

**Universidade Federal do Piauí**

**Diversidade Genética e Estrutura de Populações da Abelha  
*Scaptotrigona aff. depilis* no Piauí**

**Kaline Aguiar Gonzalez Vale**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Piauí como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento, para obtenção do título de “Mestre”.

**Teresina  
2013**

**Kaline Aguiar Gonzalez Vale**  
**Bióloga**

**Diversidade Genética e Estrutura de Populações da Abelha *Scaptotrigona aff. depilis* no Piauí**

**Orientador:**  
**Prof. Dr. Fábio Barros Britto**

**Dissertação apresentada à Universidade Federal do Piauí como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento, para obtenção do título de “Mestre”.**

**Teresina**  
**2013**

**FICHA CATALOGRAFICA**  
Universidade Federal do Piauí  
Biblioteca Comunitária Jornalista Carlos Castello Branco  
Serviço de Processamento Técnico

V149d Vale, Kaline Aguiar Gonzalez  
Diversidade genética e estrutura de populações da abelha  
*Scaptotrigona aff. depilis* no Piauí / Kaline Aguiar Gonzalez Vale.  
– 2013.  
58 fls.

Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) –  
Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2013.  
Orientação: Prof<sup>o</sup>. Dr<sup>o</sup>. Fábio Barros Britto

1. Apicultura - Piauí. 2. *Scaptotrigona aff. depilis*.  
3. Abelha – Estrutura Genética. 4. Abelha - Isolamento Genético.  
5. Meliponíneos. 6. RAPD. I. Título.

CDD: 638.109 812 2

**Diversidade Genética e Estrutura de Populações da Abelha *Scaptotrigona aff. depilis* no Piauí**

**Kaline Aguiar Gonzalez Vale**

**Aprovada em \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_**

**Comissão julgadora:**

---

Prof. Dr. Fábio Barros Britto - Orientador  
Universidade Federal do Piauí

---

Dr. Bruno de Almeida Souza – Membro titular  
Embrapa Meio Norte

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Claudene Barros – Membro titular  
Universidade Estadual do Maranhão

Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar.

Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota.

(Madre Teresa de Calcutá)

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, pelo seu sustento e por ter permitido que tudo pudesse se realizar conforme a sua vontade e por iluminar e abençoar os meus caminhos durante esses anos.

Ao meu querido orientador Dr. Fábio Barros Britto, pela oportunidade, confiança, orientação segura e tranquila, compreensão, paciência, amizade e conselhos dentro e fora do meio acadêmico.

A Universidade Federal do Piauí e ao Programa de Pós Graduação em Genética e Melhoramento pela oportunidade de realização desse trabalho.

A Dr. Silvia Regina de Menezes Pedro do Laboratório da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto - USP pela identificação taxonômica das abelhas.

A CAPES, pela bolsa concedida durante a realização do curso de mestrado.

A Universidade Federal do Piauí (Campus Prof<sup>a</sup> Cinobelina Elvas), por ceder o Laboratório de Genética, no qual foi desenvolvida a parte prática do trabalho.

Aos companheiros de laboratório, Adriana Oliveira e o Rafael Lino, pelas horas de descontração e por toda a ajuda.

Aos colegas do Mestrado em Genética e Melhoramento, que diretamente ou indiretamente deram a sua colaboração para a concretização do trabalho, em especial a Kátia Carvalho e o João Paulo Viana.

Aos professores do Mestrado em Genética e Melhoramento, pela contribuição em minha vida profissional, pela amizade e orientação.

Ao Dr. Sinevaldo Moura por ter indicado os locais de coleta das abelhas, pelo fornecimento e coleta do material biológico.

Ao Professor Sérgio Emílio pelas correções e dicas nesse trabalho.

A Dr. Fábria Pereira da Embrapa Meio Norte, pela disponibilidade em esclarecer todas as dúvidas sobre as abelhas.

Aos meus amados pais Auridéa e Franklane, que com todo carinho, dedicação, amor e compreensão me deram forças e incentivaram a continuar realizando os meus sonhos, por confiarem em mim e sempre estarem ao meu lado.

Ao meu amado esposo pelo amor, carinho, respeito, compreensão (na minha ida a outra cidade para realização do trabalho), paciência e amizade. E por sempre ter me dado forças para continuar.

Ao meu irmão pelo apoio e companheirismo.

A toda a minha família que sempre acreditou em mim.

