional, seja para o efeito isolado das alimentações, seja para a interação das alimentações e tempo e estes efeitos em ambos os meliponários. Frente aos achados deste estudo, sugerimos o uso de xarope para suplementar a alimentação das abelhas. Vale ressaltar a importância de enriquecer o pasto meliponícola com plantas que floresçam em diferentes períodos do ano, a fim de garantir a saúde das colônias.

**Palavras-chave:** tamanho populacional; suplementação alimentar; Meliponicultura, Meliponini.



## Introdução

Desde larva até o adulto, as abelhas se alimentam de mel e pólen fermentado, produzidos a partir do néctar e pólen coletados das flores (Carvalho-Zilse et al. 2011, Rebelo et al. 2021). O mel é fonte de carboidrato e energia da colônia (Somerville 2000, Souza et al. 2006, Sant’ana et al. 2020), sendo fundamental para regular a temperatura das crias, possibilitar o voo das operárias e prover energia para as diversas atividades necessárias a qualquer indivíduo da colônia (Somerville 2000). Já o pólen é a fonte de proteína (Rebelo et al. 2021), sendo destinado a nutrir as larvas em crescimento e os jovens membros da colônia, fornecendo a base estrutural necessária para o desenvolvimento de músculos, glândulas e outros tecidos vitais (Somerville 2000, Ueira-Vieira et al. 2013). Esses recursos alimentares sofrem grandes variações ao longo do ano, devido ao ciclo reprodutivo das plantas, estações do ano, condições climáticas etc e, o que pode impactar a disponibilidade e qualidade necessárias (Keller et al. 2005, Dias et al. 2008), comprometendo assim o chamado pasto meliponícola (Alves et al. 2005; Viana et al. 2021). Além disso, a saturação desses recursos pode ser resultado da concentração de várias colônias num único local – Meliponário – na prática da Meliponicultura (Carvalho et al. 2003, Carvalho-Zilse et al. 2012), o que pode provocar a diminuição ou pausa na postura de ovos pela rainha, levando ao enfraquecimento e, possivelmente, à morte da colônia (Vollet-Neto et al. 2010).

Na prática da Meliponicultura, durante o período em que há redução da disponibilidade dos recursos florais – néctar e pólen – na natureza, a utilização de alimentação suplementar se faz importante para que as colônias se mantenham em boas condições até a próxima floração (Carvalho et al. 2003, Evangelista-Rodrigues et al. 2008, Carvalho-Zilse et al. 2012). Tradicionalmente, uma mistura de água e açúcar é oferecida às abelhas para fortalecer e suprir a falta de néctar (Nogueira-Neto 1997). No entanto, é mais difícil de se encontrar um substituto para o pólen, devido à grande seletividade das abelhas em relação a este recurso (Contrera et al. 2011).

A utilização de soja como alternativa para suprir a falta de pólen em períodos de escassez na natureza já foi testada para espécies de abelhas “sem-ferrão” como *Melipona flavolineata* Friese, 1900 (Costa e Venturieri 2009, Teixeira et al. 2019), *Melipona fasciculata* Smith, 1858 (Pires et al. 2009), *M. flavolineata* e *Scaptotrigona* aff. *postica* (Latreille, 1807) (Queiroz et al. 2019). Da mesma forma, em analogia ao que é empregado na apicultura, muitos meliponicultores têm adicionado suplementos alimentares comerciais contendo aminoácidos,

vitaminas e minerais ao xarope de açúcar (Pinheiro et al. 2009, Gurgel 2014, Castagnino et al. 2022). No entanto, as pesquisas realizadas não avaliaram ou não constataram que estes substitutos levem à melhoria no desenvolvimento das colônias nas diferentes espécies.

Uma vez que a suplementação alimentar é uma prática constante entre os meliponicultores brasileiros torna-se indispensável compreender seus efeitos no desenvolvimento das abelhas visando garantir uma adequada produtividade das colônias. Aqui, avaliou-se, comparativamente, o efeito de diferentes suplementos alimentares sobre o número populacional de colônias ao longo do tempo e em dois meliponários utilizando-se a abelha de *Melipona seminigra merrillae* Cockerell, 1919 (uruçu-boca-de renda), uma das principais espécies criadas no estado do Amazonas (Carvalho-Zilse et al. 2012).

## **Materiais e Métodos**

### **Área de estudo**

O estudo foi conduzido em dois meliponários localizados na cidade de Manaus, cujo clima é caracterizado como equatorial quente e úmido (Af) conforme a Classificação de Köppen, com a estação chuvosa iniciando-se em novembro estendendo-se até junho e, o período de estiagem entre julho e outubro (Alvares et al. 2013, INMET 2022). Convencionalmente, em Manaus, o período de baixa floração vai de dezembro a abril, com a alta florada ocorrendo entre agosto a outubro, e entre esses períodos ocorre a média florada (Carvalho-Zilse et al. 2012).

A composição vegetal na área dos meliponários era: meliponário comercial Alvorecer, localizado no bairro Monte das Oliveiras, cuja vegetação do entorno é constituída majoritariamente por espécies vegetais, como pau-pretinho (*Cenostigma tocantinum*), jutairana (*Cynometra bauhiniifolia*), pata-de-vaca (*Bauhinia forficata*), oiti (*Moquilea tomentosa*) e ipê (*Handroanthus* sp.) que estão ao longo do igarapé do Passarinho (SEMMAS 2016) e; meliponário científico do Grupo de Pesquisa em Abelhas (GPA-INPA), localizado no Campus I do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), mais especificamente, dentro da área do Bosque da Ciência, que é caracterizado como fragmento florestal urbano, ambiente composto por cerca de duas centenas de espécies de árvores da flora amazônica (Bueno et al. 2013) (Figura 1).

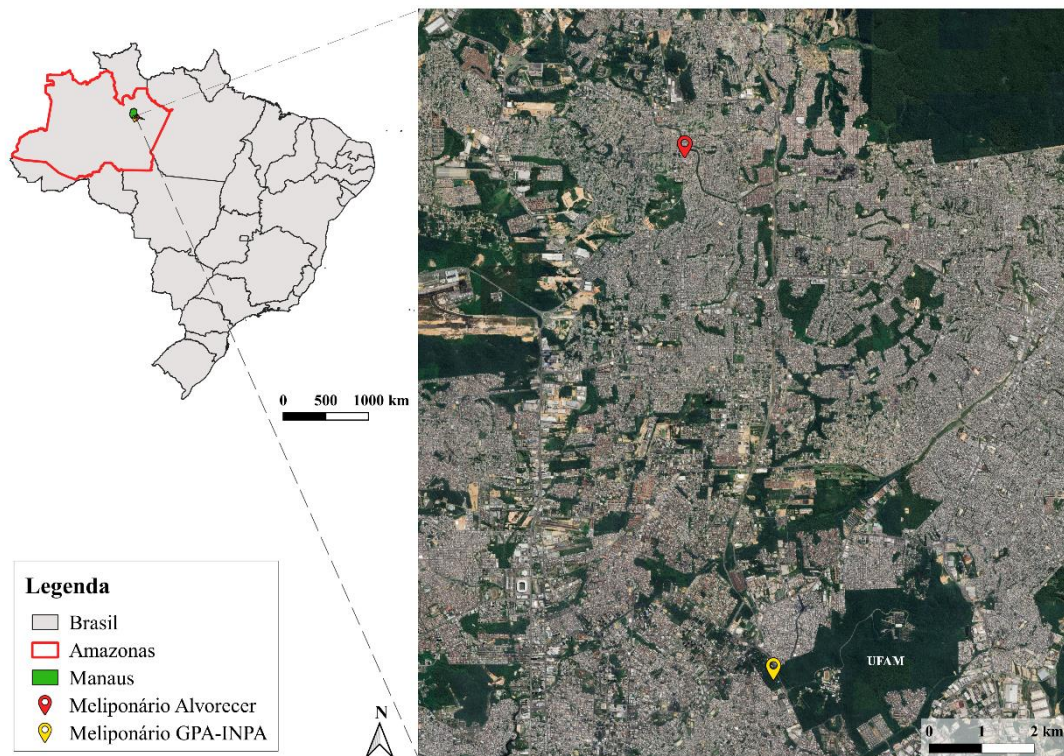


Figura 1: Mapa de localização dos meliponários experimentais em Manaus. Fonte: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE, 2022; Google Earth, 2023. Organização: J. Campelo.

## Desenho experimental

Em cada meliponário foram selecionadas 12 colônias de *M. seminigra merrillae* em equivalente estado de desenvolvimento, populosas e saudáveis, mantidas em caixas de madeira padronizadas modelo INPA compostas pelas alças lixeira, ninho, sobreninho e tampa (Carvalho-Zilse et al. 2012). Por meio de sorteio, estas colônias formaram quatro grupos diferenciais de alimentação suplementar (T1, T2, T3 e T4), constituídos por três colônias cada (Quadro 1), tomando-se o cuidado da composição dos grupos não serem formados por colônias aparentadas entre si (filhas ou netas).

Quadro 1: Desenho experimental para o fornecimento de alimentação suplementar de colônias de *Melipona seminigra merrillae* em cada meliponário.

<b>Ensaio</b>	<b>Grupos</b>	<b>Nº de colônias</b>	<b>Tipo de alimentação suplementar recebida*</b>	<b>Quantidade oferecida semanalmente</b>
<b>Controle</b>	<b>T1–Controle</b>	3	Xarope feito com: açúcar (1kg) diluído em água (600 mL)	100 mL xarope/colônia
<b>Tratamento</b>	<b>T2–Pólen</b>	3	Massa de pólen + mel (proporção 4:1) ambos da própria espécie, corada com anilina líquida vermelha	10 g da massa além de 100 mL de xarope/colônia
	<b>T3–Soja</b>	3	Massa de extrato de soja (500g) + xarope 250 mL) + pólen (50g) da própria espécie + água (250 mL). Após passar por um período de fermentação de 15 dias, a mistura foi corada com anilina líquida azul.	10g da massa além de 100 mL de xarope/colônia
	<b>T4–Aminomix</b>	3	Aminomix® Pet + xarope (proporção 10g:1 litro), corada com anilina líquida vermelha.	100 mL / colônia

\* Os protocolos de preparação dos diferentes alimentos suplementares estão descritos no Apêndice A e a composição e níveis de garantia por kg do suplemento Aminomix® Pet estão descritos no Anexo A. Fonte: J. Campelo.

Durante o período de 17 de agosto de 2021 a 11 de janeiro de 2022, a alimentação suplementar no estado líquido (T1–Controle e T4–Aminomix) foi fornecida em “alimentadores” (confeccionados com fundo de garrafa pet de 350 mL com 5,5 cm de altura) e a sólida (T2–Pólen e T3–Soja) oferecida em “cápsula de cerume” (constituída por duas formas cilíndricas, onde a de maior diâmetro servia como tampa e a de menor diâmetro como recipiente) confeccionada manualmente com cerume da própria espécie, sendo feito um pequeno furo na parte superior para estimular o acesso das abelhas ao alimento. Tanto os alimentadores quanto as cápsulas foram colocados dentro da colônia na alça “sobreninho”.

A escolha da composição das alimentações suplementares se deu em decorrência do uso empírico destas misturas pelos meliponicultores do Amazonas (Carvalho-Zilse, G.A., informação pessoal) para a suplementação alimentar de suas abelhas. O T1–Controle

compreende uma alimentação alternativa do mel que é fonte de carboidratos, enquanto T2, T3 e T4 são alimentações alternativas para o pólen que é a fonte de proteínas para as abelhas. Ainda, o objetivo de utilizar a anilina líquida colorida comestível foi de facilitar a observação da manipulação dos alimentos pelas abelhas e rastreamento do seu uso dentro das colônias (Pires et al. 2009).

As alimentações suplementares foram oferecidas uma vez por semana. Vale destacar que todas as colônias experimentais tiveram livre acesso ao pasto meliponícola disponível no ambiente ao redor dos meliponários. Além do mais, o manejo zootécnico das colônias seguiu o aplicado comumente pelos criadores proprietários em seus meliponários, ou seja, foram mantidas as revisões periódicas para limpeza do local, manejo de manutenção, multiplicação de colônias conforme condições de desenvolvimento das colônias.

### **Aquisição de dados**

Para estimar o tamanho populacional, optou-se pela contagem das células de cria operculadas e atividade externa (abelhas saindo da colônia). Estes métodos foram adotados considerando-se que tem sido utilizados para estimar o tamanho populacional de uma colônia (Aidar 1996, Hilário et al. 2000, Brasil et al. 2021, Leão et al. 2023). A contagem de células de cria dos discos superficiais é um bom método para mensurar o desenvolvimento de colônias de abelhas “sem-ferrão” pois por ser pouco invasivo e destrutivo tem baixo impacto nas colônias (Brasil et al. 2021). Também, pelo fato de que ao alcançar o limite superior da caixa de criação (ou no tronco em ninho natural) com o processo de postura e não havendo mais espaço para construção de novas células, as operárias reiniciam a construção de novas células na parte inferior da estrutura do ninho no espaço onde antes havia um disco de cria mais velho do qual as abelhas nasceram. Após o nascimento, as abelhas mantedoras do ninho destroem todo o restante do disco e reconstróem novo disco para oviposição da rainha. Desta forma, esse rodízio espacial indica evidências reais do aumento populacional (Leão et al. 2023). Já a atividade externa das operárias apresenta uma alta relação com o tamanho populacional, uma vez que o fluxo de entrada de abelhas está diretamente ligado à quantidade de abelhas adultas presentes na colônia (Hilário et al. 2000, 2003, Leão et al. 2023).

Semanalmente, antes do fornecimento da alimentação suplementar, fotografou-se a alça sobreninho para posterior contagem do número de células de cria do primeiro e segundo discos de cria em vista superior do sobreninho. A contagem das células foi realizada com auxílio do

software ImageJ versão 1.8.0, utilizando a função “Multi-point tool”. Cabe destacar que antes de iniciar os tratamentos com alimentação suplementar, o sobreninho de cada colônia foi fotografado, estabelecendo a condição inicial.

Conforme o experimento avançou, notou-se a reabertura de células cria e, por isso, decidimos realizar a contagem dessas células do primeiro e segundo discos de cria, com o objetivo de avaliar o número de células reabertas em cada tratamento e nos dois meliponários.

Para estimar o tamanho populacional por meio da atividade externa, observou-se o tráfego de abelhas saindo da colônia por um período de 5 minutos, em dois dias consecutivos. A média das duas contagens consecutivas representou a atividade externa das abelhas operárias da colônia. A contagem das abelhas ocorreu durante a manhã, pois esse é o período de maior atividade das abelhas (Carvalho-Zilse et al. 2007).

Levando-se em consideração o ciclo de desenvolvimento das abelhas operárias de *M. seminigra merrillae*, que em média é de 48,9 ( $\pm 0,47$ ) dias desde a fase de ovo até a emergência do adulto (Nunes 2008), a coleta dos dados foi realizada em cinco tempos a saber: antes de iniciar a alimentação suplementar (0 dias) (a coleta de dados que registra o tempo anterior à alimentação ocorreu no mesmo dia em que o alimento foi oferecido, portanto, este dia marca o momento anterior ao início da alimentação e o primeiro dia experimental), determinando assim, a condição inicial das colônias; setenta dias (70 dias – estimadamente período suficiente para oviposição até o nascimento de um indivíduo) após o início da alimentação suplementar e três coletas em intervalos de vinte e cinco dias cada (95, 120 e 145 dias). Os dados coletados foram tabelados em planilha do Excel, para posteriores análises estatísticas.

### **Análises dos dados**

Para avaliar o efeito das alimentações suplementares no tamanho populacional ao longo do tempo, utilizamos Modelos Lineares Generalizados Mistos (GLMMs) usando a função “glmmTMB” do pacote *glmmTMB* (Brooks et al. 2017) para cada uma das variáveis (número de células de cria e número médio de abelhas que saíam da colônia). Os tratamentos (T1, T2, T3 e T4) e os tempos de coleta (0, 70, 95, 120 e 145 dias) foram considerados como efeitos preditores (efeitos fixos). Como pode haver uma variação entre as colônias avaliadas no que diz respeito à sensibilidade particular às alimentações testadas, usamos as colônias como efeito aleatório em nosso modelo para controlar as medidas repetidas no tempo. Usamos a distribuição

de erro Binomial Negativa para os dados de postura e o erro Gamma para número médio de abelhas que saíam da colônia.

Também foram construídos GLMMs com distribuição de erro Binomial Negativa (número de células de cria) e de erro Gamma (número médio de abelhas que saíam da colônia), para avaliar o efeito das alimentações suplementares no tamanho populacional ao longo do tempo nos distintos meliponários, empregando-se as mesmas variáveis de efeito fixo (tratamentos e tempos) e aleatória (colônias), como citado anteriormente.

Para avaliar o efeito dos tratamentos e da interação (tratamento x meliponário) sobre o número de células reabertas, utilizamos um Modelo Linear Generalizado (GLM), com distribuição de erro Binomial Negativa. Usamos como variável resposta o número de células reabertas e como variáveis preditoras: o tratamento e o meliponário. Para avaliar o efeito do meliponário sobre o número de células reabertas, usamos o tratamento como variável aleatória em um novo modelo, gerado por meio de um Modelo Linear Generalizado Misto (GLMM) aplicando a função *glmmTMB* do pacote “glmmTMB”.

Os modelos foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA), com significância avaliada pelo teste  $\chi^2$  (Crawley 2013). Possíveis comparações pareadas foram feitas usando médias marginais estimadas corrigidas para testes múltiplos (comparações múltiplas de Tukey) com o pacote *emmeans* (Lenth et al. 2023). Os modelos também foram submetidos à análise de resíduos usando a função “simulateResiduals” do pacote *DHARMA* (Hartig 2022) para avaliar a adequação da distribuição de erro (Crawley 2013).

Todas as análises estatísticas foram realizadas usando o software R 4.3.1 (R Core Team 2023).

## **Resultados**

### **Aspectos gerais das colônias alimentadas**

As abelhas aceitaram todas as alimentações suplementares oferecidas. Com base nas cores de anilinas adicionadas aos alimentos (T2–Pólen; T3–Soja e T4–Aminomix) foi possível rastrear sua utilização dentro da colônia, tanto no alimento larval (dentro da célula de cria) como nas fezes das abelhas, evidenciando que elas de fato consumiram as alimentações

suplementares. Especificamente, foi observada a coloração correspondente ao alimento complementar T4–Aminomix em potes de cerume contendo mel. Além disso, foi observado o armazenamento de pólen coletado pelas abelhas nas cápsulas de cerume contendo os alimentos suplementares T2–Pólen e T3–Soja.

Como mencionado anteriormente, o experimento foi conduzido sob as condições de manejo realizadas pelos responsáveis pelos meliponários. No meliponário Alvorecer houve necessidade de ajustes estruturais e de manejo. O suporte coletivo não possuía um telhado grande o suficiente para proteger as colônias da exposição direta ao sol. Além disso, foram encontradas muitas abelhas mortas no chão do meliponário (na quarta semana após início da alimentação suplementar) o que, provavelmente, decorreu de algum conflito entre as abelhas em virtude de o manejo ser realizado diretamente sobre o suporte coletivo das colmeias. Desta forma, foi providenciada uma extensão do telhado para protegê-las da incidência direta do sol e recomendado ao meliponicultor que o manejo das colônias fosse feito em suporte separado do suporte coletivo, a fim de evitar novos conflitos entre as abelhas. Após tais ajustes, não houve mais incidências.

Também foi observada a presença de forídeos (larvas e adultos) em algumas colônias em ambos os meliponários a partir décima semana de alimentação, muito provavelmente pelo natural decaimento das colônias (final de outubro, período chuvoso correspondente ao inverno amazônico) ou em função do odor das suplementações alimentares. Os forídeos estiveram ocasionalmente presentes em três colônias do T3–Soja (uma para o meliponário Alvorecer e duas no meliponário GPA-INPA) e em uma do T4–Aminomix (meliponário Alvorecer). Nestes casos, foram retirados potes de alimentos experimentais que continham larvas (geralmente dois potes de alimento/colônia) e as colônias tiveram capacidade de controlar a presença dos adultos. A presença de forídeos foi mais frequentemente observada em duas colônias do T3–Soja e em uma do T2–Pólen, ambas do meliponário Alvorecer. Nestas colônias, os potes de alimentos experimentais com larvas também foram removidos e ao controle dos adultos foi feito pela própria colônia, exceto a colônia do T2–Pólen, que devido ao maior número de forídeos adultos, foi necessário esmagá-los com as mãos com auxílio de uma tela Barreto.

Além das revisões regulares para a manutenção das colônias, houve a multiplicação das que estavam em condições ideais para tal. Ao término do período experimental, foram multiplicadas um total de 22 colônias. Dessa, 68,18% ocorrem até os 75 dias após o início da alimentação. Os tratamentos T1–Xarope e T2–Pólen tiveram seis (6) multiplicações de colônias



cada, enquanto T3–Soja e T4–Aminomix tiveram cinco (5) multiplicações cada. Das que foram multiplicadas 68,18% eram provenientes do meliponário GPA-INPA (Tabela 1).

Tabela 1 – Multiplicações de colônias de *Melipona seminigra merrillae* por tratamento durante período experimental (17 de agosto/2021 a 11 de janeiro/2022) nos meliponários Alvorecer e GPA-INPA, Manaus-AM.

	Alvorecer				GPA-INPA	
	Set (15° - 44° dia)	Out (45° - 75° dia)	Nov (76° - 106° dia)	Dez (107° - 137° dia)	Out (45° - 75° dia)	Dez (107° - 137° dia)
T1	1			1	3	1
T2		1	1	1	3	
T3				1	3	1
T4		1			3	1
Total	1	2	1	3	12	3

No decorrer do experimento houve a reabertura de células de cria em todos os tratamentos e em ambos os meliponários. A maior reabertura de células foi registrada para T4 (representado 3,84% do total de células analisadas), seguida por T2 (3,38%), T3 (3,31%) e T1 (1,66%) (Figura 2), mas sem diferença significativa entre os tratamentos ( $\chi^2= 4.91$ ,  $df=3$ ,  $P > 0.17$ ) e entre a interação tratamento x meliponário ( $\chi^2= 9.47$ ,  $df=4$ ,  $P > 0.05$ ). Porém, quando avaliamos somente o efeito do meliponário, isolando o efeito dos tratamentos, é possível notar que houve maior reabertura de células no meliponário Alvorecer (1240 células; 65,19%) comparativamente ao meliponário GPA-INPA (662 células; 34,81%) havendo uma diferença significativa entre eles ( $\chi^2= 9.66$ ,  $df=1$ ,  $P > 0.001$ ) (Figura 3).