A todos os meus amigos que torceram e que sempre me colocaram em suas orações.

A todos que me forneceram amostras das abelhas para que eu pudesse realizar este estudo.

## SUMÁRIO

RESUMO.....	VIII
ABSTRACT.....	IX
LISTA DE FIGURAS.....	X
LISTA DE TABELAS.....	XI
1. INTRODUÇÃO.....	12
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	14
2.1. Abelhas-sem-ferrão.....	14
2.2. Meliponicultura no Brasil.....	16
2.3. Gênero <i>Scaptotrigona</i> .....	17
2.4. Importância das abelhas para a conservação da flora.....	19
2.5. Impactos da destruição ambiental sobre a fauna de abelhas.....	21
2.6. Marcadores moleculares como ferramenta de estudo para conservação.....	22
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	27
3.1. Amostragem.....	27
3.2. Extração de DNA.....	28
3.3. Marcadores RAPD.....	29
3.4. Genotipagem.....	31
3.5. Análise estatística.....	31
4. RESULTADOS.....	33
4.1. Perfil dos marcadores RAPD.....	33
4.2. Diversidade genética.....	34
4.3. Similaridade genética e estrutura populacional.....	35
4.4. Análise de variância molecular (AMOVA).....	38
5. DISCUSSÃO.....	39
6. CONCLUSÃO.....	43
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	44



## RESUMO

VALE, K. A.G. **Diversidade Genética e Estrutura de Populações da Abelha *Scaptotrigona aff. depilis* no Piauí**. 2013. 58 p. Dissertação para obtenção do título de Mestre em área de concentração em Genética e Melhoramento – Universidade Federal do Piauí, Teresina, Piauí, 2013.

As abelhas da tribo Meliponini estão entre os principais polinizadores da flora brasileira, no entanto a maioria das espécies pode estar ameaçada de extinção. Entre elas, encontra-se *Scaptotrigona aff. depilis*, uma espécie que nidifica em ocos de árvores com colônias bastante populosas. Ainda não foram descritos trabalhos sobre ela no Estado do Piauí, porém, sua importância é ressaltada pelo seu potencial na produção de mel e polinização de culturas, como a do pepino. É necessária a compreensão da dinâmica populacional da espécie para futuras estratégias de manejo e conservação. Assim, este trabalho teve como objetivo analisar a diversidade genética e a estrutura de populações de *Scaptotrigona aff. depilis* no Estado do Piauí, com base em marcadores RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*). Foram analisadas populações de três municípios do sul do Piauí (Santa Luz, Bom Jesus e Cristino Castro) e uma da região central do estado (Dom Expedito Lopes). Cinco *primers* foram escolhidos com base na consistência das bandas amplificadas e presença de polimorfismos. Foram identificados 89 locos polimórficos (78,76%) e baixo índice de diversidade genética dentro das populações ( $H_S = 0,1786$ ). Verificou-se que 44,54% da variabilidade genética total encontram-se dentro das populações e 55,46% entre elas. As populações mostraram-se altamente estruturadas, com estatísticas análogas de  $F_{ST}$  apresentando valores consideravelmente altos ( $\theta_B = 0,6217$  e  $\Phi_{ST} = 0,60$ ,  $p < 0,001$ ). Análises de agrupamento, com base no coeficiente de similaridade de Jaccard, indicaram que a estruturação genética corrobora com a distribuição geográfica da espécie. Além disso, resultados do programa STRUCTURE evidenciaram forte diferenciação entre as amostras provenientes do sul e do centro do estado. Estas diferenças entre as localidades podem estar relacionadas à biologia reprodutiva da espécie, mas também devem sofrer influência da devastação ambiental promovida na região, aumentando o isolamento genético.

**Palavras-Chave:** Meliponíneos, estrutura genética, isolamento genético, RAPD

## ABSTRACT

VALE, K. A. G. **Genetic Diversity and Population Structure of the Bee *Scaptotrigona* aff. *depilis* on Piauí**. In 2013. 58 p. Dissertation to obtain the title of Master of specialization in Genetics and Breeding - Federal University of Piauí, Teresina, Piauí, 2013.

The bees of Meliponini tribe are major pollinators of flora, however most species may be endangered. Among them is *Scaptotrigona* aff. *depilis*, which is a species that lives in hollow trees in highly populated colonies. There are no works published on this species in Piauí state, however, its importance is evidenced by its potential for the production of honey and pollination of crops such as cucumber. It is necessary to understand the population dynamics of the species for future management and conservation strategies. This study aimed to analyze the genetic diversity and population structure of *Scaptotrigona* aff. *depilis* at Piauí state using RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) markers. Populations were analyzed in three municipalities from southern Piauí (Santa Luz, Bom Jesus and Cristino Castro) and a central region of the state (Dom Expedito Lopes). Five primers were chosen based on the consistency of the amplified bands and the occurrence of polymorphisms. A total of 89 polymorphic *loci* (78.76%) were identified and have shown low level of genetic diversity within populations ( $H_S = 0.1786$ ). It was observed that 44.54% of the total genetic variability was found within populations and 55.46% between them. Populations were highly structured, with analogue  $F_{ST}$  statistics showing values highly significant ( $\theta_B = 0.6217$  and  $\Phi_{ST} = 0.60$ ,  $p < 0.001$ ). Clustering analyses based on Jaccard similarity coefficient indicated that genetic structure corroborates with the geographic distribution of the species. In addition, results of the program STRUCTURE showed strong differentiation between samples from the south and center of the state. These differences between locations may be related to reproductive biology of the species, but also should be influenced by the environmental devastation promoted in the region.

**Keywords:** stingless bees, genetic structure, genetic isolation, RAPD

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Distribuição do gênero *Scaptotrigona* na Região Neotropical em destaque, de acordo com Camargo e Pedro (2013). Fonte: Modificado do Wikipédia, 2013.....17
- Figura 2 – Rainha de *Scaptotrigona* aff. *depilis* recém acasalada. Foto: Cristiano Menezes. Disponível em: Santos e Imperatriz-Fonseca em Estratégias reprodutivas dos machos de abelhas melíferas e sem ferrão, 2011.....19
- Figura 3 – Representação dos alelos de RAPD diferenciando os locus amplificados e não amplificados. Alelo AA (A) com dois alelos amplificados, alelo Aa (B) com apenas um alelo amplificado e alelo aa (C) não apresenta alelo amplificado. Fonte: Modificado do Dag/UFLA, 2013.....25
- Figura 4 - Mapa do Piauí notando a localização dos municípios de onde foram retiradas as amostras de abelhas *Scaptotrigona* aff. *depilis* no período de 2013.....28
- Figura 5 - Exemplo de um padrão de amplificação dos fragmentos RAPD obtidos pelo *primer* UBC-125 com o DNA das *Scaptotrigona* aff. *depilis* de Cristino Castro (CC) e Dom Expedito Lopes (EL), 2013.....34
- Figura 6 - Dendrograma gerado pelas similaridades genéticas entre 49 amostras de abelhas, utilizando o índice de similaridade de Jaccard, e o método de agrupamento UPGMA, Santa Luz (SL), Bom Jesus (BJ), Cristino Castro (CC) e Dom Expedito Lopes (EL).....36
- Figura 7 - Representação gráfica do  $\Delta K$  mais provável de acordo com Evanno; Regnault e Goudet, (2005).....37
- Figura 8 - Designação das populações de *Scaptotrigona* aff. *depilis* usando a estrutura baseada na alocação das amostras para  $K=2$ . 1 e 2 - Santa Luz, 3 a 9 - Bom Jesus, 10 a 19 - Cristino Castro, 20 a 49 - Dom Expedito Lopes.....37

**LISTA DE TABELAS**

- Tabela 1 - Classificação taxonômica até a espécie *Scaptotrigona aff. depilis*. Fonte: Disponível em: <http://moure.cria.org.br/catalogue>.....17
- Tabela 2 – Localização e quantidade de colônias de *Scaptotrigona aff. depilis* utilizadas. A origem das amostras indicam se as mesmas foram provenientes de meliponários (M) ou de ninhos naturais (N).....27
- Tabela 3 - Marcadores RAPD para a diversidade e estrutura genética das *Scaptotrigona aff. depilis*. Todas as reações foram realizadas com temperatura de anelamento a 37°C, Teresina-PI, 2013.....30
- Tabela 4 – *Primers* de RAPD selecionados, com suas respectivas sequências, número de fragmentos amplificados e polimórficos. Teresina, PI, 2013.....33
- Tabela 5 - Índices de diversidade genética ( $h_S$ ) para as quatro populações de *Scaptotrigona aff. depilis*, Teresina, PI, 2013.....34
- Tabela 6 - Resumo da análise de variância molecular (AMOVA) para as quatro populações de *Scaptotrigona aff. depilis*., com todas as amostras de cada colônia, Teresina, PI, 2013.....38