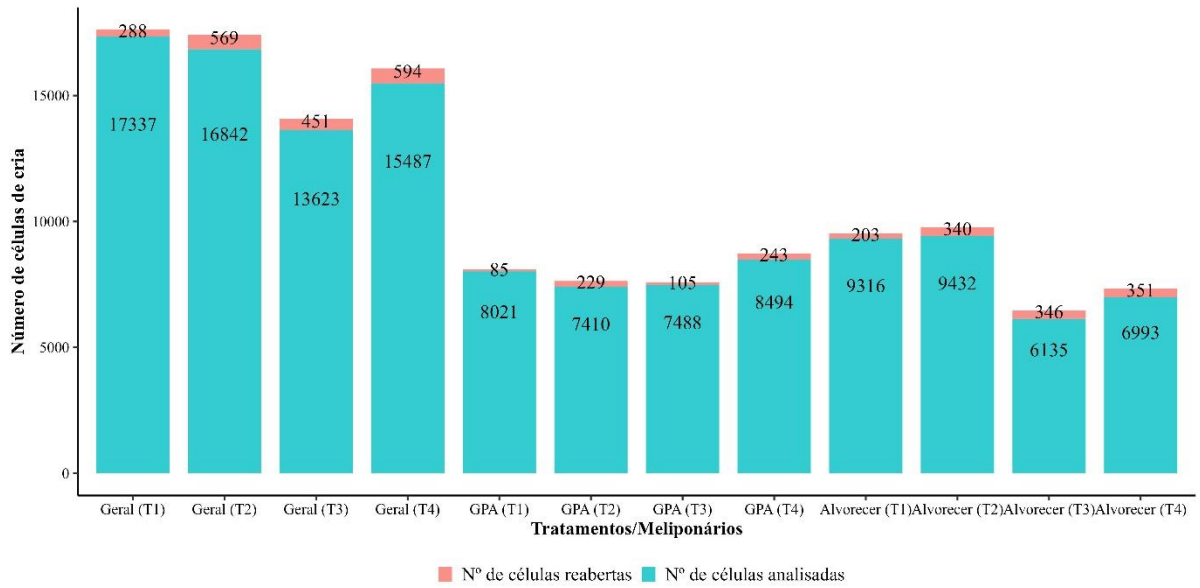


Figura 2: Número de células de cria reabertas em relação ao número de células de cria ovíparas de *Melipona seminigra merrillae* em cada tratamento e em diferentes meliponários.

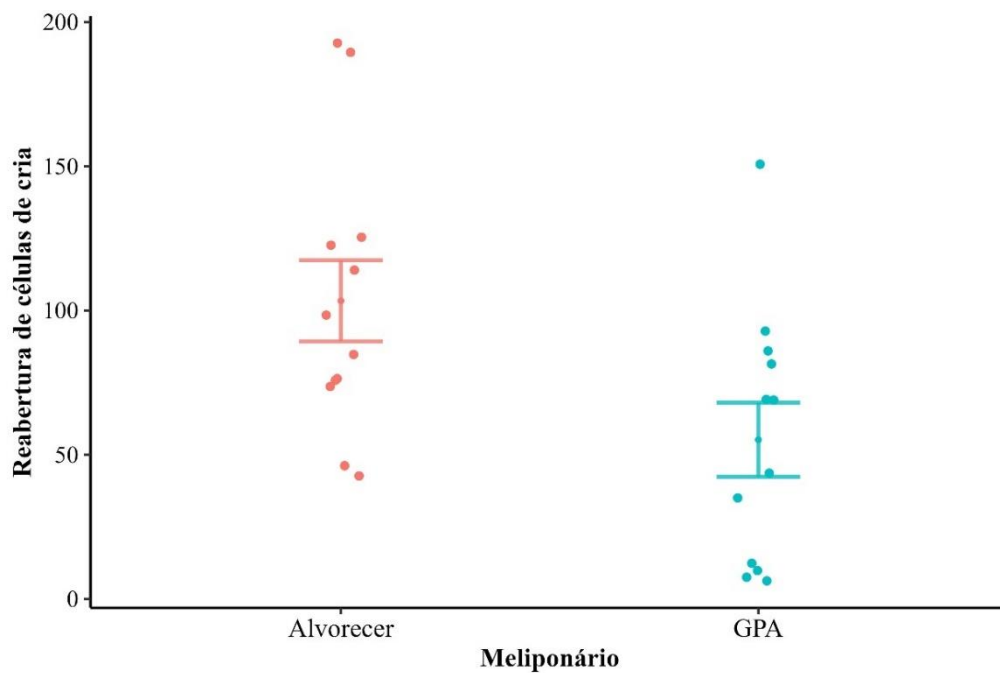


Figura 3: Efeito das alimentações suplementares no número de células de cria reabertas de *Melipona seminigra merrillae* em diferentes meliponários.

### Efeito das alimentações suplementares no tamanho populacional estimado de *Melipona seminigra merrillae*

Ao término do experimento, verificou-se que as médias de células de cria para as colônias variaram entre os diferentes tratamentos: T1–Xarope com 5.779 células, T2–Pólen com 5.614 células, T4–Aminomix com 5.162,3 células e T3–Soja com 4.541 células de cria. Notavelmente, as colônias do tratamento T1–Xarope apresentaram, em média, 1.238 células a mais do que as colônias do tratamento T3–Soja. Apesar disso, a análise de variância revelou que não houve diferença estatisticamente significativa no número de células de crias na interação tratamento x tempo ( $\chi^2= 12.04$ ;  $df= 12$ ;  $P > 0.44$ ) e nem no efeito isolado do tratamento ( $\chi^2= 2.15$ ;  $df= 3$ ;  $P > 0.54$ ). Apenas o tempo isoladamente teve um efeito significativo ( $\chi^2= 88.28$ ;  $df= 4$ ;  $P < 0.001$ ) no número de células de cria, com aumento expressivo de células aos 70 dias (Figura 4).

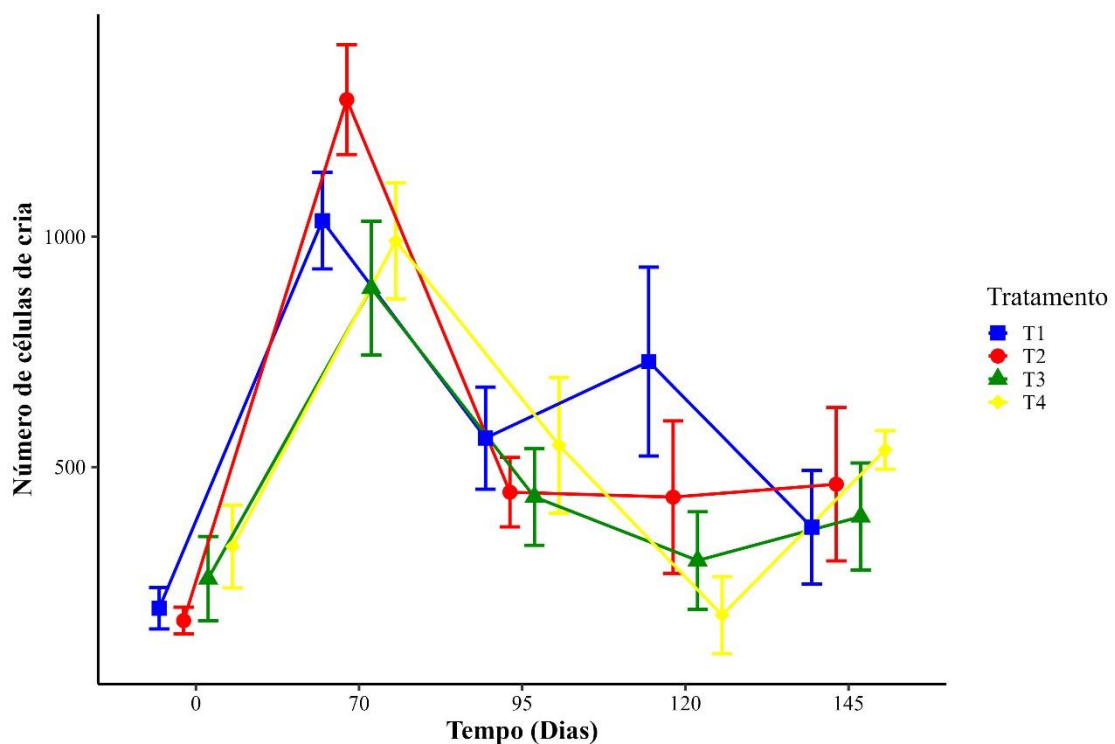


Figura 4: Efeito das alimentações suplementares no tamanho populacional (estimado pelo número de células de cria) de *Melipona seminigra merrillae* ao longo do tempo.

O fluxo de saída das abelhas variou ao longo do tempo experimental, no entanto, a análise de variância mostrou que não existiu interação significativa no tratamento x tempo ( $\chi^2= 10.09$ ;  $df= 12$ ;  $P > 0.60$ ), assim como, não foi detectado efeito significativo do tratamento ( $\chi^2=$

0.35;  $df= 3$ ;  $P > 0.95$ ). Porém, novamente o tempo teve efeito significativo ( $\chi^2= 35.31$ ;  $df= 4$ ;  $P < 0.001$ ) ocorrendo diminuição no número médio de abelhas saindo da colmeia a partir de 70 dias de alimentação (Figura 5).

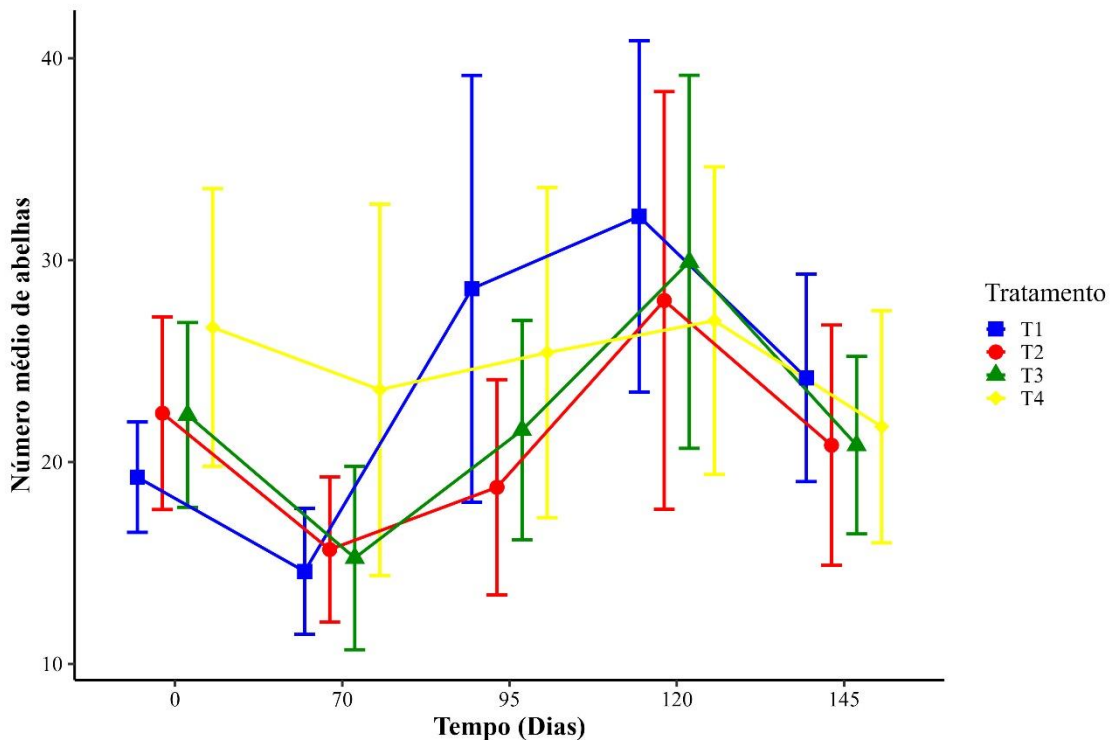


Figura 5: Efeito das alimentações suplementares no tamanho populacional (estimado pelo número médio de abelhas que saiam da colônia) de *Melipona seminigra merrillae* ao longo do tempo.

Quando investigado se o tamanho populacional é influenciado pela alimentação suplementar ao longo do tempo em distintos meliponários, diferentes padrões foram identificados.

No meliponário GPA-INPA não foi observada diferença significativa na interação tratamento x tempo ( $\chi^2= 11.19$ ;  $df= 12$ ;  $P > 0.51$ ) e para o efeito isolado do tratamento ( $\chi^2= 3.53$ ;  $df= 3$ ;  $P > 0.31$ ). Apenas o tempo teve um efeito significativo ( $\chi^2= 94.77$ ;  $df= 4$ ;  $P < 0.001$ ) no número de células de cria. Embora o número de células de cria diferísse entre os tempos de alimentação, exceto para a comparação entre o tempo inicial (0 dias) e 145 dias, no tempo de 120 dias de alimentação ocorreu a mais expressiva diminuição no número de células de cria em comparação aos demais tempos de alimentação (Figura 6A).

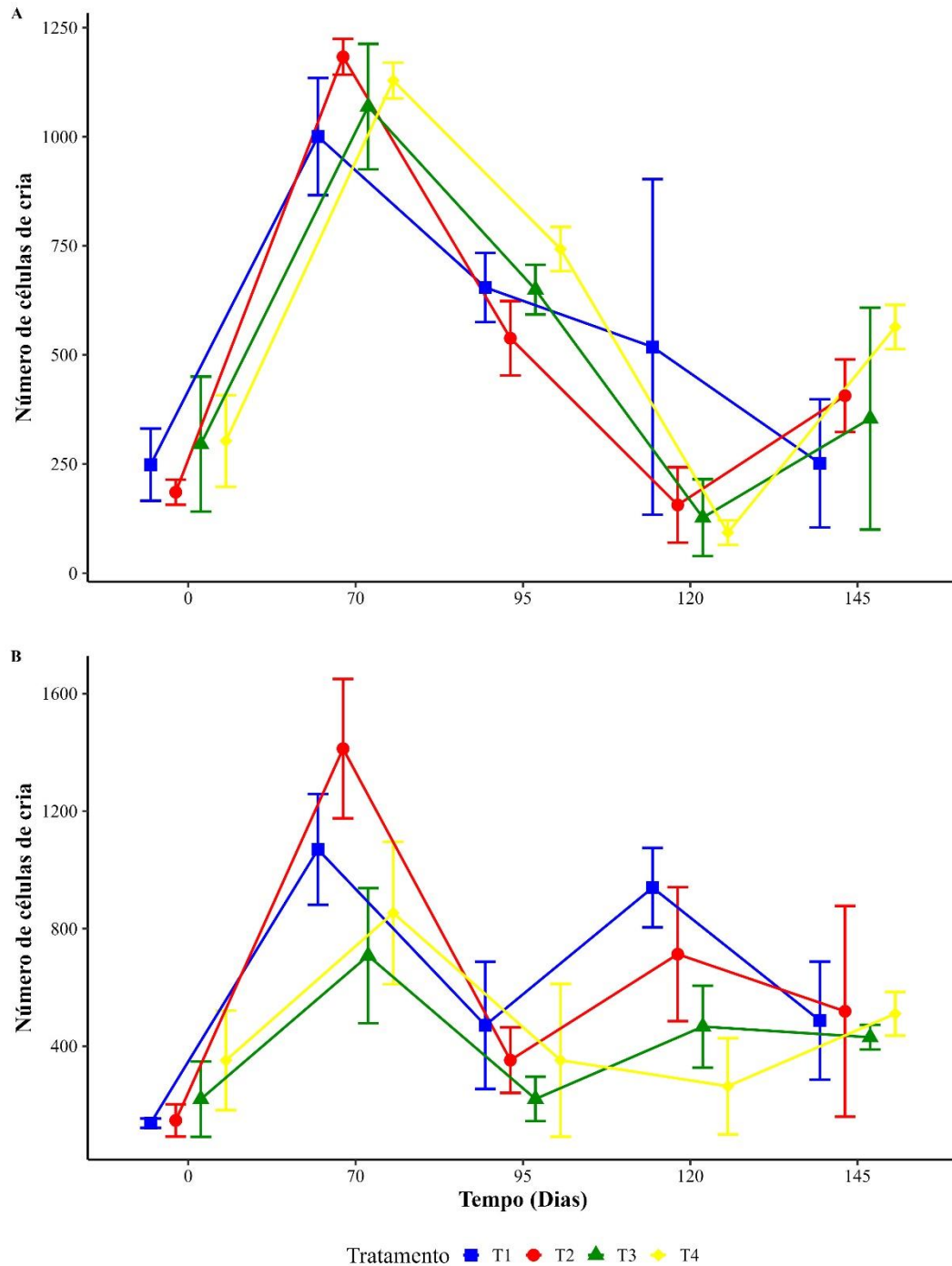


Figura 6: Efeitos das alimentações suplementares no tamanho populacional (estimado pelo número de células de cria) de *Melipona seminigra merrillae* ao longo do tempo em dois meliponários: A – GPA-INPA e B – Alvorecer.

Para o meliponário Alvorecer, foi detectado efeito significativo na interação tratamento x tempo ( $\chi^2= 22.59$ ;  $df= 12$ ;  $P < 0.03$ ), onde os tratamentos T1–Xarope e T2–Pólen no tempo de 70 dias de alimentação tiveram o maior número de células de cria em comparação ao tempo inicial (0 dias de alimentação). O tempo isoladamente também teve efeito significativo ( $\chi^2=$

53.50;  $df= 4$ ;  $P < 0.001$ ), tendo um aumento expressivo no número de células no tempo de 70 dias de alimentação em comparação aos demais tempos de alimentação (Figura 6B). Já o tratamento isoladamente ( $\chi^2= 2.27$ ;  $df= 3$ ;  $P > 0.51$ ) não causou efeito significativo no número de células de cria.

Quanto ao número de abelhas que saiam da colônia, no meliponário GPA-INPA não foi encontrada diferença significativa no número médio de abelhas que saiam das colônias na interação tratamento x tempo ( $\chi^2= 10.68$ ;  $df= 12$ ;  $P < 0.56$ ) e nem no efeito isolado do tratamento ( $\chi^2= 0.20$ ;  $df= 3$ ;  $P > 0.97$ ). No entanto, encontramos efeito significativo do tempo ( $\chi^2= 38.08$ ;  $df= 4$ ;  $P < 0.001$ ), com um menor número médio de abelhas saindo da colônia no tempo de 70 dias e um aumento considerável no número médio de abelhas no tempo de 120 dias de alimentação (Figura 7A).

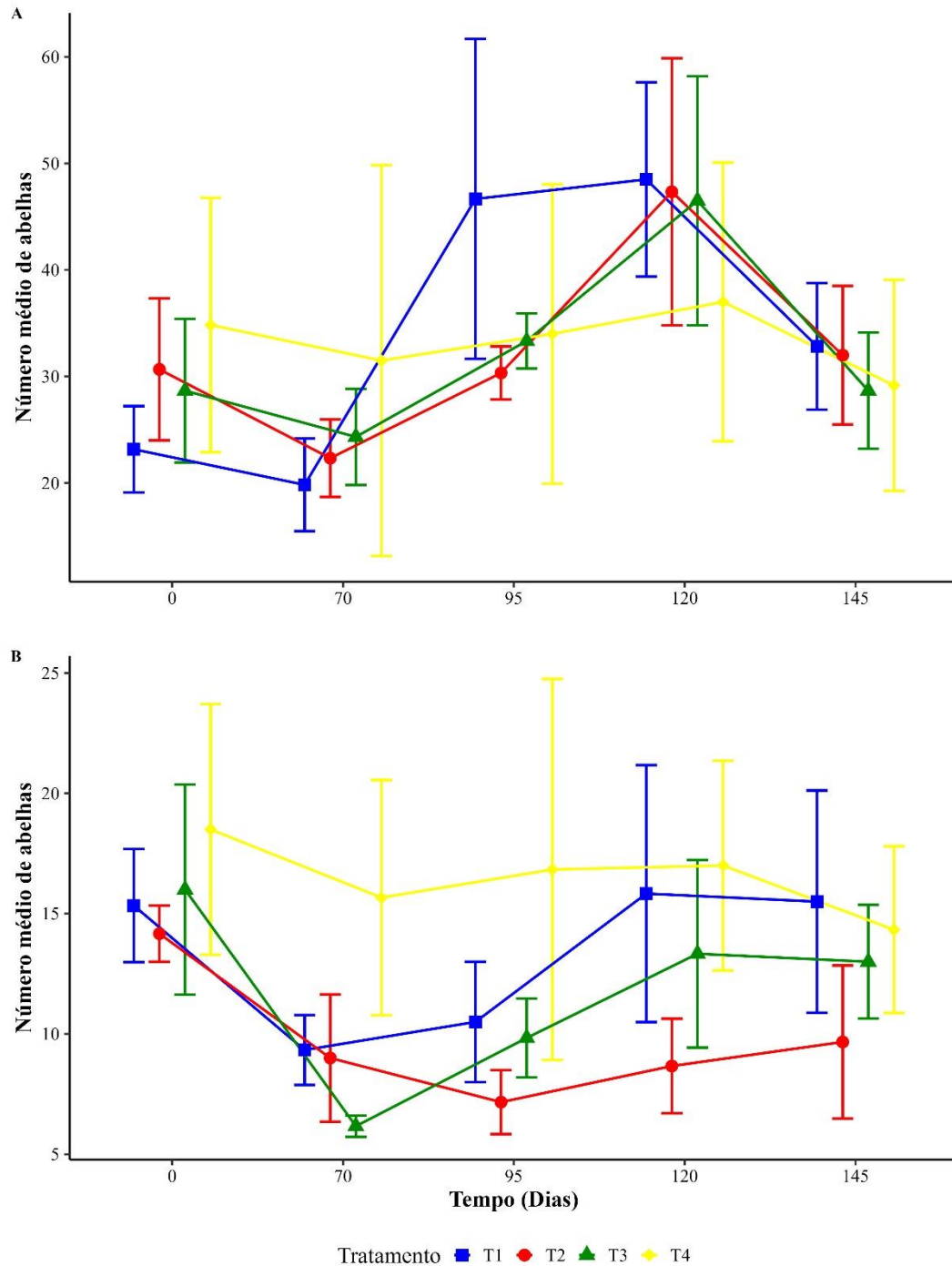


Figura 7: Efeitos das alimentações suplementares no tamanho populacional (estimado pelo número médio de abelhas que saiam da colônia) de *Melipona seminigra merrillae* ao longo do tempo em dois meliponários: A – GPA-INPA e B – Alvorecer.