## 1. INTRODUÇÃO

As abelhas da tribo Meliponini (Hymenoptera, Apidae) são conhecidas como abelhas-sem-ferrão em decorrência de apresentarem ferrão atrofiado. São as principais responsáveis pela polinização da maioria das espécies vegetais do Brasil constituindo um dos principais grupos de polinizadores de plantas floríferas nativas, permitindo a manutenção do equilíbrio ecológico na manutenção de plantas nativas (KOLING; MORETTO, 2010), e têm sido criadas principalmente para a produção de mel, cera, pólen e própolis. Essas abelhas estão distribuídas pelas regiões tropicais do mundo, bem como nas regiões subtropicais do hemisfério sul, sendo importantes do ponto de vista econômico e ambiental (SILVEIRA; MELO e ALMEIDA, 2002).

Dentro dos Meliponini, encontram-se as abelhas pertencentes ao gênero *Scaptotrigona* (CAMARGO; PEDRO, 2013). Este distribui-se por toda a região Neotropical e apresenta grande diversidade de formas, na qual constituem complexos de difícil separação e espécies ainda não descritas cientificamente. O gênero caracteriza-se por reunir espécies com colônias bastante populosas, as quais constroem seus ninhos em cavidades pré-existentes. São abelhas eussociais e, em geral, robustas (SILVEIRA; MELO e ALMEIDA, 2002).

De acordo com Kerr; Carvalho e Nascimento, (1996), a partir do cerume (mistura de cera com resina), são construídos potes, onde os alimentos, pólen e mel, são armazenados. Essas abelhas misturam material resinoso das plantas com cera e terra, formando o geoprópolis. Neste grupo, a espécie *Scaptotrigona aff. depilis* apresenta cerca de 100.000 indivíduos dentro de uma colônia. Suas castas são diferenciadas e seus ninhos apresentam arquitetura bem elaborada. Cada colônia é constituída pela rainha, os zangões e as operárias, onde cada um desempenha a sua função (BELLUSCI; MARQUES, 2001). Essas abelhas apresentam um potencial de polinização com algumas culturas de grande importância econômica, como por exemplo, o pepino (SANTOS; ROSELINO e BEGO, 2008), além disso, o mel apresenta um sabor exótico, com aspecto limpo e de boa qualidade, podendo ser explorado, pois a produção é constante ao longo do ano.

Apesar das colônias populosas, muitas espécies de meliponíneos apresentam populações reduzidas, o que compromete sua diversidade, sendo as principais causas dessa redução populacional a destruição dos ambientes naturais causadas por

desmatamento, uso indiscriminado de agrotóxicos e a ação predatória de meleiros. Com a degradação ambiental, o número de populações de meliponíneos pode desaparecer com grande rapidez (ZAYED, 2009). Essa fragmentação do ambiente leva ao isolamento e/ou redução do tamanho populacional e, conseqüentemente, à perda da variabilidade genética.

Neste contexto, estudos sobre a estrutura genética das populações podem ser utilizados para auxiliar no direcionamento de políticas de conservação. Os parâmetros genético-populacionais estimados com base em marcadores moleculares podem ser úteis para a conservação da espécie. Sendo assim, estes podem atuar na detecção de grupos que apresentem diferentes magnitudes de variabilidade genética e que, portanto, requerem estratégias distintas para a sua conservação (ZAYED, 2009).

A biologia molecular é uma ferramenta importante que vem sendo utilizada em diversos estudos na genética de populações de insetos, através dos marcadores moleculares. Esses marcadores permitem fazer distinção diretamente em nível de DNA acessando a variabilidade genética em diversas espécies. Estes não sofrem influência de fatores ambientais e mostram alto nível de polimorfismo (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998).