Na análise das colmeias do meliponário Alvorecer não foi detectado efeito significativo para o número médio de abelhas que saiam da colmeia na interação tratamento x tempo ( $\chi^2= 15.10$ ;  $df= 12$ ;  $P > 0.23$ ) e para o efeito isolado do tratamento ( $\chi^2= 5.06$ ;  $df= 3$ ;  $P > 0.16$ ), havendo efeito significativo apenas para o tempo ( $\chi^2= 29.66$ ;  $df= 4$ ;  $P < 0.001$ ) onde o número

médio de abelhas saindo da colmeia diminuiu expressivamente no tempo de 70 dias (Figura 7B).

## Discussão

A disponibilidade dos recursos alimentares poder ter um efeito cascata no desenvolvimento da colônia, uma vez que a maior oferta de alimento estimula a rainha a fazer postura, resultando no crescimento de novos indivíduos e intensificando o comportamento das operárias na manutenção e na busca de recursos, promovendo assim o crescimento da colônia (Faquinello et al. 2013). Todas as colônias amostrais de *M. seminigra merrillae* estavam sob alimentação suplementar (T1–Xarope (controle), T2–Pólen, T3–Soja e T4–Aminomix) e, mesmo com a provável variação da disponibilidade de recursos florais entre agosto/2021 a janeiro/2022, período que englobou a alteração convencional das floradas (alta: agosto a outubro e baixa: novembro a janeiro) (Carvalho-Zilse et al. 2012) não foi observada diferença significativa entre as diferentes alimentações quanto ao número populacional das colônias. Assim, a princípio, a constituição nutricional de tais alimentações não apresentou efeito diferencial sobre o tamanho populacional das colônias.

Colônias de *Melipona subnitida* Ducke, 1910 suplementadas com alimentação proteica Beemix (um alimento comercial contendo principalmente extrato ou farinha de soja), seja sozinha ou em conjunto com alimento energético (xarope), não apresentaram diferenças significativas no número de células de cria em comparação com as colônias que se alimentaram com os recursos colhidos na natureza (Dias et al. 2010). Também não foi observado um aumento populacional significativo em colônias de *Melipona rufiventris* Lepelletier, 1836 alimentadas com soja fermentada em comparação a colônias alimentadas com xarope de açúcar (Freitas et al. 2021). Por outro lado, diferenças significativas foram notadas no desenvolvimento de colônias de *Melipona fasciculata* Smith, 1854 alimentadas com soja fermentada. Isso resultou em uma menor taxa de postura, interrupção/parada na postura e uma maior reabertura de células de cria em comparação com as colônias alimentadas com uma porção extra de pólen (Pires 2009). Também foi observado reabertura de células em nosso experimento, contudo, tanto as colônias alimentadas com soja fermentada (T3–Soja) quanto as alimentadas com T2–Pólen apresentaram uma taxa de reabertura de 3%, um pouco menor do que T4–Aminomix, com 4%, enquanto o controle (T1–Xarope) teve a menor taxa de reabertura de células (2%).



Porém este comportamento não comprometeu o tamanho populacional das colônias ao longo do tempo.

A disponibilidade de pólen correlaciona-se favoravelmente com a produção de cria (Roubik 1982, Kämper et al. 2016, Maia-Silva et al. 2016), pois as larvas e as operárias enfermeiras, que são as responsáveis por depositar o alimento larval na célula de cria, são as que mais consomem o pólen (Ueira-Vieira et al. 2013). O pólen é o recurso alimentar natural, fonte de proteínas para as abelhas, de onde provém os aminoácidos essenciais para o desenvolvimento dos indivíduos da colônia. Desta maneira, a concentração de proteínas no alimento é importante para o desenvolvimento larval (Roulston e Cane 2002, Brodschneider e Crailsheim 2010), assim como, para a longevidade das abelhas (Somerville 2000).

A longevidade de operárias adultas foi afetada quando colônias foram alimentadas com soja fermentada, ocorrendo redução em média de 9 dias para *Melipona flavolineata* Friese, 1900 e de 17 dias para *Scaptotrigona postica* (Latreille, 1807) (Queiroz et al. 2019, Teixeira et al. 2019). A longevidade das operárias, assim como a taxa diária de postura, tem influência sobre o número de indivíduos em uma colônia de insetos sociais. Portanto, quanto maior a taxa de postura e a longevidade das operárias, maior será o tamanho populacional. No entanto, se a longevidade for reduzida, chegará um momento em que a rainha apenas irá repor o número de indivíduos mortos diariamente, e o crescimento da colônia será nulo (Carey 2001). Embora a longevidade das operárias não tenha sido avaliada em nosso estudo e ainda que diferenças significativas não tenham ocorrido no tamanho populacional entre os tratamentos, percebeu-se que as colônias do T3–Soja apresentaram uma menor média de células de cria em comparação as colônias dos demais tratamentos (T2–Pólen e T4–Aminomix) e ao controle (T1–Xarope).

Análises da composição química da soja fermentada e da não-fermentada revelam que estas são mais pobres em proteínas (12.35 e 11.28%) e mais ricas em carboidratos (29.06 e 33.28%) em comparação ao do pólen de *M. flavolineata* (20% de proteína e 14.82% de carboidratos) (Teixeira et al. 2019). O teor de proteína no pólen de *M. seminigra* varia de 33.38 a 47.07 % enquanto o de carboidratos varia entre 25.66 a 44.28 % (Rebello et al. 2016, 2021), sendo os valores de proteínas superiores ao encontrado para o pólen de *M. flavolineata* e para a soja fermentada e não-fermentada.

Diferentes concentrações de proteína e carboidratos nas alimentações oferecidas as abelhas podem afetar o desenvolvimento e a sobrevivência das abelhas. Altos níveis de carboidratos e baixos níveis de proteínas tem um efeito negativo no desenvolvimento e na sobrevivência de abelhas na fase larval (Helm et al. 2017). Ainda, há diminuição na longevidade

de operárias adultas quando alimentadas com alimentos com menor teor de proteínas e alto teor de carboidratos (Queiroz et al. 2019, Teixeira et al. 2019). Desta maneira, as diferenças na concentração de proteínas presentes na soja e em outros alimentos artificiais poderiam justificar a tendência de o tamanho populacional das colônias diminuir nessas condições de alimentação.

Os suplementos comerciais contendo aminoácidos, vitaminas e minerais e o pólen coletado em períodos de maior disponibilidade também são recursos utilizados com a finalidade de substituir o pólen em períodos de baixa floração (Somerville 2000, Vollet-Neto et al. 2010, Castagnino et al. 2022).

Em estudo realizado por Gurgel (2014) com alimentações suplementares para *Melipona interrupta* Latreille, 1811 e *M. seminigra*, a alimentação contendo Vitagold® (suplemento aminoácido-vitamínico comercial) não teve efeito significativo no número médio de células de cria das colônias estudadas quando comparado como as alimentações de pólen e xarope de açúcar. Já Castagnino et al. (2022) observaram que o efeito do suplemento Promotor® L47 (suplemento aminoácido-vitamínico comercial usado em abelhas *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 dependia do tempo de oferta do alimento para que este pudesse causar efeitos significativos no desenvolvimento de colônias de *Melipona scutellaris* Latreille, 1811 porém causando um efeito negativo, levando a um menor desenvolvimento das colônias ao longo do tempo de oferta do alimento.

Os benefícios que supostamente são atribuídos aos suplementos aminoácidos-vitamínicos seriam efeitos do xarope de açúcar ao qual o suplemento é associado (Castagnino et al. 2006) assim como os efeitos benéficos decorrentes das alimentações suplementares também poderiam estar ligados ao pólen disponível no ambiente pois quando há disponibilidade de uma pequena quantidade de pólen, os possíveis efeitos negativos dos suplementos são neutralizados, uma vez que, a deficiência de nutrientes na alimentação são amenizados pelo consumo de pólen, tornando as condições de desenvolvimento das colônias semelhantes (DeGrandi-Hoffman et al. 2008, Freitas et al. 2020, 2021, Castagnino et al. 2022). Aqui, o pólen acessado pelas abelhas no ambiente, apesar de não contabilizado, pode ter contribuído para uma influência não significativa das alimentações suplementares testadas. Durante todo período da suplementação alimentar das colônias avaliadas (17 de agosto de 2021 a 11 de janeiro de 2022) estas tiveram livre acesso aos recursos naturais o que pode ter contribuído para um balanço nutricional destas além de demonstrar que as colônias têm controle sobre seu desenvolvimento.

É naturalmente esperado que a coleta de alimentos e a produção de cria sigam as mudanças sazonais na abundância de recursos florais (Faquinello et al. 2013, Maia-Silva et al.

2016). Em Manaus-AM, convencionalmente, o período de altas floradas ocorre de agosto a outubro, seguido pelo início das chuvas e decaimento das floradas (Carvalho-Zilse et al. 2012). Levando isto em consideração, é possível que o ciclo de floração desde o início até o fim do experimento tenha influenciado na disponibilidade de pólen e néctar naturais para as colônias sob alimentação suplementar. Durante o período de alta floração, houve multiplicação induzida de 62.5% das colônias avaliadas, ou seja, as colônias já haviam iniciado o aumento na postura em função do período do ano (alta florada) e pode ter sido intensificado pela oferta de alimentação extra.

O pólen é a principal fonte de proteína para as abelhas, estimulando a construção e suprimento de novas células de cria (Roulston e Cane 2002, Brodschneider e Crailsheim 2010, Maia-Silva et al. 2016). Ainda que, as alimentações artificiais sejam desenvolvidas com o intuito de substituir o pólen em períodos de baixa floração, o desenvolvimento da colônia de *M. seminigra* ainda é influenciado pela disponibilidade de pólen no ambiente, uma vez que não houve diferença no tamanho populacional entre os grupos tratamentos, sendo semelhante ao grupo controle.

É importante destacar que o pólen possui uma ampla variação nutricional, dependendo da espécie da planta, da localização geográfica, entre outros fatores (Brodschneider e Crailsheim 2010, Vollet-Neto et al. 2010, Filipiak et al. 2017), e desta maneira, a paisagem circundante ao meliponário pode influenciar no desenvolvimento das colônias (Moura 2021).

Apesar de as alimentações artificiais e o tempo de oferta dos alimentos não terem causado impactos relevantes no tamanho da colônia, esses resultados devem ser analisados com cuidado, pois ao se avaliar o efeito das alimentações ao longo do tempo nos diferentes meliponários foi possível verificar que as colônias alimentadas reagiram de maneiras distintas.

Um fato importante a ser considerado para explicar as diferenças observadas foi o nítido enfraquecimento de algumas colmeias no meliponário Alvorecer em virtude da presença de forídeos a partir da décima semana do experimento (três colônias do T3-Soja, uma do T2-Pólen e uma do T4-Aminomix). Os forídeos são dípteros de tamanho pequeno a diminuto e são inimigos naturais das abelhas “sem-ferrão” sendo atraídos pelo odor do pólen fermentado e podem causar sérios prejuízos às colônias (Nogueira-Neto 1997, Carvalho-Zilse et al. 2012).

No meliponário GPA-INPA não foi observada diferença significativa das alimentações suplementares ofertadas ao longo do tempo no tamanho populacional das colônias. Já no meliponário Alvorecer observou-se aumento significativo no número de células de cria nos

tratamentos T1–Xarope e T2–Pólen no tempo específico de 70 dias de alimentação em comparação ao tempo inicial (zero dia) e não nos demais tempos analisados. É provável que neste tempo (zero a 70 dias, correspondente aos meses de agosto a outubro/2021) no meliponário Alvorecer que naturalmente possui menor disponibilidade de pasto natural no entorno, as abelhas tenham se dedicado a consumir mais estas alimentações complementares.

Embora os dois meliponários estejam localizados em zona urbana, o meliponário GPA-INPA está situado no Bosque da Ciência–INPA e encontra-se ao lado da mata da Universidade Federal do Amazonas (UFAM) que são áreas de fragmentos florestais amazônicos com diversidade de plantas, sendo a mata da UFAM considerada o maior fragmento florestal urbano do país (Bueno et al. 2013, Monteiro et al. 2022). No caso de uso de suplementação alimentar a falta de alguns nutrientes na sua composição pode ser suprida pelo pólen coletado pelas abelhas, o qual pode ser misturado a estes suplementos (DeGrandi-Hoffman et al. 2008, Filipiak et al. 2017).

Por outro lado, o meliponário Alvorecer apresenta menor diversidade de pasto meliponícola comparativamente ao disponível para o meliponário GPA-INPA. Existem projetos de arborização urbana desenvolvidos pela Secretaria Municipal de Meio Ambiente e Sustentabilidade (SEMMAS) para o entorno do igarapé do Passarinho, cuja vegetação é enriquecida pelo próprio meliponicultor responsável pelo meliponário Alvorecer (Sr. Itamar Gomes). Esta vegetação é constituída majoritariamente com espécies vegetais como pau-pretinho (*Cenostigma tocaninum*), jutairana (*Cynometra bauhinifolia*), pata-de-vaca (*Bauhinia forficata*), oiti (*Moquilea tomentosa*) e ipê (*Handroanthus* sp.), dentre outras.

Embora os jardins urbanos sejam elementos paisagísticos benéficos, devido a capacidade de fornecer recursos alimentares e oportunidades de busca de alimento para as abelhas (Donkersley et al. 2014, Kaluza et al. 2016) nem sempre a diversidade e a quantidade de espécies vegetais são suficientes para atender às necessidades nutricionais das abelhas. Ainda, os comportamentos e preferências de forrageio das espécies de abelhas são diferentes indicando que uma pastagem pouco diversificada pode ser limitante para que as abelhas obtenham todos os nutrientes necessários para suprir suas necessidades e, conseqüentemente, o pleno desenvolvimento das colônias (Boas e Carvalho-Zilse 2012, Filipiak et al. 2017).

Os alegados benefícios associados aos complexos aminoácidos-vitamínicos podem ser atribuídos ao xarope usado para diluição, podendo ainda essa combinação resultar em efeitos menos eficazes em comparação com uma alimentação suplementar concentrada apenas em xarope (Castagnino et al. 2006, 2022). Portanto, consideramos que seria economicamente mais

interessante para os meliponicultores optarem para o uso apenas do xarope em suas colônias, em vez das outras alimentações suplementares aqui analisadas, já que as diferentes constituições nutricionais não parecem ter impacto significativo na quantidade de indivíduos constituintes das colônias. No entanto, à medida que a quantidade de açúcar aumenta e a de proteína diminui na alimentação das larvas, observa-se uma tendência de redução no tamanho corporal das abelhas (Quezada-Euán et al. 2011). Desta forma, deve-se associar à alimentação suplementar ao princípio básico da prática da Meliponicultura, que destaca a importância de enriquecer o pasto meliponícola com plantas que floresçam em diferentes épocas do ano, garantindo que os recursos florais estejam disponíveis constantemente durante todo o ano, permitindo que as abelhas completem nutricionalmente as alimentações suplementares e se mantenham em boas condições.

## **Conclusão**

O tamanho populacional, estimado pelo número de células de cria e de operárias saindo das colônias, de *Melipona seminigra merrillae* não diferiu entre as suplementações com substituto para pólen (pólen natural, soja fermentada ou aminomix) comparativamente ao substituto para mel (xarope).

## **Agradecimentos**

Os autores agradecem o apoio logístico do PPG-ENTO e GPA-INPA e ao Sr. Francisco Itamar Gomes de Souza pela disponibilidade das colônias do meliponário Alvorecer. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 e bolsa de Mestrado CAPES à J.C. Campelo além do apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM) – POSGRAD.

## **Referências Bibliográficas**

- Aidar, D.S. 1996. *A mandaçaia: biologia de abelhas, manejo e multiplicação artificial de colônias de Melipona quadrifasciata Lep. (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae)*. Sociedade Brasileira de Genética, Ribeirão Preto, 104p.
- Alvares, C.A.; Stape, J.L.; Sentelhas, P.C.; Gonçalves, J.L. de M.; Sparovek, G. 2013. Köppen's climate classification map for Brazil. *Meteorologische Zeitschrift* 22: 711–728.

- Alves, R.M. de O.; Carvalho, C.A.L. de; Souza, B. de A.; Justina, G.D. 2005. *Sistema de produção para abelhas sem ferrão: uma proposta para o Estado da Bahia*. In: *Série Meliponicultura*. 1st ed. Universidade Federal da Bahia/SEAGRI-BA, Cruz das Almas - Bahia, 18p.
- Boas, H.C.V.; Carvalho-Zilse, G.A. 2012. Meliponicultura no Alto Rio Negro (Amazonas, Brasil). In: Souza, L.A.G. de; Castellón, E.G. (Eds.), *Desvendando as fronteiras do conhecimento na região Amazônica do Alto Rio Negro*, Projeto Fronteiras, Manaus, AM, p.125–146.
- Brasil, D.D.F.; Regis, I.C. de A.; Freitas, L.M.C. de; Guimarães-Brasil, M.D.O. 2021. Desenvolvimento colonial de abelha sem ferrão jandaíra (*Melipona subnitida* Ducke) no semiárido brasileiro. *Archives of Veterinary Science* 26: 25–38.
- Broschneider, R.; Crailsheim, K. 2010. Nutrition and health in honey bees. *Apidologie* 41: 278–294.
- Brooks, M., E.; Kristensen, K.; Benthem, K., J. van; Magnusson, A.; Berg, C., W.; Nielsen, A.; et al. 2017. glmmTMB Balances Speed and Flexibility Among Packages for Zero-inflated Generalized Linear Mixed Modeling. *The R Journal* 9: 378–400.
- Bueno, C.R.; Ferreira, C.A.C.; Rabelo, A. 2013. *Flora da Amazônia no Bosque da Ciência*. Manaus, AM, 88p.
- Carey, J.R. 2001. Demographic mechanisms for the evolution of long life in social insects. *Experimental Gerontology* 36: 713–722.
- Carvalho, C.A.L. de; Alves, R.M. de O.; Souza, B. de A. 2003. *Criação de abelhas sem ferrão: aspectos práticos*. In: *Série Meliponicultura*. Universidade Federal da Bahia/ SEAGRI - BA, 42p.
- Carvalho-Zilse, G.; Porto, E.L.; Silva, C.G.N. da; Pinto, M. de F.C. 2007. Atividades de vôo de operárias de *Melipona seminigra* (Hymenoptera: Apidae) em um sistema agroflorestal da Amazônia. *Bioscience Journal* 23: 94–99.
- Carvalho-Zilse, G.A.; Silva, C.G.N. da; Alves, R.M. de O.; Souza, B. de A.; Waldschmidt, A.M.; Sodré, G. da S.; et al. 2011. *Meliponicultura: perguntas mais frequentes sobre as abelhas sem ferrão*. In: *Série Meliponicultura*. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas - BA, 41p.
- Carvalho-Zilse, G.A.; Vilas-Boas, H.C.; Costa, K.B. da; Silva, C.G.N. da; Souza, M.T. de; Fernandes, R.S. 2012. *Meliponicultura na Amazônia*. Projeto Fronteira, Manaus - AM, 50p.
- Castagnino, G.L.; Arboitte, M.Z.; Lengler, S.; Garcia, G.G.; Menezes, L.F.G. de. 2006. Desenvolvimento de núcleos de *Apis mellifera* alimentados com suplemento aminoácido vitamínico, Promotor L®. *Ciência Rural* 36: 685–688.
- Castagnino, G.L.B.; Simón, M.T.C.D.; Meana, A.; Pinto, L.F.B. 2022. Development of colonies of urucu stingless bees fed a vitamin-amino acid supplement. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal* 23: e202200032022.
- Contrera, F.A.L.; Menezes, C.; Venturieri, G.C. 2011. New horizons on stingless beekeeping (Apidae, Meliponini). *Revista Brasileira de Zootecnia* 40: 48–51.
- Costa, L.; Venturieri, G.C. 2009. Diet impacts on *Melipona flavolineata* workers (Apidae, Meliponini). *Journal of Apicultural Research and Bee World* 48: 38–45.
- Crawley, M.J. 2013. *The R Book*. 2<sup>a</sup> ed. John Wiley & Sons, Ltd, United Kingdom, 975p.
- DeGrandi-Hoffman, G.; Wardell, G.; Ahumada-Segura, F.; Rinderer, T.; Danka, R.; Pettis, J. 2008. Comparisons of pollen substitute diets for honey bees: consumption rates by colonies and effects on brood and adult populations. *Journal of Apicultural Research* 47: 265–270.
- Dias, A.M.; Filgueira, M.A.; de Oliveira, F.L.; Costa, E.M. da; Dias, V.H.P. 2010. Influência da alimentação artificial protéica no desenvolvimento de abelhas jandaíra (*Melipona*

- subnitida* Ducke) (Apidae: Meliponinae). *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável* 5: 196–206.
- Dias, V.H.P.; Filgueira, M.A.; Oliveira, F.L. de; Dias, A.M.; Costa, E.M. da. 2008. Alimentação artificial à base de mel e suas implicações no desenvolvimento de famílias de abelhas Jandaíras (*Melipona subnitida* Ducke) em Mossoró – RN. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável* 3: 40–44.
- Donkersley, P.; Rhodes, G.; Pickup, R.W.; Jones, K.C.; Wilson, K. 2014. Honeybee nutrition is linked to landscape composition. *Ecology and Evolution* 4: 4195–4206.
- Evangelista-Rodrigues, A.; Góis, G.C.; Silva, C.M. da; Souza, D.L. de; Souza, D.N.; Silva, P.C. da C.; et al. 2008. Desenvolvimento produtivo de colmeias de abelhas *Melipona scutellaris*. *Biotemas* 21: 59–64.
- Faquinello, P.; Brito, B.B.P.; Carvalho, C.A.L. de; Paula-Leite, M.C. de; Alves, R.M. de O. 2013. Correlação entre parâmetros biométricos e produtivos em colônias de *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lepeletier (Hymenoptera: Apidae). *Ciência Animal Brasileira* 14: 312–317.
- Filipiak, M.; Kuszewska, K.; Asselman, M.; Denisow, B.; Stawiarz, E.; Woyciechowski, M.; et al. 2017. Ecological stoichiometry of the honeybee: Pollen diversity and adequate species composition are needed to mitigate limitations imposed on the growth and development of bees by pollen quality. *PLoS ONE* 12: e0183236.
- Freitas, P.V.D.X. de; Zanata, R.A.; Silva, I.E. da; Faquinello, P.; Silva-Neto, C. de M. e. 2020. Feed supplementation in the diet of *Melipona rufiventris*. *Journal of Apicultural Research*: 1–5.
- Freitas, P.V.D.X. de; Faquinello, P.; Sousa, M.R.; Maura Regina Sousa Silva; Leite, P.R. de S. da C.; Abrão, F.O.; et al. 2021. Development and productive parameters of microcolonies of *Melipona rufiventris* fed different protein supplements. *Journal of Apicultural Research*: 1–9.
- Gurgel, E.G.G. 2014. *Efeitos da alimentação suplementar na progênie de Melipona interrupta Latreille, 1811 e M. seminigra Friese, 1903*. Dissertação (Mestrado), Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA, Manaus, AM, 70p.
- Hartig, F. 2022. DHARMA: Residual Diagnostics for Hierarchical (Multi-Level / Mixed) Regression Models. *CRAN*: 1-65.
- Helm, B.R.; Slater, G.P.; Rajamohan, A.; Yocum, G.D.; Greenlee, K.J.; Bowsher, J.H. 2017. The geometric framework for nutrition reveals interactions between protein and carbohydrate during larval growth in honey bees. *Biology Open* 6: 872–880.
- Hilário, S.D.; Imperatriz-Fonseca, V.L.; Kleinert, A. de M.P. 2000. Flight activity and colony strength in the stingless bee *Melipona bicolor bicolor* (Apidae, Meliponinae). *Revista Brasileira de Biologia* 60: 299–306.
- Hilário, S.D.; Gimenes, M.; Imperatriz-Fonseca, V.L. 2003. The influence of colony size in diel rhythms of flight activity of *Melipona bicolor* Lepeletier (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). In: Melo, G.A.R.; Alves-dos-Santos, I. (Eds.), *Apoidea Neotropica: Homenagem Aos 90 Anos de Jesus Santiago Moure*, Editora UNESC, Criciúma, p.191–197.
- INMET, I.N. de M.I.-. 2022. *Estação: MANAUS A101*. (<https://tempo.inmet.gov.br/TabelaEstacoes/A101>). Accessed on 09 Feb. 2023.
- Kaluza, B.F.; Wallace, H.; Heard, T.A.; Klein, A.-M.; Leonhardt, S.D. 2016. Urban gardens promote bee foraging over natural habitats and plantations. *Ecology and Evolution* 6: 1304–1316.
- Kämper, W.; Werner, P.K.; Hilpert, A.; Westphal, C.; Blüthgen, N.; Eltz, T.; et al. 2016. How landscape, pollen intake and pollen quality affect colony growth in *Bombus terrestris*. *Landscape Ecology* 31: 2245–2258.

- Keller, I.; Fluri, P.; Imdorf, A. 2005. Pollen nutrition and colony development in honey bees: part 1. *Bee World* 86: 3–10.
- Leão, K.L.; Campbell, A.; Veiga, J.; Menezes, C.; Contrera, F.A.L. 2023. Decoding colony size of Amazonian stingless bees through intrinsic parameters. *Authorea*: 1–15.
- Lenth, R.V.; Bolker, B.; Buerkner, P.; Giné-Vázquez, I.; Herve, M.; Jung, M.; et al. 2023. emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means. *CRAN*: 1-101.
- Maia-Silva, C.; Hrcir, M.; Imperatriz-Fonseca, V.L.; Schorkopf, D.L.P. 2016. Stingless bees (*Melipona subnitida*) adjust brood production rather than foraging activity in response to changes in pollen stores. *Journal of Comparative Physiology A Neuroethology, Sensory, Neural and Behavioral Physiology* 202: 723–732.
- Monteiro, C.G.; Oliveira, E.C. de; Silveira, E.B. da 2022. *Fauna & Flora do Campus da Universidade Federal do Amazonas A maior biodiversidade urbana do Brasil*. In: Monteiro, C.G.; Oliveira, E.C. de; Silveira, E.B. da (Eds.) Editora da Universidade Federal do Amazonas, Manaus - AM, 289p.
- Moura, M.E.K. de. 2021. *Efeito dos fatores bióticos e abióticos no forrageio e desenvolvimento de colônias de abelhas-sem-ferrão (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)*. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis - SC, 90p, (<https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/243839/PAGR0486-D.pdf?sequence=-1&isAllowed=y>).
- Nogueira-Neto, P. 1997. *Vida e Criação de Abelhas Indígenas Sem Ferrão*. Editora Nogueirapis, São Paulo, 445p.
- Nunes, R.A. da S. 2008. *Caracterização do desenvolvimento embrionário e pós-embrionário das abelhas **Melipona seminigra** e **Melipona compressipes** (Hymenoptera, Apidae)*. Monografia (Graduação), Universidade Federal do Amazonas, Manaus - AM, 37p.
- Pinheiro, E.B.; Maracajá, P.B.; Mesquita, L.X. de; Soto-Blanco, B.; Filho, R.B. de O. 2009. Efeito de diferentes alimentos sobre a longevidade de operárias de abelhas Jandaíra em ambiente controlado. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável* 4: 50–56.
- Pires, N.V.C.R. 2009. *Efeitos da alimentação artificial protéica em colônias de urucu-cinzenta (**Melipona fasciculata**, Smith 1858) (Apidae, Meliponini) e adaptação em casa-de-vegetação*. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Pará, Belém - PA, 69p.
- Pires, N.V.C.R.; Venturieri, G.C.; Contrera, F.A.L. 2009. *Elaboração de uma dieta artificial protéica para **Melipona fasciculata***. In: *Documentos*. 1st ed. Embrapa Amazônia Oriental, Belém - PA, 23p.
- Queiroz, A.C.M.; Leão, K.L.; Contrera, F.A.L.; Teixeira, J.C.S.; Menezes, C. 2019. Stingless Bees Fed on Fermented Soybean-extract-based Diet Had Reduced Lifespan than Pollen-Fed Workers. *Sociobiology* 66: 107–112.
- Quezada-Euán, J.J.G.; López-Velasco, A.; Pérez-Balam, J.; Moo-Valle, H.; Velazquez-Madrado, A.; Paxton, R.J. 2011. Body size differs in workers produced across time and is associated with variation in the quantity and composition of larval food in *Nannotrigona perilampoides* (Hymenoptera, Meliponini). *Insects Sociiaux* 58: 31–38.
- R Core Team. 2023. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 1596p.
- Rebelo, K.S.; Ferreira, A.G.; Carvalho-Zilse, G.A. 2016. Physicochemical characteristics of pollen collected by Amazonian stingless bees. *Ciência Rural* 46: 927–932.
- Rebelo, K.S.; Cazarin, C.B.; Iglesias, A.H.; Stahl, M.A.; Kristiansen, K.; Carvalho-Zilse, G.A.; et al. 2021. Nutritional composition and bioactive compounds of *Melipona seminigra* pot-pollen from Amazonas, Brazil. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 101: 4907–4915.



- Roubik, D.W. 1982. Seasonality in Colony Food Storage, Brood Production and Adult Survivorship: Studies of *Melipona* in Tropical Forest (Hymenoptera: Apidae). *Journal of the Kansas Entomological Society* 55: 789–800.
- Roulston, T.H.; Cane, J.H. 2002. The effect of pollen protein concentration on body size in the sweat bee *Lasioglossum zephyrum* (Hymenoptera: Apiformes). *Evolutionary Ecology* 16: 49–65.
- Sant’ana, R. da S.; Carvalho, C.A.L. de; Oda-Souza, M.; Souza, B. de A.; Dias, F. de S. 2020. Characterization of honey of stingless bees from the Brazilian semi-arid region. *Food Chemistry* 327: 127041.
- SEMMAS, S.M. de M.A. e S.-. 2016. *Relatório da SEMMAS 2016*. Prefeitura Municipal de Manaus, Manaus, AM, 70p.
- Somerville, D. 2000. Honey bee nutrition and supplementary feeding. *NSW Agriculture*: 1–8.
- Souza, B.; Roubik, D.; Barth, O.; Heard, T.; Enríquez, E.; Carvalho, C.; et al. 2006. Composition of stingless bee honey: setting quality standards. *Interciencia* 31: 867–875.
- Teixeira, J.; Queiroz, A.C.; Veiga, J.; Leão, K.; Contrera, F.; Domingues, F.; et al. 2019. Soy extract as protein replacement to feed *Melipona flavolineata* Friese (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). *Journal of Apicultural Research* 59: 104–114.
- Ueira-Vieira, C.; Nunes-Silva, C.G.; Absy, M.L.; da Costa Pinto, M. de F.F.; Kerr, W.E.; Bonetti, A.M.; et al. 2013. Pollen diversity and pollen ingestion in an Amazonian stingless bee, *Melipona seminigra* (Hymenoptera, Apidae). *Journal of Apicultural Research* 52: 173–178.
- Viana, A.P. da S.; Pauletto, D.; Gama, J.R.V.; Pires, A.P.; Azevedo, H.H.F.; Pacheco, A. 2021. Meliponiculture in agroforestry systems in Belterra, Pará, Brazil. *ACTA Apicola Brasilica* e7913: [S.I.].
- Vollet-Neto, A.; Maia-Silva, C.; Menezes, C.; Venturieri, G.C.; Jong, D.D.; Imperatriz-Fonseca, V.L. 2010. Dietas protéicas para abelhas sem ferrão. *Anais do IV Encontro sobre Abelhas*: 121–129.

## CAPÍTULO 2

---

Campelo, J. C., Corrêa Neto, J. J., Araújo, E. D., Nunes, L. A., Carvalho-Zilse, G. A. Variação morfométrica e assimetria flutuante em abelhas *Melipona seminigra merrillae* Cockerell, 1919 sob diferentes alimentações suplementares. Manuscrito formatado para o periódico *Acta Amazonica*

## **Variação morfométrica e assimetria flutuante em abelhas *Melipona seminigra merrillae* Cockerell, 1919 sob diferentes alimentações suplementares**

### **Resumo**

Na meliponicultura, durante o período em que há escassez temporária de alimento na natureza, é necessário utilizar alimentação suplementar para estimular que as colônias se mantenham em boas condições até a próxima floração. No entanto, deve-se considerar que o tamanho corporal e o desenvolvimento das abelhas podem ser afetados pelas diferentes alimentações. Aqui, avaliamos, comparativamente, o efeito das alimentações suplementares na morfometria e assimetria flutuante de abelhas *Melipona seminigra merrillae* Cockerell, 1919 ao longo do tempo e em dois meliponários. Utilizamos colônias de meliponários urbanos de Manaus: meliponário do Grupo de Pesquisa em Abelhas – GPA-INPA e meliponário Alvorecer. Durante um período de 21 semanas, as colônias foram suplementadas com as seguintes alimentações: Xarope (T1–Controle), Pólen (T2), Soja (T3) e Aminomix (T4). Obteve-se dados de: distância interocular, distância intertegular, área da corbícula, tamanho da asa e assimetria flutuante (AF) da forma da asa das abelhas operárias em distintos tempos (zero, 70, 95, 120 e 145 dias). Utilizamos a Análise de Variância (ANOVA) e teste Tukey, quando necessário, para avaliar o efeito da alimentação suplementar, a interação entre a alimentação e tempo na morfometria e AF da forma da asa. Também verificamos o efeito da alimentação na morfometria das operárias nos diferentes meliponários. A morfometria das operárias não foi afetada significativamente pelas alimentações (T2, T3 e T4), nem pela interação entre a alimentação e tempo (com valores de  $P < 0,05$ ). Também, não houve variação significativa na AF da forma da asa (com valores de  $P < 0,05$ ). Resultados distintos foram observados nos meliponários: no meliponário GPA-INPA, a alimentação T4 ao longo do tempo reduziu a distância interocular, já no meliponário Alvorecer, as abelhas alimentadas com T2 tiveram a menor distância intertegular. As variações na composição das alimentações, juntamente com as diferenças ambientais de cada meliponário, certamente influenciaram nos efeitos observados.

**Palavras-chave:** abelha “sem-ferrão”; suplementação alimentar; morfometria, Meliponicultura

## Introdução

A criação de abelhas “sem-ferrão” (Hymenoptera: Apidae: Meliponini) (Michener 2007), conhecida como meliponicultura (Conselho Nacional do Meio Ambiente 2020), tem despertado interesse, tanto de criadores conservacionistas, quanto de agricultores tradicionais que veem essa atividade como uma fonte alternativa de renda (Venturieri 2008, Venturieri et al. 2012, Barbiéri e Franco 2020).

Entre os 28 gêneros de abelhas “sem-ferrão” conhecidas para o Brasil (Nogueira 2023), as abelhas do gênero *Melipona* Illiger, 1806 são as mais comumente utilizadas na meliponicultura (Kerr et al. 2001, Carvalho-Zilse et al. 2012, Rebouças et al. 2022). Neste sentido, *Melipona seminigra merrillae* Cockerell, 1919 (popularmente conhecida como uruçú-boca-de-renda) destaca-se como uma das principais espécies criadas no estado do Amazonas (Kerr et al. 1994, Carvalho-Zilse et al. 2012, Oliveira et al. 2013), com colônias populosas (em média de 2.000 indivíduos) (Oliveira e Aidar 2006, Oliveira et al. 2013) e boa produção de mel (1,87 a 5,00 kg de mel/colônia/ano) (Carvalho-Zilse e Nunes-Silva 2012).

O mel e pólen fermentado (Carvalho-Zilse et al. 2011, Rebelo et al. 2021) são as fontes dos nutrientes fundamentais (proteínas, carboidratos, minerais, lipídios, vitaminas e água) para o desenvolvimento e exercício das atividades das abelhas dentro da colônia (Brodschneider e Crailsheim 2010). O mel fornece carboidratos (Somerville 2000, Souza et al. 2006, Sant’ana et al. 2020), enquanto o pólen fermentado, também chamado de saburá ou samburá, é fonte de proteínas (Somerville 2000, Rebelo et al. 2021). No entanto estes recursos alimentares nem sempre estarão disponíveis na natureza em quantidade e qualidade suficientes (Dias et al. 2008), devido às variações sazonais ao longo do ano, causada pelo ciclo reprodutivo das plantas, das estações do ano, entre outros (Keller et al. 2005). Além disso, na atividade de meliponicultura, é possível que haja uma saturação desses recursos quando várias colônias são concentradas em um único local – Meliponário (Carvalho et al. 2003, Carvalho-Zilse et al. 2012).

Para suprir momentaneamente a escassez de alimento na natureza e garantir que as colônias se mantenham em boas condições até a próxima floração, faz-se necessário o uso de alimentação suplementar. Neste sentido, é fornecida às abelhas uma mistura de água e açúcar (xarope) com o intuito de suprir o néctar (Nogueira-Neto 1997). E para compensar a falta de pólen, são fornecidas porções extra de pólen, suplementos alimentares comerciais contendo aminoácidos, vitaminas e minerais, e alimentos fermentados à base de levedura de cerveja e

de extrato de soja (Fernandes-da-Silva e Zucoloto 1990, Costa e Venturieri 2009, Pinheiro et al. 2009, Pires et al. 2009, Gurgel 2014, Castagnino et al. 2022).

Estudos com abelhas “sem-ferrão”, que receberam alimentação suplementar de soja fermentada, constataram um aumento no tamanho dos ácidos, oócitos e distância intertegular em comparação com aquelas que consumiram alimentação natural (Costa e Venturieri 2009, Teixeira et al. 2019). Assim com, as alimentadas com suplementos aminoácidos-vitamínicos tiveram o mesmo efeito no tamanho do tórax daquelas alimentadas com xarope e com pólen da própria espécie (Gurgel 2014).

Devido ao tamanho corporal das abelhas ser afetado pela quantidade e qualidade do alimento recebido durante o estágio larval (Roulston e Cane 2000), é importante considerar não apenas a composição floral no entorno do meliponário (Filipiak et al. 2017, Filipiak 2018), mas também a quantidade e qualidade das alimentações suplementares oferecidas às abelhas. Pois larvas mal nutridas, seja pela quantidade ou qualidade de recursos alimentares consumidos, resultam em abelhas adultas de baixa qualidade, que podem apresentar malformações, redução na expectativa de vida, distorções na anatomia das asas e demais estruturas corporais e influenciar no tamanho corporal dos indivíduos adultos (Roulston e Cane 2000, 2002, Peruquetti 2003, Brodschneider e Crailsheim 2010, Quezada-Euán et al. 2011).

As alterações no tamanho e na forma das estruturas dos organismos podem ser estudadas por meio de duas abordagens distintas que utilizam técnicas estatísticas multivariadas: a morfometria tradicional ou convencional (Araújo 2010, Carneiro et al. 2017), que se baseia em métodos que envolvem medidas lineares, como comprimento, largura, ângulos ou proporções, derivadas de estruturas ou partes dos organismos (Rohlt e Marcus 1993, Moraes 2003); e a morfometria geométrica, que emprega métodos para adquirir, processar e analisar variáveis de forma de modo a preservar todas as informações geométricas presentes nos dados originais (Rohlt e Marcus 1993, Moraes 2003), os quais são obtidos a partir de coordenadas cartesianas, chamados de marcos anatômicos ou “landmarks” (Klingenberg 2002). Por meio dessas duas abordagens morfométricas, é possível também analisar as perturbações que os organismos podem enfrentar ao longo do seu desenvolvimento embrionário, a fim de demonstrar um determinado fenótipo (Klingenberg 2002, Coda et al. 2017, Graham 2021). Uma maneira de avaliar o efeito dessas perturbações é através da análise de assimetria flutuante (AF) (Palmer e Strobeck 1986, Klingenberg 2002), que consiste em pequenas variações aleatórias no desenvolvimento dos lados esquerdo e direito de

características bilateralmente simétricas de cada indivíduo (Palmer e Strobeck 1986, Parsons 1992).

Nesse estudo, avaliamos, comparativamente, o efeito da alimentação suplementar na morfometria e assimetria flutuante (AF) de abelhas operárias de *Melipona seminigra merrillae*. Consideramos o efeito da alimentação, a interação entre a alimentação e tempo (para a morfometria e AF) e ainda estes efeitos em dois meliponários (somente morfometria).

## **Material e Métodos**

### **Área de estudo**

O estudo foi realizado no período de 17 de agosto de 2021 a 11 de janeiro de 2022, em dois meliponários na região urbana de Manaus: meliponário científico do Grupo de Pesquisas em Abelhas (GPA-INPA) e o meliponário Alvorecer (Figura 1). O meliponário GPA-INPA está instalado dentro da área do Bosque da Ciência, o qual é considerado um fragmento florestal urbano constituído por cerca de duas centenas de árvores da flora amazônica (Bueno et al. 2013) localizado no Campus I do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), em Manaus-AM (3°05'50"S e 50°59'06"W) ao lado do maior fragmento florestal urbano do Brasil – o campus da Universidade Federal do Amazonas (UFAM). O meliponário Alvorecer está situado no bairro Montes das Oliveiras (3°00'27"S e 60°00'01"W) próximo ao igarapé do Passarinho, cuja a vegetação do entorno do igarapé é constituída principalmente por espécie vegetais (como Ipês, Jutairana, Pata-de-vaca, Pau-prezinho e Oiti) que são usadas pela Secretaria Municipal de Meio Ambiente e Sustentabilidade urbana (SEMMAS) em projetos de arborização da cidade (SEMMAS 2016).

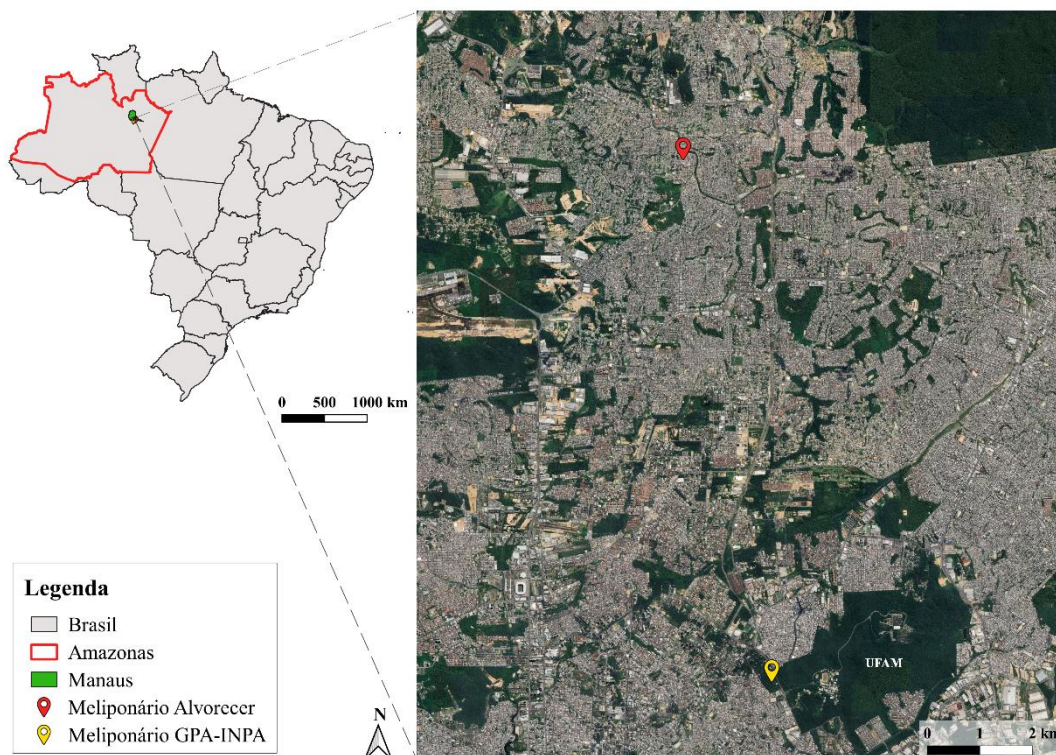


Figura 1: Mapa do local de estudo. Fonte: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE, 2022; Google Earth, 2023. Organização: J. Campelo.

De acordo com a classificação de Köppen, Manaus-AM possui clima equatorial quente e úmido (Af). As chuvas são constantes ao longo de todo o ano, concentrando-se especialmente entre novembro até junho, com os maiores índices de pluviosidade registrados de março a maio, onde a umidade relativa do ar pode ultrapassar 80%. Já entre julho a outubro ocorre o período de estiagem, marcada pelo menor índice de pluviosidade, sobretudo em agosto e setembro (Alvares et al. 2013, INMET 2022). A floração está diretamente ligada ao ciclo sazonal de chuvas, com o período de menor floração de dezembro a abril, picos de floração entre agosto a outubro, e uma média floração entre esses intervalos (Carvalho-Zilse et al. 2012).

### Desenho experimental

Em cada meliponário foram selecionadas doze (12) colônias de *Melipona seminigra merrillae* mantidas em caixas de madeira padronizadas modelo INPA com equivalente condições de desenvolvimento e população. Por meio de sorteio foram formados quatro (4) grupos tratamentos em cada meliponário, contendo três (3) colônias cada, que receberam

diferentes alimentações suplementares cujas composições seguiram as comumente utilizadas pelos meliponicultores do Amazonas (Carvalho-Zilse, G.A., informação pessoal):

T1–Xarope: colônias alimentadas com 100 mL de xarope de açúcar (na proporção de 600 mL de água para 1 kg de açúcar);

T2–Pólen: colônias alimentadas com massa pastosa formada com 10 g de uma mistura de pólen maturado + mel (proporção 4:1), ambos da própria espécie, corada com anilina líquida vermelha;

T3–Soja: colônias alimentadas com 10 g de massa pastosa obtida de uma mistura de extrato de soja + xarope de açúcar + pólen maturado da própria espécie, a qual passou por processo fermentativo como citado por Pires et al. (2009), corado com anilina líquida verde;

T4–Aminomix: colônias alimentadas com 100 mL de uma solução líquida de Aminomix® Pet diluído em xarope de açúcar (proporção 10g de Aminomix: 1 litro de xarope), corada com anilina líquida vermelha.