Atualmente existe grande variedade de marcadores moleculares disponíveis para diferentes estudos genéticos. Entre eles está o RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*), que permite a ampliação de fragmentos de DNA delimitados por *primers* com sequências curtas e arbitrárias. Estes se hibridizam em sequências complementares no DNA, sendo detectadas variações produzidas por mutações nos sítios de hibridização, ou mesmo por inserções e deleções entre os sítios (CERUTI; LÁZZARI, 2003). A técnica de RAPD apresenta muitas vantagens metodológicas que justificam sua utilização em estudos genéticos de diferentes organismos, quando comparado com outras metodologias, pois não necessita de trabalhos preliminares, como exemplo a construção de bancos genômicos. Apresenta um custo relativamente baixo e permite detectar grande quantidade de polimorfismo de segmentos de DNA distribuídos no genoma (CASTIGLIONI; BICUDO, 2003).

O presente trabalho teve o objetivo de avaliar a diversidade genética e a estrutura de populações de *Scaptotrigona* aff. *depilis* no Estado do Piauí utilizando os marcadores moleculares do tipo RAPD.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Abelhas-sem-ferrão

As abelhas constituem o principal grupo de polinizadores de plantas floríferas em diversos ecossistemas e contribuem na manutenção do equilíbrio ecológico e perpetuação de um grande número de espécies de plantas em diversos ecossistemas, garantido a disponibilidade de alimentos para outros animais que dependem dessas plantas (KOLING; MORETTO, 2010). Considera-se que as abelhas tenham divergido das vespas no Cretáceo Mediano, há cerca de 100 milhões de anos, no entanto, os fósseis mais antigos, datam do Eoceno, há aproximadamente 40 milhões de anos (WINSTON, 2003).

As abelhas estão inclusas na ordem Hymenoptera, juntamente com vespas e formigas. De acordo com Ascher et al. (2008), existem mais de 19.500 espécies de abelhas no planeta. Essas abelhas estão distribuídas em 425 gêneros pertencentes a sete famílias (MICHENER, 2000).

De acordo com Nogueira-Neto (1997), as abelhas podem ser reunidas na superfamília Apoidea, a qual é constituída por diversas famílias. Dentro desta, a família Apidae apresenta o maior número de tribos. Esta família é dividida em cinco subfamílias: Andreninae, Apinae, Colletinae, Halictinae e Megachilinae. A subfamília Apinae, está dividida em 20 tribos, entre elas os Meliponini, a qual é composta por 412 espécies, reunidas em 33 gêneros (CAMARGO; PEDRO, 2013). No entanto, este número é subestimado, pois há um grande número de espécies existentes e ausência de estudos de alguns gêneros (MICHENER, 2007).

Estas abelhas são as principais responsáveis pela polinização da maioria das espécies vegetais do Brasil e são responsáveis por cerca de 40 a 90% da polinização das árvores nativas (MORAES; BAUTISTA e VIANA, 2000). Entre as principais espécies polinizadas estão o coco, macadâmia, manga, mapati, urucum (HEARD, 1999), morangos (MALAGODI-BRAGA; KLEINERT, 2004), tomate (MACIAS; QUEZADA-EUAN e PARRA-TABLA, 2001) e pimentão (CRUZ et al., 2003). Elas são

consideradas polinizadores eficientes por apresentarem adaptações para a coleta de recursos florais, sendo criadas principalmente para a produção de mel, cera, pólen e própolis, além de estarem presentes em todo o território nacional (MICHENER, 2007).

As abelhas-sem-ferrão apresentam grande diversidade genética, morfológica e comportamental (KERR et al., 2001). Apresentam porte minúsculo a médio, com tamanho que varia entre 1,8 a 13,5mm, em geral com características robustas. São distintas de outras abelhas corbiculadas por apresentarem venação das asas reduzidas e ferrão vestigial (MICHENER, 2007). As espécies existentes são eussociais (MICHENER, 2007; SILVEIRA; MELO e ALMEIDA, 2002), caracterizando-se pela sobreposição de gerações dentro do ninho e pela divisão do trabalho reprodutivo entre castas (MICHENER, 2000). Suas colônias são bastante numerosas podendo variar de 800 a 100.000 abelhas. A colônia é dividida em algumas áreas: (I) o ninho, os quais são construídos em cavidades pré-existentes como, ocos de árvores, ninhos abandonados de cupins e formigas, ou mesmo ninhos expostos, os quais são construídos com uma mistura de cera, própolis e barro denominada cerume; (II) a entrada, constituída por um orifício situado no centro de raias de barro ou de geoprópolis, no interior existe outro tubo, denominado túnel de ingresso, (III) o túnel de ingresso desemborça perto do lugar onde estão as células de cria, que depois de enchidas na maior parte de sua capacidade com alimento larval, as células de cria recebem um ovo e em seguida fechadas, e (IV) a região dos potes de alimento, localizados fora da região de cria feitos de cerume ou de cera, onde são armazenados os alimentos energético e proteico utilizado para colônia (NOGUEIRA-NETO, 1997). A parte interior das colônias é constituída dos batume, mistura de ceras, resina e materiais coletados no meio ambiente, o qual manterá um local escuro dentro da colônia (MICHENER, 2000; GONÇALVES; MARQUES, 2012).

A cera dos meliponíneos é secretada pelas abelhas jovens a partir de glândulas presentes no dorso do abdome, que formam uma placa de cera branca sobre esta região. Alguns meliponíneos usam a cera branca na entrada do seu ninho. Além disto, a cera também pode ser misturada com material resinoso de planta ou terra, o produto dessa mistura é denominado de geopropolis (ARAÚJO et al., 2010).

A reprodução das abelhas-sem-ferrão ocorre através da enxameagem. Durante a reprodução as operárias deixam a colônia original e procuram um local adequado para a construção de novo ninho. Ao encontrá-lo as abelhas informam a localização às



demais. Em seguida as operárias migram para o local, levando o cerume retirado da colônia original e iniciam a construção do novo ninho. Quando o ninho está pronto à rainha recém-acasalada e as operárias migram para a nova colônia. A enxameagem ocorre a curtas distâncias da colônia matriz, pelo fato das abelhas necessitarem ainda transportar cera e alimento para o novo local da nidificação (CARVALHO-ZILSE; KERR, 2004). Essa relação impede que as abelhas se dispersem para grandes distâncias, pois a colônia permanece sempre no mesmo local até o fim do seu ciclo de vida (ALVES; IMPERATRIZ-FONSECA, 2010).

Em relação aos mecanismos de determinação do sexo em Hymenoptera, o principal é a haplodiploidia, onde os machos haploides são produzidos por partenogênese e fêmeas diploides resultam do desenvolvimento de ovos fecundados (CROZIER, 1977).

## **2.2. Meliponicultura no Brasil**

O manejo racional de abelhas-sem-ferrão é chamada de meliponicultura, na qual as colmeias são produzidas pelos próprios criadores onde a forma e a dimensão irá variar de acordo com a biologia da espécie, sendo uma atividade de desenvolvimento sustentável (YAMAMOTO; AKATSU e SOARES, 2007; SANTOS, 2010). Venturieri (2004), afirma ser uma atividade que pode ser integrada a plantios florestais, de fruteiras e/ou culturas de ciclo curto, ou que pode aumentar a produção agrícola. No entanto é importante que essas abelhas não sejam criadas fora da região geográfica de ocorrência natural, caso contrário elas podem não se adaptar às novas condições ambientais e morrer (PEREIRA; LOPES e SOUZA, 2010).

No Brasil, os Meliponini representam uma fonte de renda para o produtor, com a venda de mel, reprodução, venda de colmeias (CARVALHO; ALVES e SOUZA, 2003) e programas de educação ambiental, podendo ser executada por mulheres, jovens e idosos, já que não exige tanta dedicação e esforço físico, pois as abelhas são animais que buscam livremente seu alimento na natureza (VENTURIERI, 2004).

O desenvolvimento da meliponicultura é proporcionado pelo sabor diferenciado do mel dessas abelhas, caracterizado internacionalmente como exótico, além da sua utilização em tratamento de bronquites, resfriados e infecções oculares, além de apresentar importância social, através do desenvolvimento sustentável, no manejo de abelhas em caixas racionais, complementando a renda de inúmeras famílias (VIT; MEDINA; ENRÍQUEZ, 2004; YAMAMOTO; AKATSU e SOARES, 2007).

### 2.3. Gênero *Scaptotrigona*

Dentro da tribo Meliponini, encontram-se as abelhas pertencentes ao gênero *Scaptotrigona*. De acordo com Pedro e Camargo (2013), a tabela 1 mostra a classificação taxonômica dessas abelhas.

Tabela 1 - Classificação taxonômica até a espécie *Scaptotrigona* aff. *depilis*. Fonte: Disponível em: <http://moure.cria.org.br/catalogue>.