Para os tratamentos T2–Pólen e T3–Soja além das alimentações descritas acima foram oferecidas, concomitantemente, 100 mL de xarope de açúcar, sendo este um alimento comum em todos os grupos tratamento. A anilina líquida colorida comestível foi utilizada para facilitar a observação da manipulação dos alimentos pelas abelhas e o rastreamento do seu uso dentro das colônias (Pires et al. 2009).

Os alimentos líquidos (T1–Xarope e T4–Aminomix) foram ofertados em “alimentadores” feitos com fundo de garrafa PET de 350 mL enquanto os alimentos sólidos (T2–Pólen e T3–Soja) foram oferecidos em “cápsulas de cerume” confeccionadas com cera da própria espécie. As colônias tiveram livre acesso ao pasto meliponícola natural disponível no entorno dos meliponários e foram mantidas pelos responsáveis dos meliponários que fizeram revisões periódicas para limpeza do local, manejo e multiplicação de colônias que estivessem em condições ideais.

### **Aquisição de dados**

Para avaliar o efeito das alimentações suplementares sobre os caracteres morfométricos, foram coletadas cinco abelhas operárias de cada colônia, totalizando 30 abelhas por tratamento (15 abelhas por tratamento em cada meliponário). Considerando o ciclo de desenvolvimento das abelhas operárias de *M. seminigra merrillae*, que em média dura



48,9 ( $\pm 0,47$ ) dias desde a fase de ovo até a emergência do adulto (Nunes 2008), é possível que, aos 70 dias após o início da alimentação suplementar, já teríamos operárias adultas que se desenvolveram sob a influência do alimento suplementar. Portanto, as abelhas foram coletadas em cinco períodos distintos: antes do início das alimentações suplementares (marco zero – 0 dias), e nos 70, 95, 120 e 145 dias após o início da alimentação suplementar.

Foram obtidas as seguintes medidas morfométricas tradicionais: distância interocular (mm), distância intertegular (mm) e área da tíbia (mm<sup>2</sup>) da terceira perna direita (área da corbícula) (Figura 2). Estas mensurações foram realizadas através de uma ocular milimetrada, previamente calibrada, instalada a um estereomicroscópio ZEISS Stime SV6, no aumento de 2x. Os dados obtidos foram organizados em planilhas do Excel, para posterior análises.



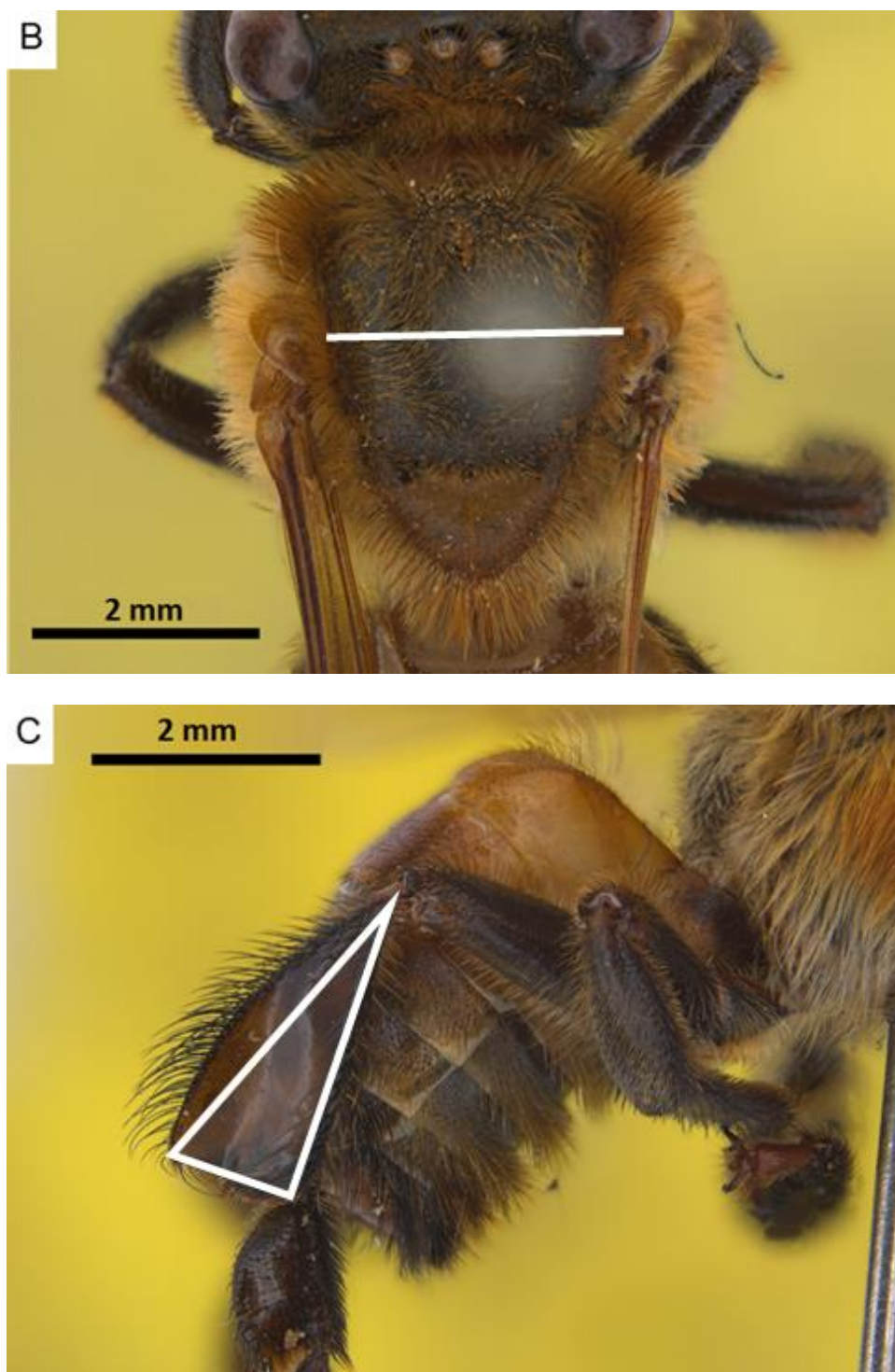


Figura 2: Estruturas corporais dos espécimes de *Melipona seminigra merrillae* utilizada para a obtenção dos dados de: A – Distância interocular (vista frontal); B – Distância intertegular (vista dorsal) e C – Área da corbícula (vista lateral).

As asas anteriores direita e esquerda foram utilizadas para a morfometria geométrica as quais foram retiradas com auxílio de pinça de ponta fina e dispostas entre lâmina e lamínula

de microscopia. Estas asas foram fotografadas usando-se câmera digital Leica DMC4500 acoplada a um estereomicroscópio Leica M205A e salvas em arquivo TIF.

Utilizando o software tpsUtil (Rohlf 2023), as imagens digitalizadas das asas, foram criados arquivos com extensão do tipo TPS. As asas esquerdas, foram espelhadas com auxílio do software Fotos do Windows para facilitar a marcação dos pontos anatômicos. Treze pontos, dos quais dez são marcos (de 1 a 10) e três são semi-marcos (de 11 a 13), foram marcados com auxílio do software tpsDig (Rohlf 2021a) (Figura 3).

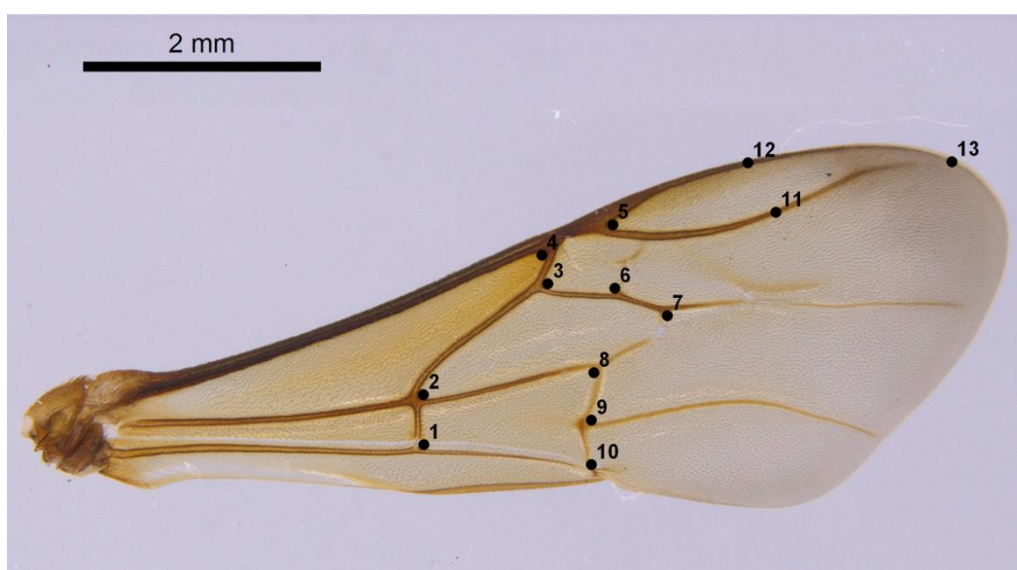


Figura 3: Asa anterior direita de *Melipona seminigra merrillae* com os 13 marcos anatômicos estabelecidos.

Como proposto por Palmer (1994), previamente, foi realizado um teste para verificar se o erro de marcação dos pontos era menor que a variação entre os indivíduos. Sendo assim, foram selecionadas 30 asas para que uma única pessoa realizasse a marcação dos pontos anatômicos em três ocasiões distintas, com um intervalo de dois dias entre cada uma delas.

A asa anterior direita de cada indivíduo foi utilizada para a análise de tamanho da asa. Desta maneira, as coordenadas geradas no tpsDig a partir dos pontos anatômicos foram transferidos para o software tpsRelw (Rohlf 2021b) onde foram extraídos o tamanho do centroide das asas que foram usados como medida do tamanho. Essa medida constitui uma variável de tamanho que não se correlaciona com variáveis da forma, sendo uma variável padrão em análises geométricas (Bookstein 1992).

Ainda usando a abordagem da morfometria geométrica, utilizou-se as asas anteriores direita e esquerda para a analisar a assimetria flutuante (AF). E para que os semi-marcos

fossem analisados em conjunto com os marcos, foi criado um arquivo “sliders”, onde foi definido quais os pontos de semi-marcos seriam deslizados para o alinhamento. Desta forma, as coordenadas das asas foram importadas para o software MorphoJ (Klingenberg 2011) e submetidas a um ajuste de sobreposição de Procrustes. Neste processo, ocorreu a translação, proporcionalização e rotação das coordenadas em referência à configuração média (consenso), resultando em um conjunto de dados do qual apenas as informações da forma das asas foram extraídas.

### **Análise dos dados**

Os dados da forma das asas foram transferidos para o software Morpho J, onde foi realizada uma ANOVA de Procrustes sendo os dados de forma usados como variável independente; o indivíduo como efeito aleatório (representando o efeito entre os espécimes, ou seja, a variação de forma individual) e os lados do corpo como efeito fixo (representa o efeito para um dos lados do corpo, ou seja, a assimetria direcional). Assim, o valor do efeito da assimetria flutuante foi obtido por meio da interação entre indivíduos X lados do corpo (representando o desvio da assimetria de cada indivíduo em relação à média geral da assimetria da forma) e o resíduo como o erro de medição (Klingenberg e McIntyre 1998). Ao final, um arquivo com as pontuações de AF da forma de cada tratamento nos diferentes tempos.

As análises estatísticas a seguir foram realizadas no software R 4.3.1 (R Core Team 2023).

Para avaliar o efeito da alimentação suplementar e da interação entre a alimentação e tempo sobre os caracteres morfológicos das abelhas operárias de *M. seminigra merrillae*, utilizamos Modelos Lineares Generalizados Mistos (GLMMs) usando a função “glmmTMB” do pacote *glmmTMB* (Brooks et al. 2017) com distribuição de erro Gaussian, para cada um dos dados obtidos dos caracteres: distância interocular, distância intertegular, área da corbícula, tamanho da asa (tamanho do centróide) e AF da forma das asas. Os tratamentos (T1; T1; T3 e T4) e os tempos (0; 70; 95; 120 e 145 dias) de oferta das alimentações foram considerados como efeitos preditores (efeitos fixos) e as colônias foram utilizadas como efeito aleatório no modelo para controlar as medidas repetidas no tempo.

Também foram construídos GLMMs com distribuição de erro Gaussian para avaliar o efeito da alimentação suplementar e a interação alimentação e tempo sobre os caracteres morfológicos (distância interocular, distância intertegular e área da corbícula) das abelhas nos distintos meliponários, empregando-se as mesmas variáveis de efeito fixo (tratamentos e tempos) e aleatória (colônias), como citado anteriormente.

Os modelos foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA), com significância avaliada pelo teste  $\chi^2$  (Crawley 2013), e comparações pareadas foram realizadas usando médias marginais estimadas e corrigidas para testes múltiplos (comparações múltiplas de Tukey) com o pacote *emmeans* (Lenth et al. 2023).

Todos os modelos foram submetidos à análise de resíduos usando a função “simulateResiduals” do pacote *DHARMA* (Hartig 2022) para avaliar a adequação da distribuição de erro (Crawley 2013).

## **Resultados**

### **Aspectos gerais das colônias alimentadas**

As abelhas aceitaram todas as alimentações suplementares oferecidas. Com base nas cores de anilinas adicionadas aos alimentos (T2–Pólen; T3–Soja e T4–Aminomix), foi possível rastrear seu uso dentro da colônia, tanto no alimento larval (dentro da célula de cria) quanto nas fezes das abelhas, demonstrando que as abelhas consumiram as alimentações suplementares. Especialmente, observou-se a presença da coloração correspondente ao alimento suplementar T4–Aminomix em potes de cerume contendo mel. Ainda, notado o armazenamento de pólen coletado pelas abelhas nas cápsulas de cerume contendo os alimentos suplementares T2–Pólen e T3–Soja.

No meliponário Alvorecer ocorreram algumas adversidades até a quarta semana do experimento. O telhado da estrutura coletiva não era suficiente para abrigar as colônias da exposição direta ao sol. Para resolver tal questão foi adicionada uma extensão no telhado, a fim de protegê-las da incidência solar direta. Constatou-se ainda a presença de várias abelhas mortas no chão do meliponário na quarta semana da oferta dos alimentos experimentais provavelmente em decorrência do manejo das caixas diretamente no suporte coletivo e, para evitar novos conflitos, foi então recomendado ao meliponicultor que as revisões seguintes

fossem realizadas em um local afastado da estrutura coletiva, o que aconteceu e não houve mais registro de mortes de abelhas.

Ainda no meliponário Alvorecer, uma observação pontual quanto ao uso das alimentações suplementares foi registrada na 17<sup>a</sup> semana do período experimental (dentre as 21 semanas experimentais): abelhas de uma única colônia que recebeu T3–Soja foram vistas carregando o alimento suplementar para fora da colônia. Não foram feitas outras observações desse tipo ao longo do experimento, mas esse fato não interferiu nos resultados, uma vez que as abelhas ainda consumiam o alimento oferecido

### **Efeito das alimentações suplementares sobre os caracteres morfológicos de *Melipona seminigra merrillae***

As análises dos caracteres morfológicos (distância interocular, distância intertegular e área da corbícula) de *Melipona seminigra merrillae*, obtidas por meio do método morfométrico tradicional, apresentou resultados distintos

Não foram identificados efeitos significativos na interação tratamento x tempo ( $\chi^2= 11.67$ ;  $df= 12$ ;  $P= 0.47$ ) e nem no efeito isolado do tratamento ( $\chi^2= 0.65$ ;  $df= 3$ ;  $P= 0.88$ ) nesta estrutura. Apenas o tempo teve efeito significativo ( $\chi^2= 74.82$ ;  $df= 4$ ;  $P < 0.001$ ) sobre a distância interocular das abelhas, ou seja, o tempo contribuiu para a diminuição do tamanho desta estrutura nos tempos de 95, 120 e 145 dias (Figura 4A).

Em relação à distância intertegular, foram detectados efeitos significativos da interação tratamento x tempo ( $\chi^2= 23.90$ ;  $df= 12$ ;  $P= 0.02$ ), sendo constatado diminuição na distância intertegular das abelhas do T1–Xarope quando comparado os tempos de 0 dias x 120 dias ( $P= 0.001$ ) e entre 70 dias x 120 dias ( $P= 0.016$ ). Já o tratamento não causou efeito significativo ( $\chi^2= 7.10$ ;  $df= 3$ ;  $P > 0.05$ ) na estrutura analisada, apenas o tempo teve tal efeito ( $\chi^2= 20.02$ ;  $df= 4$ ;  $P < 0.001$ ), resultando em abelhas com menor distância intertegular nos tempos de 95, 120 e 145 dias (Figura 4B).

Finalmente, para a área da corbícula, não foram encontrados efeitos significativos da interação tratamento x tempo ( $\chi^2= 9.90$ ;  $df= 12$ ;  $P= 0.62$ ), assim como para o efeito isolado do tratamento ( $\chi^2= 0.90$ ;  $df= 3$ ;  $P= 0.82$ ) na área dessa estrutura. Apenas o tempo apresentou um efeito significativo ( $\chi^2= 32.97$ ;  $df= 4$ ;  $P < 0.001$ ), em que a área da corbícula das abelhas diminuiu nos tempos de 95, 120 e 145 dias (Figura 4C).

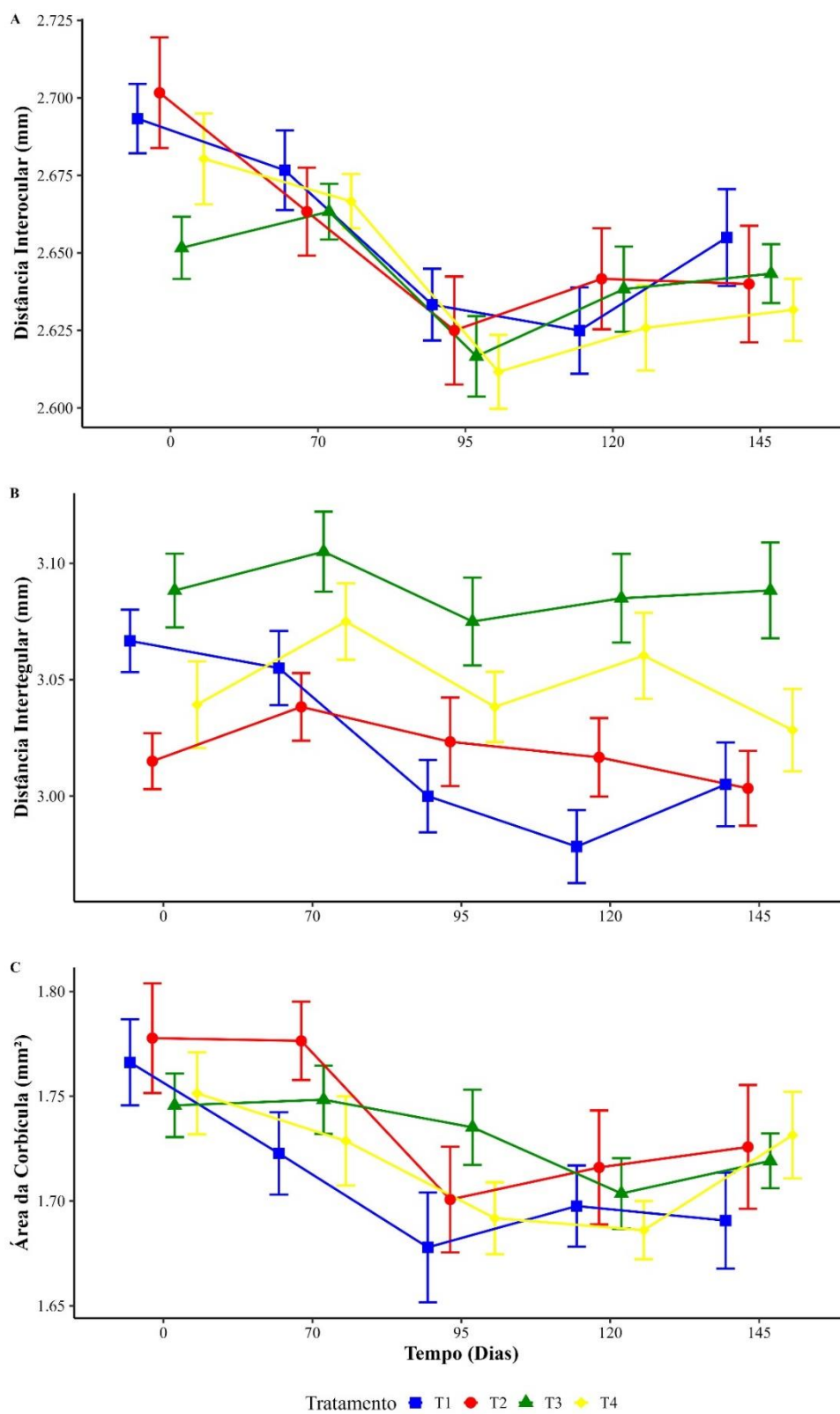


Figura 4: Efeito das alimentações suplementares sobre os caracteres morfológicos de operárias de *Melipona seminigra merrillae* ao longo do tempo: A – Distância interocular; B – Distância intertegular e C – Área da corbícula.

As análises dos dados obtidos por meio da morfometria geométrica relativos ao tamanho da asa (tamanho do centróide) e assimetria flutuante forma (AF) da asa das abelhas também revelou resultados diferentes.

A análise do tamanho da asa (tamanho do centróide) revelou diferença significativa na interação tratamento x tempo ( $\chi^2= 49.88$ ;  $df= 12$ ;  $P < 0.0001$ ), com uma diminuição no tamanho da asa das abelhas do T1–Xarope nos tempos de 120 e 145 dias em comparação ao tempo de zero dia de alimentação (zero x 120 dias,  $P= 0.032$  e zero x 145 dias,  $P= 0.029$ ), além de uma redução no tamanho da asa das abelhas do T4–Aminomix aos 95 dias em comparação com os tempos de zero e 70 dias de alimentação (zero x 95 dias,  $P= 0.003$  e 70 x 95 dias,  $P= 0.001$ ). Isoladamente, o tratamento ( $\chi^2= 7.13$ ;  $df= 3$ ;  $P > 0.06$ ) não causou efeito significativo no tamanho da asa sendo que apenas o tempo ( $\chi^2= 13.31$ ;  $df= 4$ ;  $P < 0.01$ ) teve efeitos significativos com uma diminuição no tamanho da asa no tempo de 95 dias em comparação ao tempo de zero dia (Figura 5).

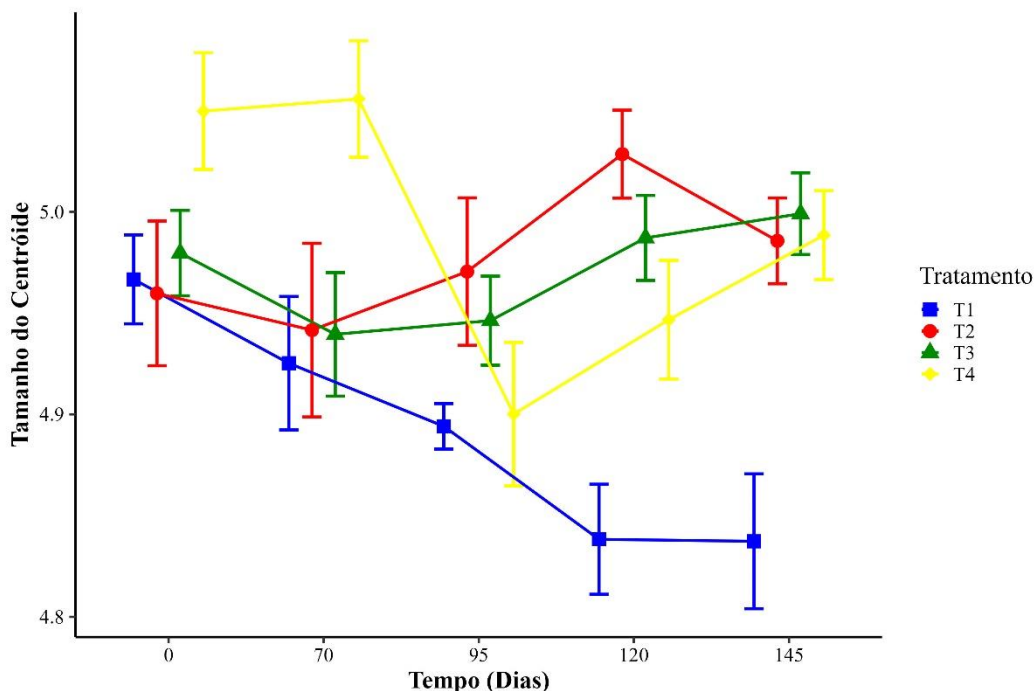


Figura 5: Efeito das alimentações suplementares no tamanho da asa (tamanho do centróide) de operárias de *Melipona seminigra merrillae* ao longo do tempo no meliponário GPA-INPA.



Já na análise da assimetria flutuante (AF) da forma da asa, não foi detectado efeito significativo na interação tratamento x tempo ( $\chi^2= 9.45$ ;  $df= 12$ ;  $P > 0.66$ ) nem mesmo no efeito individual do tratamento ( $\chi^2= 7.24$ ;  $df= 3$ ;  $P > 0.06$ ). Apenas o tempo teve esse efeito ( $\chi^2= 10.51$ ;  $df= 4$ ;  $P < 0.03$ ) com um aumento da AF no tempo de 120 dias (Figura 6).

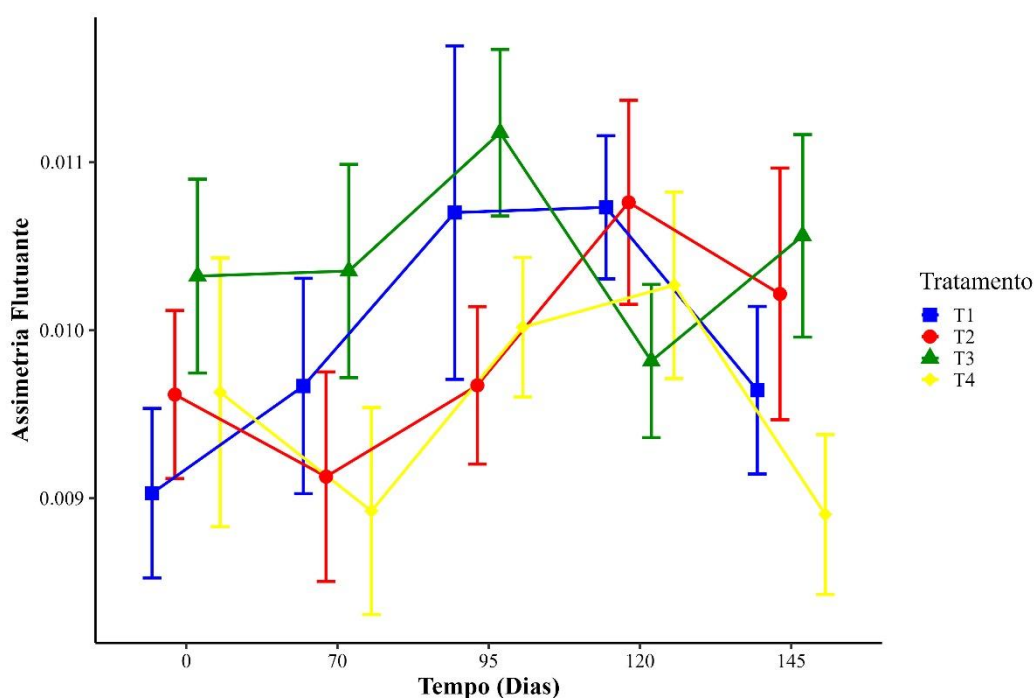


Figura 6: Efeito das alimentações suplementares na assimetria flutuante da forma da asa de operárias de *Melipona seminigra merrillae* ao longo do tempo no meliponário GPA-INPA.

Os resultados das análises do efeito da alimentação suplementar ofertadas ao longo do tempo sobre as estruturas das abelhas nos distintos meliponários não apresentou um padrão.

No meliponário GPA-INPA, houve efeito significativo da interação tratamento x tempo na distância interocular ( $\chi^2= 26.67$ ;  $df= 12$ ;  $P < 0.008$ ) resultando em redução na distância interocular das abelhas do T1–Xarope entre zero dia x 120 dias ( $P= 0.0113$ ) e nas abelhas do T4–Aminomix entre zero dia x 95 dias ( $P= 0.0266$ ) e entre 70 dias x 95 dias ( $P= 0.0259$ ). O tratamento, isoladamente, não teve efeito sobre a distância interocular ( $\chi^2= 1.94$ ;  $df= 3$ ;  $P < 0.58$ ), apenas o tempo teve efeito significativo ( $\chi^2= 27.11$ ;  $df= 4$ ;  $P < 0.001$ ) com redução dessa medida aos 95 e 120 dias, além de um aumento aos 145 dias ( $P= 0.0100$ ) (Figura 7A).

Já em relação a distância intertegular, foi detectado efeito significativo na interação tratamento x tempo ( $\chi^2= 28.03$ ;  $df= 12$ ;  $P < 0.005$ ), resultando em redução na distância intertegular das abelhas do T1-Xarope entre zero dia x 120 dias ( $P= 0.0002$ ). Não foram encontrados efeitos isolados do tratamento ( $\chi^2= 3.14$ ;  $df= 3$ ;  $P > 0.36$ ) e nem do tempo ( $\chi^2= 5.05$ ;  $df= 4$ ;  $P > 0.28$ ) sobre a distância intertegular (Figura 7B).

Quanto a área da corbícula das abelhas do meliponário GPA-INPA, não foi houve efeito significativo na interação tratamento x tempo ( $\chi^2= 18.04$ ;  $df= 12$ ;  $P > 0.11$ ) e nem para o tratamento ( $\chi^2= 5.94$ ;  $df= 3$ ;  $P > 0.11$ ). Apenas o tempo apresentou influência sobre essa estrutura ( $\chi^2= 18.87$ ;  $df= 4$ ;  $P < 0.001$ ), resultando em redução na área da corbícula das abelhas no tempo de 95 dias, além de um aumento na área da corbícula das abelhas no tempo de 145 dias (Figura 7C).

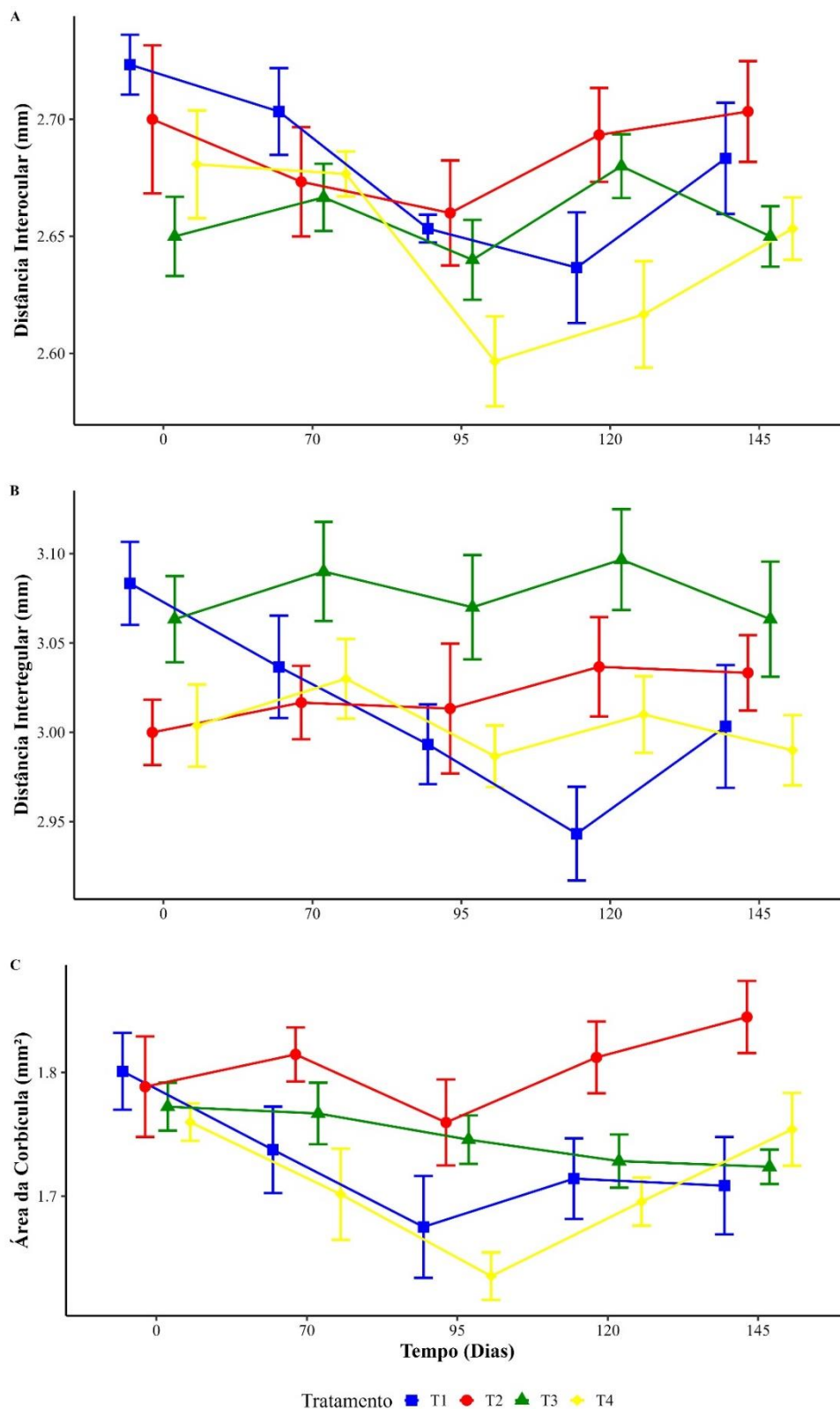


Figura 7: Efeito das alimentações suplementares sobre os caracteres morfológicos de operárias de *Melipona seminigra merrillae* ao longo do tempo no meliponário GPA-INPA: A – Distância interocular; B – Distância intertegular e C – Área da corbícula.

Em relação a distância interocular das abelhas suplementadas no meliponário Alvorecer, não foram encontrados efeitos significativos na interação tratamento x tempo ( $\chi^2= 18.52$ ;  $df= 12$ ;  $P > 0.10$ ) e nem mesmo para tratamento ( $\chi^2= 1.52$ ;  $df= 3$ ;  $P > 0.67$ ). No entanto, houve influência do tempo ( $\chi^2= 63.27$ ;  $df= 4$ ;  $P < 0.001$ ) resultando em redução na distância interocular das abelhas nos tempos de 95, 120 e 145 dias (Figura 8A).

Para a distância intertegular também não houve efeito significativo na interação tratamento x tempo ( $\chi^2= 18.07$ ;  $df= 12$ ;  $P > 0.11$ ). Porém, foi observado efeito significativo do tratamento ( $\chi^2= 15.65$ ;  $df= 3$ ;  $P < 0.001$ ), resultando em abelhas com menor distância intertegular no T1–Xarope ( $P= 0.03$ ) e no T2–Pólen ( $P= 0.009$ ) em comparação as abelhas do T3–Soja, assim como as abelhas do T2–Pólen ( $P= 0.02$ ) apresentaram menor distância intertegular quando comparadas às abelhas do T4–Aminomix. O tempo também teve influência sobre essa característica ( $\chi^2= 21.57$ ;  $df= 4$ ;  $P < 0.001$ ), resultando em redução na distância intertegular das abelhas nos tempos de 95, 120 e 145 dias (Figura 8B).

Quanto à área corbícula das abelhas do meliponário Alvorecer, não foi detectado efeito significativo na interação tratamento x tempo ( $\chi^2= 19.24$ ;  $df= 12$ ;  $P > 0.08$ ) e nem mesmo para o efeito isolado do tratamento ( $\chi^2= 3.57$ ;  $df= 3$ ;  $P > 0.31$ ). Apenas o tempo teve influência ( $\chi^2= 30.10$ ;  $df= 4$ ;  $P < 0.001$ ) resultando em redução na área da corbícula das abelhas aos 120 e 145 dias (Figura 8C).

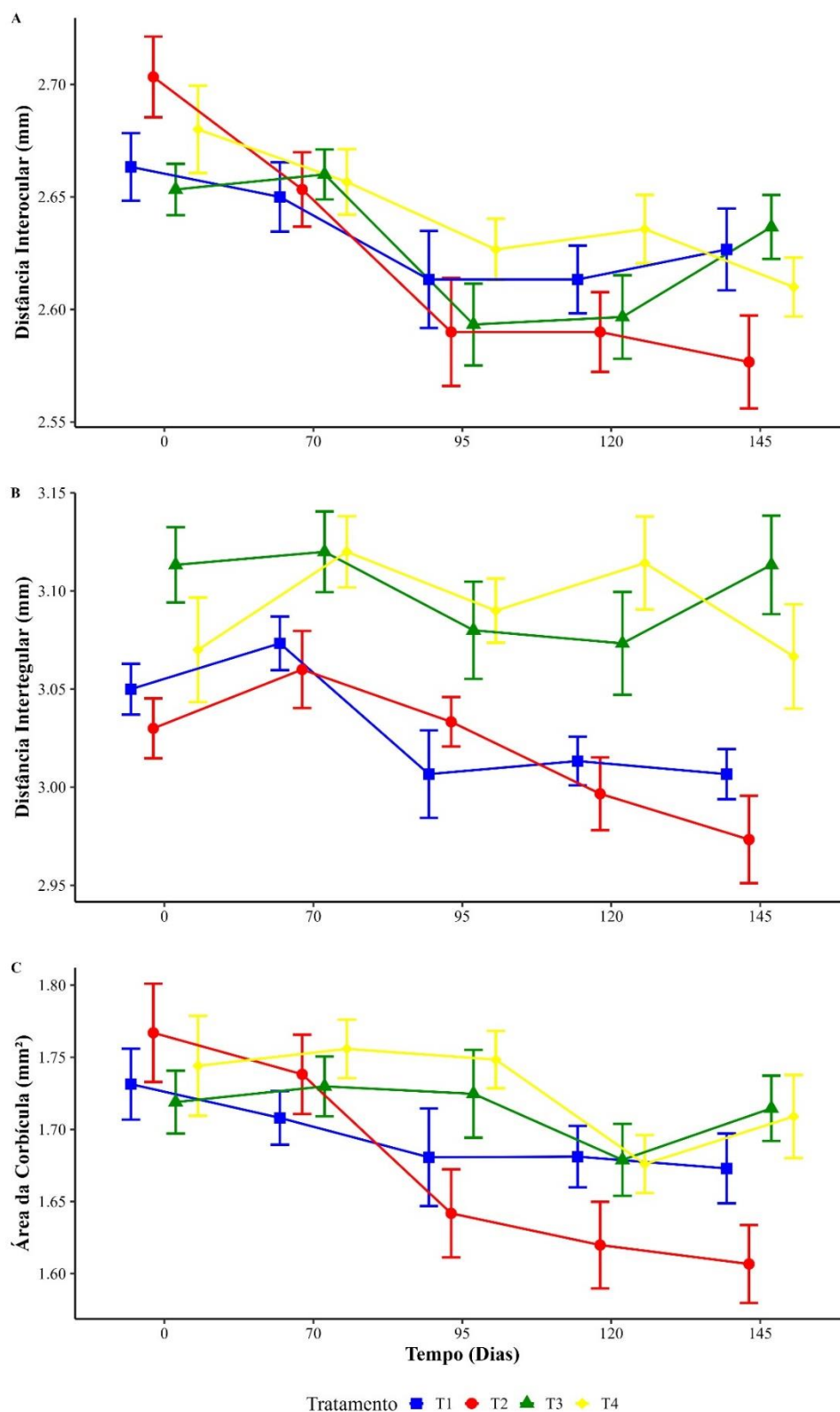


Figura 8: Efeito das alimentações suplementares sobre os caracteres morfológicos de operárias de *Melipona seminigra merrillae* ao longo do tempo no meliponário Alvorecer: A – Distância interocular; B – Distância intertegular e C – Área da corbícula.

## Discussão

Nos himenópteros o tamanho corporal dos indivíduos pode ser afetado pelos recursos alimentares que estes consomem, portanto, a disponibilidade de alimentos em termos de quantidade e qualidade pode influenciar o crescimento das larvas, o que, por sua vez, pode influenciar no tamanho dos indivíduos adultos (Roulston e Cane 2000, 2002, Peruquetti 2003, Quezada-Euán et al. 2011).

A partir das análises das estruturas avaliadas no presente estudo, constatou-se que o tempo de exposição do alimento suplementar levou à redução no tamanho das asas (tamanho do centróide) das abelhas suplementadas com o tratamento T4–Aminomix. Assim como ocorreu redução no tamanho das asas e na distância intertegular das abelhas do tratamento Controle (T1–Xarope).

Castagnino et al. (2006, 2022) já haviam mencionado que os supostos benefícios atribuídos aos complexos aminoácidos-vitamínicos poderiam estar relacionados ao xarope no qual eles são diluídos, além de potencialmente resultarem em efeitos inferiores em comparação com uma alimentação suplementar baseada apenas em xarope. Embora as abelhas alimentadas com o suplemento aminoácido-vitamínico (T4–Aminomix) tenham apresentado uma redução pontual no tamanho da asa (95 dias de alimentação), observou-se que ao final do experimento, o tamanho da asa não apresentou diferença em relação à condição inicial e aos tratamentos T2–Pólen e T3–Soja, apenas as abelhas do tratamento Controle (T1–Xarope) tiveram notável redução no tamanho asa nos tempos finais do experimento (120 e 145 dias).

A variação natural no tamanho das abelhas ao longo do ano é um fenômeno recorrente influenciado pela disponibilidade de pólen na natureza (Quezada-Euán et al. 2011). Sendo assim, uma menor disponibilidade de alimento pode levar a uma diminuição no tamanho do tórax das abelhas, da mesma forma que uma maior disponibilidade de alimento pode resultar em um aumento no tamanho do tórax (Veiga et al. 2012).

É importante frisar que na região de Manaus a alta florada geralmente ocorre no período de agosto a outubro de cada ano, e o mês de dezembro marca o início da baixa floração (Carvalho-Zilse et al. 2012). Considerando esta estimativa de florada, o início do decaimento da florada (mês de dezembro) correspondeu ao tempo de 120 dias de alimentação neste estudo; assim, a diminuição dos recursos alimentares disponíveis na natureza juntamente com a alimentação suplementar fornecida podem ter contribuído para a redução do tamanho das

abelhas do tratamento T1–Xarope, único tratamento sem complementação proteica ou vitamínica.

Gurgel (2014) observou em seu estudo com operárias de *Melipona seminigra* Friese, 1903 que independentemente de estas serem suplementadas com xarope, Vitagold® ou pólen da própria espécie, ao término de seu experimento, houve um aumento na largura do tórax dessas abelhas. É importante destacar que ele conduziu o experimento entre março a outubro, período que abrange tanto a baixa floração (março e maio) quanto a alta floração (agosto a outubro) na região de Manaus (Carvalho-Zilse et al. 2012).

Outra ponderação a ser considerada quanto à redução do tamanho das abelhas sob tratamento Controle (T1–Xarope) é a constatação, feita por Quezada-Euán et al. (2011) em *Nannotrigona perilampoides* (Cresson, 1878), em que as larvas que recebem alimento larval com maior proporção de açúcar do que proteína apresentam menor tamanho corporal. Os referidos autores propõem que o menor tamanho do corpo poderia estar associado à menor entrada de pólen na colônia ou à diminuição das reservas de pólen, fazendo com que as abelhas operárias utilizassem uma maior quantidade de néctar na preparação do alimento larval. Portanto, é possível que as abelhas submetidas ao tratamento T1–Xarope tenham experimentado esse fenômeno ao receberem semanalmente apenas xarope de sacarose como suplemento.

Além destas possibilidades é preciso registrar que houve multiplicação induzida das colônias sob experimentação em ambos os meliponários. Sabe-se que durante este processo, além das abelhas adultas, tanto os discos de cria quanto os recursos alimentares são divididos com a colônia-filha que será formada. Tal fato, reduz drástica e repentinamente a disponibilidade temporal de alimento para as colônias mãe e filha, uma vez que a multiplicação induzida implica em distribuir as alças ninho e sobreninho, nas quais estão armazenados potes com mel e pólen, entre as colônias mãe e filha. Isto requer um período de cerca de 15 a 30 dias de recuperação das colônias, dependendo da época do ano, para a condição original de fluxo de produção e armazenamento de alimento. Portanto, as abelhas certamente incluíram boa parte dos alimentos suplementares no oferecimento aos imaturos.