Camargo e Pedro (2013)

Família	SubFamília	Tribo	Gênero	Espécie
<i>Apidae</i>				
	<i>Apinae</i>			
		<i>Meliponini</i>		
			<i>Scaptotrigona</i>	
				<i>Scaptotrigona</i>
				aff. <i>depilis</i>

Atualmente são descritas 22 espécies de *Scaptotrigona* distribuídas por toda a região Neotropical (Figura 1) (CAMARGO; PEDRO, 2013). Essas abelhas apresentam uma grande diversidade de formas, com complexos de difícil separação, o que tem como consequência um grande número de espécies ainda não descritas (SILVEIRA; MELO e ALMEIDA, 2002).



Figura 1 - Distribuição do gênero *Scaptotrigona* na Região Neotropical em destaque, de acordo com Camargo e Pedro (2013).  
Fonte: Modificado do Wikipédia, 2013.

O gênero *Scaptotrigona* reúne espécies com colônias bastante populosas, que constroem seus ninhos em cavidades pré-existentes. As abelhas no geral são robustas e as operárias desse gênero se caracterizam por apresentar o corpo com pigmentação escura, cujo tamanho varia entre 5 a 7 mm (MICHENER, 2000) e são responsáveis em recolher pólen, néctar e resinas, os quais são armazenados dentro do ninho para alimentar abelhas novas e adultas (FARIA et al., 2012). O alimento, pólen e mel são armazenados em potes ovalados e a resina colocada em pilhas (JUNGNICKEL et al., 2004).

As *Scaptotrigona*, assim como todas as abelhas sociais, apresentam uma grande interação social dentro e fora dos ninhos, além de terem a capacidade de reconhecer companheiras, distinguindo-as de indivíduos de outras colônias. Embora apresentem ferrão atrofiado, essas abelhas defendem-se de outras formas, enrolando-se no cabelo ou pêlo de vertebrados, beliscando a pele, ou mesmo liberando feromônio que atraem outras abelhas para o ataque.

Entre os meliponíneos a espécie *S. aff. depilis* (Figura 2) apresentam grandes colônias com cerca de 100.000 indivíduos. Suas castas são extremamente diferenciadas e ninhos são encontrados em locais bem protegidos, como por exemplo, nas cavidades de árvores, os quais apresentam uma arquitetura elaborada, cuja comunicação com o ambiente é realizada por meio de túnel estreito. Cada colônia é constituída por uma rainha, que põe os ovos, os machos, que estão presentes durante a fase reprodutiva, e as operárias responsáveis por atividades de manutenção da colônia, defesa dos ninhos, as quais são bastante defensivas, coleta do néctar e pólen, assim como a remoção de resíduos das colônias (BELLUSCI; MARQUES, 2001). As operárias são de porte pequeno, medindo menos de 7mm de comprimento e tórax menor que 2mm, com fenótipo preto fosco com asas claras e venação dourada (DIAS, 2011). Na busca de alimentos as operárias liberam marcas odoríferas durante o percurso. Essas marcas odoríferas funcionam como atrativos, interpretados como o ponto final do caminho da fonte de alimento (SCHMIDT; ZUCCHI; BARTH, 2006).



Figura 2 – Rainha de *Scaptotrigona* aff. *depilis* recém acasalada. Foto: Cristiano Menezes. Disponível em: Santos e Imperatriz-Fonseca em Estratégias reprodutivas dos machos de abelhas melíferas e sem ferrão, 2011.

No Brasil a presença de *S. aff. depilis* já foi registrada nos estados do Rio Grande do Sul, Paraná, Mato Grosso do Sul, São Paulo, Minas Gerais (CAMARGO; PEDRO, 2013; DIAS, 2011), não havendo ainda registro de sua distribuição no Piauí.

Essa espécie tem se destacado na polinização de culturas de estufa com importância econômica e social, como o pepino (SANTOS; ROSELINO e BEGO, 2008). Em relação ao mel produzido por estas, estudos mostraram que ele apresenta-se limpo e de boa qualidade, além de ter uma produção constante ao longo do ano. Sendo uma vantagem ao produtor que consegue obter aproximadamente a mesma quantidade de mel a cada retirada, sendo a produção média de três litros em um ano por colônia/ano (YAMAMOTO; AKATSU e SOARES, 2007). Comercialmente no ano de 2005, o litro de mel meliponíneos variou de R\$20,00 a R\$100,00 no mercado (ALVES et al., 2005).