A assimetria flutuante (AF) da forma da asa não foi afetada de maneira significativa, possivelmente devido a restrições evolutivas mais acentuadas em relação à variação da forma, a qual está intimamente ligada a questões aerodinâmica da asa, como já mencionado por Nunes et al. (2013).

Esperava-se que as colônias que receberam alimentação suplementar enriquecida com proteína (T2-Pólen, T3-Soja e T4-Aminomix) produzissem abelhas de maior tamanho em relação ao tratamento T1-Xarope, pois segundo Quezada-Euán et al. (2011) é esperado que larvas que recebem maior teor de proteínas desenvolvam-se em operárias de maior tamanho. De fato, foi observado que nas abelhas criadas no meliponário GPA-INPA e suplementadas com os tratamentos T1-Xarope e T4-Aminomix as distâncias intertegular e interocular reduziram ao longo do tempo, respectivamente. Porém, diferentes efeitos na morfometria foram observados nas abelhas submetidas a diferentes alimentações suplementares no meliponário Alvorecer, onde a distância intertegular das abelhas suplementadas com os tratamentos T1-Xarope e T2-Pólen foram menores em comparação as que receberam o tratamento T3-Soja, assim foi constatado que as abelhas suplementadas com T2-Pólen foram menores em comparação as abelhas do T4-Aminomix

Devido ao tamanho corporal das abelhas ser afetado pela quantidade e qualidade do alimento recebido durante o estágio larval (Roulston e Cane 2000), a diversidade taxonômica do pólen e a disponibilidade de plantas que produzam pólen nutricionalmente balanceado são fatores que influenciam o desenvolvimento das abelhas (Filipiak et al. 2017). Portanto, a composição floral do ambiente no qual o meliponário está instalado deve ser considerada, uma vez que este deve oferecer fontes de alimentos de qualidade para garantir o bom desenvolvimento das abelhas (Filipiak 2018). Como as abelhas tiveram livre acesso ao pasto meliponícola natural (pastagem que fornece recursos às abelhas) no entorno dos meliponários este pode ter influenciado para os resultados observados.

É conhecido que, durante o período de menor disponibilidade de alimento na natureza, as abelhas “sem-ferrão” produzam indivíduos de menor tamanho, independentemente de haver grandes estoques de alimento (Quezada-Euán et al. 2011, Veiga et al. 2012). Embora as abelhas operárias maiores aumentem a capacidade reprodutiva da colônia, devido à sua maior área de forrageamento e maior coleta de recursos em comparação com as abelhas operárias menores (Goulson et al. 2002), essa característica só se torna mais vantajosa quando há maior disponibilidade de recursos, uma vez que estas abelhas exigem maior consumo de alimento para seu desenvolvimento (Quezada-Euán et al. 2011). Por outro lado, as abelhas operárias menores têm maior longevidade e são capazes de sobreviver em período de menor disponibilidade de recursos devido às suas menores necessidades energéticas (Couvillon e Dornhaus 2010, Quezada-Euán et al. 2011). Portanto, parece menos vantajoso ter abelhas maiores durante períodos de menor disponibilidade de alimento, já que poderá ser necessário



um maior investimento financeiro para garantir uma maior disponibilidade de suplementação para manter o tamanho ao longo do tempo.

Ao contrário da asa, que apresenta alta herdabilidade, o tamanho de outras estruturas corporais das abelhas tem baixa herdabilidade e podem facilmente variar de acordo com a alimentação e outras condições ambientais no entorno da colônia (Peruquetti 2003, Souza et al. 2018). Logo, as variações ambientais de cada meliponário podem ter tido efeito sobre o tamanho das abelhas alimentadas com os diferentes suplementos. Assim sendo, é possível considerar que o resultado observado no meliponário Alvorecer possa ser uma combinação de influências advindas tanto do teor de proteínas das alimentações suplementares, quanto da disponibilidade de alimento no entorno do meliponário, a qual sofre flutuações ao longo do ano, bem como de fatores abióticos.

Embora o tamanho corporal das abelhas esteja diretamente relacionado com a quantidade e qualidade de alimento recebido (Roulston e Cane 2002) e que o teor de proteína na soja fermentada (12.35%) (Teixeira et al. 2019) seja menor quando comparado ao teor de proteína presente no pólen de *M. seminigra* (33.38 a 47.07 %) (Rebelo et al. 2016, 2021) observamos em nosso estudo que no meliponário Alvorecer as abelhas suplementadas com T2-Pólen apresentaram menor distância intertegular em comparação com aquelas suplementadas com T3-Soja e T4-Aminomix. Um fato que pode ter levado as diferenças observadas, é que as colônias alimentadas com T3-Soja e T4-Aminomix inicialmente já apresentavam abelhas com distância intertegular maior em relação as alimentadas com T2-Pólen antes do início das alimentações.

Além disso, as variações na composição dos alimentos suplementares, bem como as diferenças que possam existir na composição do ambiente onde as abelhas coletam o pólen (pasto meliponícola), poderiam explicar a diferença no tamanho. Uma vez que a glicina, serina e prolina são aminoácidos conhecidos por estimular o crescimento das abelhas, e seus efeitos podem depender de fatores, como quantidade e concentrações relativas desses aminoácidos nos alimentos (De Groot 1953).

Estudos sobre o uso de suplementos proteicos à base de extrato de soja na alimentação de abelhas “sem-ferrão” também observaram um aumento nas estruturas das abelhas suplementadas. Por exemplo, Costa e Venturieri (2009) constataram que o tamanho dos oócitos das abelhas *Melipona flavolineata* Friese, 1900 suplementadas com soja foi maior do que aquelas alimentadas naturalmente, enquanto o tamanho das glândulas hipofaríngeas foi idêntico. Por sua vez Teixeira et al. (2019) observaram que abelhas *M. flavolineata*

suplementadas com soja apresentaram um tamanho corporal maior em comparação aquelas que consumiram alimentação natural, exceto *Melipona fasciculata* Smith, 1858 que apresentaram uma redução no peso ao nascer (Pires 2009).

Os efeitos observados em laboratório nem sempre são os mesmos encontrados em campo, uma vez que a diversidade ambiental exerce influência nos resultados. Sendo assim, é necessário realizar mais estudos, envolvendo outras espécies de abelhas “sem-ferrão”, a fim de entender a dinâmica do comportamento das abelhas, assim como avaliar a composição das alimentações suplementares para que se possa melhor compreender os efeitos das diferentes alimentações suplementares. Também devemos levar em consideração o ambiente no entorno de diferentes meliponários, para que possamos obter resultados mais fiéis à realidade dos meliponicultores e, assim, implementar de forma segura as alimentações suplementares substitutas ao pólen em período de menor disponibilidade na natureza.

## **Conclusão**

A alimentação suplementar teve efeito sobre os caracteres morfológicos de operárias de *Melipona seminigra merrillae* em ambos os meliponários. No meliponário GPA-INPA, houve a redução da distância interocular das abelhas ao longo do tempo de oferta da alimentação com aminomix, e no meliponário Alvorecer, verificou-se a redução da distância intertegular das abelhas suplementadas com pólen da própria espécie.

## **Agradecimentos**

Os autores agradecem o apoio logístico do PPG-ENTO e GPA-INPA e ao Sr. Francisco Itamar Gomes de Souza pela disponibilidade das colônias do meliponário Alvorecer. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 e bolsa de Mestrado CAPES à J.C. Campelo além do apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM) – POSGRAD.

## Referências Bibliográficas

- Alvares, C.A.; Stape, J.L.; Sentelhas, P.C.; Gonçalves, J.L. de M.; Sparovek, G. 2013. Köppen's climate classification map for Brazil. *Meteorologische Zeitschrift* 22: 711–728.
- Araújo, E.D. de. 2010. Aplicações da morfometria geométrica em estudos populacionais e evolutivos de abelhas eussociais. *Anais do IX Encontro sobre Abelhas*: 230–237.
- Barbiéri, C.; Franco, T.M. 2020. Modelo teórico para análise interdisciplinar de atividades humanas: A meliponicultura como atividade promotora da sustentabilidade. *Revista Ambiente & Sociedade* 23: 1–20.
- Bookstein, F.L. 1992. *Morphometric Tools for Landmark Data: Geometry and Biology*. Cambridge University Press, Cambridge, 456p.
- Brodtschneider, R.; Crailsheim, K. 2010. Nutrition and health in honey bees. *Apidologie* 41: 278–294.
- Brooks, M., E.; Kristensen, K.; Benthem, K., J. van; Magnusson, A.; Berg, C., W.; Nielsen, A.; et al. 2017. glmmTMB Balances Speed and Flexibility Among Packages for Zero-inflated Generalized Linear Mixed Modeling. *The R Journal* 9: 378–400.
- Bueno, C.R.; Ferreira, C.A.C.; Rabelo, A. 2013. *Flora da Amazônia no Bosque da Ciência*. Manaus, AM, 88p.
- Carneiro, L. da S.; Aguiar, C.M.L.; Aguiar, W.M. de. 2017. Variações morfométricas em abelhas Euglossini (Hymenoptera: Apidae) em resposta à mudança fitofisionômica. *Anais dos Seminários de Iniciação Científica*: 1–4.
- Carvalho, C.A.L. de; Alves, R.M. de O.; Souza, B. de A. 2003. *Criação de abelhas sem ferrão: aspectos práticos*. In: *Série Meliponicultura*. Universidade Federal da Bahia/ SEAGRI - BA, 42p.
- Carvalho-Zilse, G.; Nunes-Silva, C. 2012. Threats to the stingless bees in the Brazilian Amazon: How to deal with scarce biological data and an increasing rate of destruction. *Bees: Biology, Threats and Colonies*: 147–168.
- Carvalho-Zilse, G.A.; Silva, C.G.N. da; Alves, R.M. de O.; Souza, B. de A.; Waldschmidt, A.M.; Sodré, G. da S.; et al. 2011. *Meliponicultura: perguntas mais frequentes sobre as abelhas sem ferrão*. In: *Série Meliponicultura*. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas - BA, 41p.
- Carvalho-Zilse, G.A.; Vilas-Boas, H.C.; Costa, K.B. da; Silva, C.G.N. da; Souza, M.T. de; Fernandes, R.S. 2012. *Meliponicultura na Amazônia*. Projeto Fronteira, Manaus - AM, 50p.
- Castagnino, G.L.; Arboitte, M.Z.; Lengler, S.; Garcia, G.G.; Menezes, L.F.G. de. 2006. Desenvolvimento de núcleos de *Apis mellifera* alimentados com suplemento aminoácido vitamínico, Promotor L®. *Ciência Rural* 36: 685–688.
- Castagnino, G.L.B.; Simón, M.T.C.D.; Meana, A.; Pinto, L.F.B. 2022. Development of colonies of urucu stingless bees fed a vitamin-amino acid supplement. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal* 23: e202200032022.
- Coda, J.A.; Martínez, J.J.; Steinmann, A.R.; Priotto, J.; Gomez, M.D. 2017. Fluctuating asymmetry as an indicator of environmental stress in small mammals. *Mastozoología Neotropical* 24: 313–321.
- Conselho Nacional do Meio Ambiente. 2020. *Resolução Nº 496, de 19 de Agosto de 2020*. 3p.
- Costa, L.; Venturieri, G.C. 2009. Diet impacts on *Melipona flavolineata* workers (Apidae, Meliponini). *Journal of Apicultural Research and Bee World* 48: 38–45.
- Couvillon, M.J.; Dornhaus, A. 2010. Small worker bumble bees (*Bombus impatiens*) are hardier against starvation than their larger sisters. *Insectes Sociaux* 57: 193–197.
- Crawley, M.J. 2013. *The R Book*. 2ª ed. John Wiley & Sons, Ltd, United Kingdom, 975p.

- De Groot, A.P. 1953. *Protein and amino acid requirements of the honeybee (Apis Mellifica L.)*. Tese (Doutorado), Universiteit te Utrecht, Den Haag, 108p.
- Dias, V.H.P.; Filgueira, M.A.; Oliveira, F.L. de; Dias, A.M.; Costa, E.M. da. 2008. Alimentação artificial à base de mel e suas implicações no desenvolvimento de famílias de abelhas Jandaíras (*Melipona subnitida* Ducke) em Mossoró - RN. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável Grupo Verde de Agricultura Alternativa* 3: 40–44.
- Fernandes-da-Silva, P.G.; Zucoloto, F.S. 1990. A Semi-Artificial Diet for *Scaptotrigona Depilis* Moure (Hymenoptera, Apidae). *Journal of Apicultural Research* 29: 233–235.
- Filipiak, M. 2018. A Better Understanding of Bee Nutritional Ecology Is Needed to Optimize Conservation Strategies for Wild Bees—The Application of Ecological Stoichiometry. *Insects* 9: 1–13.
- Filipiak, M.; Kuszewska, K.; Asselman, M.; Denisow, B.; Stawiarz, E.; Woyciechowski, M.; et al. 2017. Ecological stoichiometry of the honeybee: Pollen diversity and adequate species composition are needed to mitigate limitations imposed on the growth and development of bees by pollen quality. *PLoS ONE* 12: e0183236.
- Goulson, D.; Peat, J.; Stout, J.C.; Tucker, J.; Darvill, B.; Derwent, L.C.; et al. 2002. Can alloethism in workers of the bumblebee, *Bombus terrestris*, be explained in terms of foraging efficiency? *Animal Behaviour* 64: 123–130.
- Graham, J.H. 2021. Fluctuating Asymmetry and Developmental Instability, a Guide to Best Practice. *Symmetry* 13: 9.
- Gurgel, E.G.G. 2014. *Efeitos da alimentação suplementar na progênie de Melipona interrupta Latreille, 1811 e M. seminigra Friese, 1903*. Dissertação (Mestrado), Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA, Manaus, AM, 70p.
- Hartig, F. 2022. DHARMA: Residual Diagnostics for Hierarchical (Multi-Level / Mixed) Regression Models. *CRAN*: 1–65.
- INMET, I.N. de M.I.-. 2022. *Estação: MANAUS A101*. (<https://tempo.inmet.gov.br/TabelaEstacoes/A101>). Accessed on 09 Feb. 2023.
- Keller, I.; Fluri, P.; Imdorf, A. 2005. Pollen nutrition and colony development in honey bees: part 1. *Bee World* 86: 3–10.
- Kerr, W.E.; Nascimemo, V.A.; Carvalho, G.A. 1994. Há salvação para os meliponíneos? *Anais do Encontro Sobre Abelhas*: 60–65.
- Kerr, W.E.; Carvalho, G.A.; Silva, A.C.D. 2001. Aspectos pouco mencionados da biodiversidade amazônica. *Parcerias Estratégicas* 12: 20–41.
- Klingenberg, C.P. 2002. Morphometrics and the role of the phenotype in studies of the evolution of developmental mechanisms. *Gene* 287: 3–10.
- Klingenberg, C.P. 2011. MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular Ecology Resources* 11: 353–357.
- Klingenberg, C.P.; McIntyre, G.S. 1998. Geometric Morphometrics of Developmental Instability: Analyzing Patterns of Fluctuating Asymmetry with Procrustes Methods. *Evolution* 52: 1363–1375.
- Lenth, R.V.; Bolker, B.; Buerkner, P.; Giné-Vázquez, I.; Herve, M.; Jung, M.; et al. 2023. emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means. *CRAN*: 101.
- Michener, C.D. 2007. *The bees of the world*. 2nd ed ed. Johns Hopkins University Press, Baltimore, 953p.
- Moraes, D.A. de. 2003. A morfometria geométrica e a “revolução na morfometria” localizando e visualizando mudanças na forma dos organismos. *BIOLETIM* 3: 1–6.
- Nogueira, D.S. 2023. Overview of Stingless Bees in Brazil (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). *EntomoBrasilis* 16: 1–13.

- Nogueira-Neto, P. 1997. *Vida e Criação de Abelhas Indígenas Sem Ferrão*. Editora Nogueirapis, São Paulo, 445p.
- Nunes, L.; Passos, G.; Carvalho, C.; Araújo, E. 2013. Size and shape in *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lepeletier, 1836 (Hymenoptera; Meliponini). *Brazilian Journal of Biology* 73: 887–893.
- Nunes, R.A. da S. 2008. *Caracterização do desenvolvimento embrionário e pós-embrionário das abelhas Melipona seminigra e Melipona compressipes (Hymenoptera, Apidae)*. Monografia (Graduação), Universidade Federal do Amazonas, Manaus - AM, 37p.
- Oliveira, F.F. de; Richers, B.T.T.; Silva, J.R. da; Farias, R.C.; Matos, T.A. de L. 2013. *Guia ilustrado das abelhas “sem-ferrão” das Reservas Amanã e Mamirauá, Brasil (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)*. Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá IDSM, Tefé - AM, 267p.
- Oliveira, M.A. de; Aidar, D.S. 2006. Efeito da alimentação artificial no desenvolvimento de colônias de *Melipona seminigra merrillae* (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). *Mensagem Doce Online* 89. Disponível em <https://www.apacame.org.br/mensagemdoce/89/artigo3.htm>. Acessado em 11/01/2023.
- Palmer, A.R. 1994. Fluctuating asymmetry analyses: a primer. In: Markow, T.A. (Ed.), *Developmental Instability: Its Origins and Evolutionary Implications*, Vol. 2, Springer Netherlands, Dordrecht, p.335–364.
- Palmer, A.R.; Strobeck, C. 1986. Fluctuating Asymmetry: Measurement, Analysis, Patterns. *Annual Review of Ecology and Systematics* 17: 391–421.
- Parsons, P.A. 1992. Fluctuating asymmetry: a biological monitor of environmental and genomic stress. *Heredity* 68: 361–364.
- Peruquetti, R.C. 2003. Variação do tamanho corporal de machos de *Eulaema nigrata* Lepeletier (Hymenoptera, Apidae, Euglossini). Resposta materna à flutuação de recursos? *Revista Brasileira de Zoologia* 20: 207–212.
- Pinheiro, E.B.; Maracajá, P.B.; Mesquita, L.X. de; Soto-Blanco, B.; Filho, R.B. de O. 2009. Efeito de diferentes alimentos sobre a longevidade de operárias de abelhas Jandaíra em ambiente controlado. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável* 4: 50–56.
- Pires, N.V.C.R. 2009. *Efeitos da alimentação artificial protéica em colônias de uruçucinzenta (Melipona fasciculata, Smith 1858) (Apidae, Meliponini) e adaptação em casa-de-vegetação*. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Pará, Belém - PA, 69p.
- Pires, N.V.C.R.; Venturieri, G.C.; Contrera, F.A.L. 2009. *Elaboração de uma dieta artificial protéica para Melipona fasciculata*. In: *Documentos*. 1st ed. Embrapa Amazônia Oriental, Belém - PA, 23p.
- Quezada-Euán, J.J.G.; López-Velasco, A.; Pérez-Balam, J.; Moo-Valle, H.; Velazquez-Madrazo, A.; Paxton, R.J. 2011. Body size differs in workers produced across time and is associated with variation in the quantity and composition of larval food in *Nannotrigona perilampoides* (Hymenoptera, Meliponini). *Insects Sociaux* 58: 31–38.
- R Core Team. 2023. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 1596p.
- Rebelo, K.S.; Ferreira, A.G.; Carvalho-Zilse, G.A. 2016. Physicochemical characteristics of pollen collected by Amazonian stingless bees. *Ciência Rural* 46: 927–932.
- Rebelo, K.S.; Cazarin, C.B.; Iglesias, A.H.; Stahl, M.A.; Kristiansen, K.; Carvalho-Zilse, G.A.; et al. 2021. Nutritional composition and bioactive compounds of *Melipona seminigra* pot-pollen from Amazonas, Brazil. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 101: 4907–4915.

- Rebouças, J.S.; Serra, L.S.; Santana, J. da C.; Machado, C.S.; Carvalho, C.A.L. de. 2022. Abelhas sociais (Meliponini) e sua participação na promoção da Agroecologia. In: *Pesquisas agrárias e ambientais*, XII. 1st ed. Pantanal Editora, MT: Nova Xavantina, p.41–57.
- Rohlf, F.J. 2021a. *tpsDig, digitize landmarks and outlines. Versão 2.32*. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook. Disponível em <https://sbmorphometrics.org/soft-dataacq.html>. Acessado em 07/03/2024
- Rohlf, J.F. 2021b. *tpsRelw, Relative warps analysis. Versão 1.75*. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook. Disponível em <https://www.sbmorphometrics.org/soft-tps.html>. Acessado em 07/03/2024.
- Rohlf, J.F. 2023. *tpsUtil, tps file utility program. Versão 1.83*. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook. Disponível em <https://www.sbmorphometrics.org/soft-utility.html>. Acessado em 07/03/2024.
- Rohlf, F.J.; Marcus, L.F. 1993. A revolution in morphometrics. *TREE* 8: 129–132.
- Roulston, T.H.; Cane, J.H. 2000. The Effect of Diet Breadth and Nesting Ecology on Body Size Variation in Bees (Apiformes). *Journal of the Kansas Entomological Society* 73: 129–142.
- Roulston, T.H.; Cane, J.H. 2002. The effect of pollen protein concentration on body size in the sweat bee *Lasioglossum zephyrum* (Hymenoptera: Apiformes). *Evolutionary Ecology* 16: 49–65.
- Sant’ana, R. da S.; Carvalho, C.A.L. de; Oda-Souza, M.; Souza, B. de A.; Dias, F. de S. 2020. Characterization of honey of stingless bees from the Brazilian semi-arid region. *Food Chemistry* 327: 127041.
- SEMMAS, S.M. de M.A. e S.-. 2016. *Relatório da SEMMAS 2016*. Prefeitura Municipal de Manaus, Manaus, AM, 70p.
- Somerville, D. 2000. Honey bee nutrition and supplementary feeding. *NSW Agriculture*: 1–8.
- Souza, A.V.; Nunes, L.A.; Machado, C.S.; Sodr e, G. da S.; Carvalho, C.A.L. de. 2018. Sexual dimorphism and morphometric characterization of *Centris tarsata* Smith, 1874, Hymenoptera: Apidae in different environments. *Acta Agronômica* 67: 438–445.
- Souza, B.; Roubik, D.; Barth, O.; Heard, T.; Enr iquez, E.; Carvalho, C.; et al. 2006. Composition of stingless bee honey: setting quality standards. *Interciencia* 31: 867–875.
- Teixeira, J.; Queiroz, A.C.; Veiga, J.; Leão, K.; Contrera, F.; Domingues, F.; et al. 2019. Soy extract as protein replacement to feed *Melipona flavolineata* Friese (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). *Journal of Apicultural Research* 59: 104–114.
- Veiga, J.C.; Menezes, C.; Venturieri, G.C.; Contrera, F.A.L. 2012. The bigger, the smaller: relationship between body size and food stores in the stingless bee *Melipona flavolineata*. *Apidologie* 44: 324–333.
- Venturieri, G.C. 2008. *Criação de abelhas indígenas sem ferrão*. 2ª ed. Embrapa Amazônia Oriental, Belém - PA, 60p.
- Venturieri, G.C.; Alves, D. de A.; Villas-Bôas, erônimo K.; Carvalho, C.A.L. de; Menezes, C.; Vollet-Neto, A.; et al. 2012. Meliponicultura no Brasil: Situação Atual e Perspectivas Futuras para o Uso na Polinização Agrícola. In: Imperatriz-Fonseca, V.L.; Canhos, D.A.L.; Alves, D. de A.; Saraiva, A.M. (Eds.), *Polinizadores no Brasil: contribuição e perspectivas para a biodiversidade, uso sustentável, conservação e serviços ambientais*, Editora da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, p.213–236.

#### 4 Conclusões Gerais

As alimentações suplementares aqui avaliadas (pólen da própria espécie, soja fermentada e aminomix) não tiveram efeitos significativos sobre o tamanho populacional estimado de *Melipona seminigra merrillae*, sendo que estes substitutos para o pólen não diferiram comparativamente ao uso do xarope de água e açúcar. No entanto, teve efeito sobre os caracteres morfológicos de operárias de *Melipona seminigra merrillae* em ambos os meliponários. No meliponário GPA-INPA, houve a redução da distância interocular das abelhas ao longo do tempo de oferta da alimentação com aminomix, e no meliponário Alvorecer, verificou-se a redução da distância intertegular das abelhas suplementadas com pólen da própria espécie.

## Referências bibliográficas

- Aidar, D.S. 1996. *A mandaçaia: biologia de abelhas, manejo e multiplicação artificial de colônias de **Melipona quadrifasciata** Lep, (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae)*. Sociedade Brasileira de Genética, Ribeirão Preto, 104p.
- Araújo, E.D. de. 2010. Aplicações da morfometria geométrica em estudos populacionais e evolutivos de abelhas eussociais. *Anais do IX Encontro sobre Abelhas*: 230–237.
- Ascher, J.S.; Pickering, J. 2020. *Bee species guide and world checklist (Hymenoptera: Apoidea: Anthophila)*. Discover Life. ([https://www.discoverlife.org/mp/20q?guide=Apoidea\\_species&flags=HAS:](https://www.discoverlife.org/mp/20q?guide=Apoidea_species&flags=HAS:)). Accessed on 10 Jan. 2023.
- Barbiéri, C.; Franco, T.M. 2020. Modelo teórico para análise interdisciplinar de atividades humanas: A meliponicultura como atividade promotora da sustentabilidade. *Revista Ambiente & Sociedade* 23: 1–20.
- Biesmeijer, J.C.; Tóth, E. 1998. Individual foraging, activity level and longevity in the stingless bee *Melipona beecheii* in Costa Rica (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). *Insectes Sociaux* 45: 427–443.
- Brodschneider, R.; Crailsheim, K. 2010. Nutrition and health in honey bees. *Apidologie* 41: 278–294.
- Bruening, H. 2001. *Abelha Jandaíra*. 2ª ed. Fundação Guimarães Duque; Fundação Vingt-Un Rosado, 148p.
- Camargo, J.M.F.; Pedro, S.R.M.; Melo, G.A.R. 2023. Meliponini Lapeletier, 1836. In: Moure, J.S.; Urban, D.; Melo, G.A.R. (Eds.), *Catálogo de Abelhas (Hymenoptera, Apoidea) Da Região Neotropical - Versão Online*. Disponível em <http://www.moure.cria.org.br/catalogue>. Acessado em 08/02/2024.
- Carneiro, L. da S.; Aguiar, C.M.L.; Aguiar, W.M. de. 2017. Variações morfológicas em abelhas Euglossini (Hymenoptera: Apidae) em resposta à mudança fitofisionômica. *Anais dos Seminários de Iniciação Científica*: 1–4.
- Carvalho, C.A.L. de; Alves, R.M. de O.; Souza, B. de A. 2003. *Criação de abelhas sem ferrão: aspectos práticos*. In: Série Meliponicultura. Universidade Federal da Bahia/ SEAGRI - BA, 42p.
- Carvalho-Zilse, G.; Nunes-Silva, C. 2012. Threats to the stingless bees in the Brazilian Amazon: How to deal with scarce biological data and an increasing rate of destruction. *Bees: Biology, Threats and Colonies*: 147–168.
- Carvalho-Zilse, G.A.; Silva, C.G.N. da; Alves, R.M. de O.; Souza, B. de A.; Waldschmidt, A.M.; Sodré, G. da S.; et al. 2011. *Meliponicultura: perguntas mais frequentes sobre as abelhas sem ferrão*. In: Série Meliponicultura. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas - BA, 41p.
- Carvalho-Zilse, G.A.; Vilas-Boas, H.C.; Costa, K.B. da; Silva, C.G.N. da; Souza, M.T. de; Fernandes, R.S. 2012. *Meliponicultura na Amazônia*. Projeto Fronteira, Manaus - AM, 50p.
- Castagnino, G.L.B.; Simón, M.T.C.D.; Meana, A.; Pinto, L.F.B. 2022. Development of colonies of urucu stingless bees fed a vitamin-amino acid supplement. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal* 23: e202200032022.
- Coda, J.A.; Martínez, J.J.; Steinmann, A.R.; Priotto, J.; Gomez, M.D. 2017. Fluctuating asymmetry as an indicator of environmental stress in small mammals. *Mastozoología Neotropical* 24: 313–321.
- Coletto-Silva, A. 2005. Captura de enxames de abelhas sem ferrão (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae) sem destruição de árvores. *Acta Amazonica* 35: 383–388.
- Conselho Nacional do Meio Ambiente. 2020. *Resolução Nº 496, de 19 de Agosto de 2020*. 3p.



- Contrera, F.A.L.; Menezes, C.; Venturieri, G.C. 2011. New horizons on stingless beekeeping (Apidae, Meliponini). *Revista Brasileira de Zootecnia* 40: 48–51.
- Costa, L.; Venturieri, G.C. 2009. Diet impacts on *Melipona flavolineata* workers (Apidae, Meliponini). *Journal of Apicultural Research and Bee World* 48: 38–45.
- Couvillon, M.J.; Dornhaus, A. 2010. Small worker bumble bees (*Bombus impatiens*) are hardier against starvation than their larger sisters. *Insectes Sociaux* 57: 193–197.
- Dias, V.H.P.; Filgueira, M.A.; Oliveira, F.L. de; Dias, A.M.; Costa, E.M. da. 2008. Alimentação artificial à base de mel e suas implicações no desenvolvimento de famílias de abelhas Jandaíras (*Melipona subnitida* Ducke) em Mossoró - RN. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável Grupo Verde de Agricultura Alternativa* 3: 40–44.
- Evangelista-Rodrigues, A.; Góis, G.C.; Silva, C.M. da; Souza, D.L. de; Souza, D.N.; Silva, P.C. da C.; et al. 2008. Desenvolvimento produtivo de colmeias de abelhas *Melipona scutellaris*. *Biotemas* 21: 59–64.
- Fernandes-da-Silva, P.G.; Zucoloto, F.S. 1990. A Semi-Artificial Diet for *Scaptotrigona Depilis* Moure (Hymenoptera, Apidae). *Journal of Apicultural Research* 29: 233–235.
- Goulson, D.; Peat, J.; Stout, J.C.; Tucker, J.; Darvill, B.; Derwent, L.C.; et al. 2002. Can alloethism in workers of the bumblebee, *Bombus terrestris*, be explained in terms of foraging efficiency? *Animal Behaviour* 64: 123–130.
- Graham, J.H. 2021. Fluctuating Asymmetry and Developmental Instability, a Guide to Best Practice. *Symmetry* 13: 9.
- Gurgel, E.G.G. 2014. *Efeitos da alimentação suplementar na progênie de Melipona interrupta Latreille, 1811 e M. seminigra Friese, 1903*. Dissertação (Mestrado), Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA, Manaus, AM, 70p.
- Keller, I.; Fluri, P.; Imdorf, A. 2005. Pollen nutrition and colony development in honey bees: part 1. *Bee World* 86: 3–10.
- Kerr, W.E. 1948. Estudos sobre o gênero *Melipona*. *Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz* 5: 181–276.
- Kerr, W.E.; Nascimento, V.A.; Carvalho, G.A. 1994. Há salvação para os meliponíneos? *Anais do Encontro Sobre Abelhas*: 60–65.
- Kerr, W.E.; Carvalho, G.A.; Silva, A.C.D. 2001. Aspectos pouco mencionados da biodiversidade amazônica. *Parcerias Estratégicas* 12: 20–41.
- Kerr, W.E.; Carvalho, G.A.; Nascimento, V.A.; Bego, L.R.; Alves, R.M. de O.; Martins, M.A.S.; et al. 1996. *Abelha Uruçu: Biologia, Manejo e Conservação*. 1st ed. Fundação Acangaú, Belo Horizonte, MG, 154p.
- Klingenberg, C.P. 2002. Morphometrics and the role of the phenotype in studies of the evolution of developmental mechanisms. *Gene* 287: 3–10.
- Landim, C. da C. 2009. Desenvolvimento Pós-Embrionário: A Larva. In: *Abelhas: Morfologia e Função de Sistemas*, SciELO – Editora UNESP, p.109–142.
- Maia, U.M.; Jaffe, R.; Carvalho, A.T.; Imperatriz-Fonseca, V.L. 2015. Meliponicultura no Rio Grande do Norte. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária* 37: 327–333.
- Marques, M.D. 2024. Anatomia interna e fisiologia. In: Rafael, J.A.; Melo, G.A.R. de; Carvalho, C.J.B. de; Casari, S.A.; Constantino, R. (Eds.), *Insetos do Brasil*, 2º ed. Editora INPA, p.12–56.
- Michener, C.D. 2007. *The bees of the world*. 2nd ed. Johns Hopkins University Press, Baltimore, 953p.
- Moo-Valle, H.; Quezada-Eúan, J.J.G.; Canto-Martín, J.; Gonzalez-Acereto, J.A. 2004. Caste ontogeny and the distribution of reproductive cells on the combs of *Melipona beecheii* (Apidae: Meliponini). *Apidologie* 35: 587–594.

- Moraes, D.A. de. 2003. A morfometria geométrica e a “revolução na morfometria” localizando e visualizando mudanças na forma dos organismos. *BIOLETIM* 3: 1–6.
- Nogueira, D.S. 2023. Overview of Stingless Bees in Brazil (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). *EntomoBrasilis* 16: 1–13.
- Nogueira-Neto, P. 1997. *Vida e Criação de Abelhas Indígenas Sem Ferrão*. Editora Nogueirapis, São Paulo, 445p.
- Nunes, R.A. da S. 2008. *Caracterização do desenvolvimento embrionário e pós-embrionário das abelhas **Melipona seminigra** e **Melipona compressipes** (Hymenoptera, Apidae)*. Monografia (Graduação), Universidade Federal do Amazonas, Manaus - AM, 37p.
- Oliveira, F.F. de; Richers, B.T.T.; Silva, J.R. da; Farias, R.C.; Matos, T.A. de L. 2013. *Guia ilustrado das abelhas “sem-ferrão” das Reservas Amanã e Mamirauá, Brasil (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)*. Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá IDSMM, Tefé - AM, 267p.
- Oliveira, M.A. de; Aidar, D.S. 2006. Efeito da alimentação artificial no desenvolvimento de colônias de *Melipona seminigra merrillae* (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). *Mensagem Doce Online* 89. Disponível em <https://www.apacame.org.br/mensagemdoce/89/artigo3.htm>. Acessado em 11/01/2023.
- Palmer, A.R.; Strobeck, C. 1986. Fluctuating Asymmetry: Measurement, Analysis, Patterns. *Annual Review of Ecology and Systematics* 17: 391–421.
- Parsons, P.A. 1992. Fluctuating asymmetry: a biological monitor of environmental and genomic stress. *Heredity* 68: 361–364.
- Peruquetti, R.C. 2003. Variação do tamanho corporal de machos de *Eulaema nigrita* Lepelletier (Hymenoptera, Apidae, Euglossini). Resposta materna à flutuação de recursos? *Revista Brasileira de Zoologia* 20: 207–212.
- Pinheiro, E.B.; Maracajá, P.B.; Mesquita, L.X. de; Soto-Blanco, B.; Filho, R.B. de O. 2009. Efeito de diferentes alimentos sobre a longevidade de operárias de abelhas Jandaíra em ambiente controlado. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável* 4: 50–56.
- Pires, N.V.C.R.; Venturieri, G.C.; Contrera, F.A.L. 2009. Elaboração de uma dieta artificial protéica para *Melipona fasciculata*. In: *Documentos*. 1st ed. Embrapa Amazônia Oriental, Belém - PA, 23p.
- Quezada-Euán, J.J.G.; López-Velasco, A.; Pérez-Balam, J.; Moo-Valle, H.; Velazquez-Madrazo, A.; Paxton, R.J. 2011. Body size differs in workers produced across time and is associated with variation in the quantity and composition of larval food in *Nannotrigona perilampoides* (Hymenoptera, Meliponini). *Insects Sociaux* 58: 31–38.
- Rebello, K.S.; Cazarin, C.B.; Iglesias, A.H.; Stahl, M.A.; Kristiansen, K.; Carvalho-Zilse, G.A.; et al. 2021. Nutritional composition and bioactive compounds of *Melipona seminigra* pot-pollen from Amazonas, Brazil. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 101: 4907–4915.
- Rebouças, J.S.; Serra, L.S.; Santana, J. da C.; Machado, C.S.; Carvalho, C.A.L. de. 2022. Abelhas sociais (Meliponini) e sua participação na promoção da Agroecologia. In: *Pesquisas agrárias e ambientais, XII*. 1st ed. Pantanal Editora, MT: Nova Xavantina, p.41–57.
- Rohlt, F.J.; Marcus, L.F. 1993. A revolution in morphometrics. *TREE* 8: 129–132.
- Roulston, T.H.; Cane, J.H. 2000. The Effect of Diet Breadth and Nesting Ecology on Body Size Variation in Bees (Apiformes). *Journal of the Kansas Entomological Society* 73: 129–142.
- Roulston, T.H.; Cane, J.H. 2002. The effect of pollen protein concentration on body size in the sweat bee *Lasioglossum zephyrum* (Hymenoptera: Apiformes). *Evolutionary Ecology* 16: 49–65.

- Sant'ana, R. da S.; Carvalho, C.A.L. de; Oda-Souza, M.; Souza, B. de A.; Dias, F. de S. 2020. Characterization of honey of stingless bees from the Brazilian semi-arid region. *Food Chemistry* 327: 127041.
- Silva, J.R. da; Demeterco, C.A.; Araujo, C.M.; Steward, A.M.; Viana, F.M. de F. 2018. *Manejo de abelhas nativas sem ferrão na Amazônia Central: experiências nas Reservas de Desenvolvimento Sustentável Amanã e Mamirauá*. Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá IDSM, Tefé - AM, 24p.
- Somerville, D. 2000. Honey bee nutrition and supplementary feeding. *NSW Agriculture*: 1–8.
- Souza, B.; Roubik, D.; Barth, O.; Heard, T.; Enríquez, E.; Carvalho, C.; et al. 2006. Composition of stingless bee honey: setting quality standards. *Interciencia* 31: 867–875.
- Teixeira, J.; Queiroz, A.C.; Veiga, J.; Leão, K.; Contrera, F.; Domingues, F.; et al. 2019. Soy extract as protein replacement to feed *Melipona flavolineata* Friese (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). *Journal of Apicultural Research* 59: 104–114.
- Testa, P.R.; Silva, A.N.; Zucoloto, F.S. 1981. Nutritional value of different pollen mixtures for *Nannotrigona (Scaptotrigona) postica*. *Journal of Apicultural Research* 20: 94–96.
- Ueira-Vieira, C.; Nunes-Silva, C.G.; Absy, M.L.; da Costa Pinto, M. de F.F.; Kerr, W.E.; Bonetti, A.M.; et al. 2013. Pollen diversity and pollen ingestion in an Amazonian stingless bee, *Melipona seminigra* (Hymenoptera, Apidae). *Journal of Apicultural Research* 52: 173–178.
- Veiga, J.C.; Menezes, C.; Venturieri, G.C.; Contrera, F.A.L. 2012. The bigger, the smaller: relationship between body size and food stores in the stingless bee *Melipona flavolineata*. *Apidologie* 44: 324–333.
- Venturieri, G.C. 2008. *Criação de abelhas indígenas sem ferrão*. 2ª ed. Embrapa Amazônia Oriental, Belém - PA, 60p.
- Venturieri, G.C.; Raiol, V. de F.O.; Pereira, C.A.B. 2003. Avaliação da introdução da criação racional de *Melipona fasciculata* (Apidae: Meliponina), entre os agricultores familiares de Bragança - PA, Brasil. *Biota Neotropica* 3: 1–7.
- Venturieri, G.C.; Alves, D. de A.; Villas-Bôas, Jerônimo K.; Carvalho, C.A.L. de; Menezes, C.; Vollet-Neto, A.; et al. 2012. Meliponicultura no Brasil: Situação Atual e Perspectivas Futuras para o Uso na Polinização Agrícola. In: Imperatriz-Fonseca, V.L.; Canhos, D.A.L.; Alves, D. de A.; Saraiva, A.M. (Eds.), *Polinizadores no Brasil: contribuição e perspectivas para a biodiversidade, uso sustentável, conservação e serviços ambientais*, Editora da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, p.213–236.
- Vilas-Boas, H.C. 2012. *Multiplicação induzida de colmeias de abelhas Melipona seminigra Friese, 1903 (Hymenoptera, Apidae) submetidas a diferentes tipos de alimentação complementar, em Manaus – AM*. Dissertação (Mestrado), Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA, Manaus - AM, 79p.
- Vollet-Neto, A.; Maia-Silva, C.; Menezes, C.; Venturieri, G.C.; Jong, D.D.; Imperatriz-Fonseca, V.L. 2010. Dietas protéicas para abelhas sem ferrão. *Anais do IV Encontro sobre Abelhas*: 121–129.

**Apêndice A** – Receitas para o preparo das alimentações suplementares utilizadas no experimento.

**Receita 1: Xarope (T1– Controle)**

**Ingredientes:**

- 600 mL de água filtrada
- 1 kg de açúcar cristal

**Preparo:**

– Ferver 600 mL de água filtrada. Em seguida, reduz a intensidade do fogo e adicionar 1 kg de açúcar cristal, mexendo bem até dissolver. Tampar e deixar cozinhar por 2 a 3 minutos em fogo alto.

- Desligar o fogo e deixar o xarope esfriar em temperatura ambiente.
- 

**Receita 2: Pólen (T2)**

**Ingredientes:**

- Pólen da própria espécie da abelha
- Mel da própria espécie da abelha

**Preparo:**

– Misturar pólen e mel da própria espécie na proporção 4:1 (4 medidas de pólen para 1 de mel). Manter a mistura em geladeira até o momento do uso (máximo de 2 dias).

---

**Receita 3: Soja (T3)**

**Ingredientes:**

- 500 g de extrato de soja
- 250 mL de xarope quente

- 250 mL de água filtrada em temperatura ambiente
- 50 g de pólen da mesma espécie da abelha

**Preparo:**

– Em um recipiente higienizado, misture 250 mL de xarope ainda quente com 250 mL de água filtrada em temperatura ambiente. Mexendo bem, acrescente aos poucos 500 g de extrato de soja. Espere esfriar e adicione 50 g de pólen da mesma espécie da abelha, misturando bastante até obter uma massa macia e homogênea.

– Manter essa massa em recipiente fechado à temperatura de 28 °C (em estufa BOD) a fim de promover a fermentação natural durante um período de 15 dias. Mexer a massa uma vez ao dia para manter a homogeneização.

---

**Receita 4: Aminomix (T4)****Ingredientes:**

- 1 L de xarope (Receita 1)
- 10 g de suplemento Aminomix® Pet em pó

**Preparo:**

– Diluir 10 g de suplemento Aminomix® Pet em pó em um litro de xarope à temperatura ambiente, misturando bem até homogeneizar a solução.

**Anexo A** – Composição do suplemento Aminomix® Pet (Níveis de garantia por kg do produto, fornecido pelo fabricante).

Composição	Nível de garantia por kg
Vitamina A (Mín.)	1.000.000 UI
Vitamina D3 (Mín.)	50.000 UI
Vitamina E (Mín.)	1.000 UI
Vitamina B1 (Mín.)	200 mg
Vitamina B2 (Mín.)	200 mg
Vitamina B6 (Mín.)	100 mg
Vitamina B12 (Mín.)	2.000 mcg
Vitamina C (Mín.)	5.000 mg
Biotina (Mín.)	18 mg
Ácido Nicotínico (Mín.)	600 mg
Pantotenato de Cálcio (Mín.)	400 mg
Taurina (Mín.)	1.000 mg
L-Carnitina (Mín.)	10 g
Colina (Mín.)	5.000 mg
Lisina (Mín.)	14,215 g
Histidina (Mín.)	499,74 mg
Arginina (Mín.)	1.850,5 mg
Ácido Aspártico (Mín.)	271,8 mg
Treonina (Mín.)	269,3 mg
Serina (Mín.)	489,23 mg
Ácido Glutâmico (Mín.)	1.350,43 mg
Prolina (Mín.)	5.131,4 mg
Glicina (Mín.)	6.011,8 mg
Hidroxiprolina (Mín.)	452 mg
Alanina (Mín.)	4.055 mg
Cisteína (Mín.)	124,6 mg
Valina (Mín.)	1.183,5 mg
Metionina (Mín.)	9.370,6 mg
Isoleucina (Mín.)	561,2 mg
Leucina (Mín.)	1.461 mg
Tirosina (Mín.)	444,3 mg
Fenilalanina (Mín.)	881,1 mg
Triptofano (Mín.)	89,7 mg
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	9 x 10 <sup>9</sup> UFC
Ácido Fólico (Mín.)	1.000 mg
Magnésio (Mín.)	12,6 g
Enxofre (Mín.)	200 mg
Iodo (Mín.)	93 mg
Ferro (Mín.)	112 mg
Cobalto (Mín.)	40 mg
Cobre (Mín.)	75 mg
Zinco (Mín.)	1.700 mg
Manganês (Mín.)	340 mg
Selênio (Mín.)	10 mg
Cálcio (Mín.)	150,5 g
Cálcio (Máx.)	157 g

Composição	Nível de garantia por kg
Fósforo (Mín.)	74,8 g
Sódio (Mín.)	2.100 mg