#### **2.4. Importância das abelhas para a conservação da flora**

Os insetos coevoluíram juntamente com as flores com benefícios para ambos os grupos. Ridley (2006) mostra que a coevolução ocorre quando duas ou mais espécies são capazes de influenciar as evoluções umas das outras, onde cada uma exerce uma pressão seletiva e evolui em resposta à outra espécie, sendo pronunciada para explicar a adaptação mútua de duas espécies. As abelhas obtêm seu alimento nas flores, as quais se beneficiam desta interação produzindo frutos com maior diversidade genética (OLLERTON; WINFREE; TARRANT, 2011).

Segundo Proctor; Yeo e Lack (2004), a polinização da maioria das plantas requer animais, como pássaros, mamíferos e insetos. Cruz e Campos (2009) mostraram que as abelhas-sem-ferrão são os insetos sociais mais promissores para o uso como polinizadores comerciais. Essas abelhas desempenham um importante papel para a manutenção da biodiversidade dos ecossistemas, sendo responsáveis pela polinização de grande parte das árvores brasileiras. Estudos de desenvolvimento em formação florestais vem indicando esse caráter de importância dos meliponíneos.

Na busca de recursos florais, essas abelhas visitam um espectro diversificado de flores, transportando involuntariamente grãos de pólen e conseqüentemente garante a reprodução das espécies vegetais (SILVA; PAZ, 2012). Estima-se que elas sejam responsáveis por 40% a 90% da polinização das espécies florestais nativas. Além de produzir mel e alguns produtos medicinais, elas auxiliam no reflorestamento. No Brasil, 78% das espécies vegetais do cerrado são polinizadas, primária ou secundariamente, por abelhas, assim como na caatinga (CASTELLETTI et al., 2000).

Economicamente, as abelhas não são importantes somente pelos produtos que nos fornecem, mas estima-se que um terço da alimentação humana dependa direta ou indiretamente da polinização realizada por elas, como por exemplo nas culturas de morango, tomate, berinjela, açaí, pimenta, entre outros (VILLAS- BÔAS, 2012). De acordo com Kremen; Williams e Thorp (2002) e Guimarães (2006), nas áreas agrícolas as abelhas polinizam aproximadamente 66% das 1.500 espécies de plantas no mundo, resultando em um valor estimado de 15 a 30% na produção de alimentos. A polinização de algumas espécies vegetais nativas

cultivadas nas regiões tropicais e subtropicais promove o cruzamento entre plantas separadas por grandes distâncias, garantindo a manutenção do ciclo de reprodução sexuada das plantas e, conseqüentemente, a disponibilidade de alimento para outros animais. Portanto, é primordial o estudo e a criação das abelhas-sem-ferrão, pelo fato de serem as principais responsáveis pela polinização da flora. Estas auxiliam diretamente nos programas de reflorestamento, melhoria do pasto apícola e contribuem nos rendimentos da fruta e semente.

### **2.5. Impactos da destruição ambiental sobre a fauna de abelhas**

A ocupação do ambiente pelo homem causa impactos nas comunidades locais de abelhas, por meio da eliminação de fontes de alimento, destruição de substratos de nidificação, uso indiscriminado de agrotóxicos, queimadas, desmatamento desordenado, entre outros (ZAYED, 2009). Apesar das colônias populosas, muitas espécies de meliponíneos, apresentam populações reduzidas, o que compromete sua diversidade. Silveira; Melo e Almeida (2002), concluíram que à medida que as florestas são derrubadas e substituídas por plantio ou mesmo áreas urbanas, as espécies de abelhas que dependem diretamente desses ambientes são extintas ou confinadas a pequenos fragmentos. Conseqüentemente pode ocorrer o desaparecimento dessas abelhas por problemas de escassez de recursos, aumento da endogamia pela redução populacional, competição ou predação, levando à perda da variabilidade genética.

Essas abelhas são sensíveis a perturbações ambientais e dependem das características climáticas e da flora de suas regiões de origem. Além disso, o processo de dispersão natural pode ser considerado lento. No entanto, o desmatamento desordenado ocasiona a falta de locais para nidificação das espécies, pois os locais utilizados pelas abelhas são principalmente ocos de árvores. A falta desses ocos de árvores ou fendas para a nidificação gera um desequilíbrio populacional ou mesmo a extinção da espécie (FREITAS et al., 2009; BRASIL, 2009).

Leal; Tabarelli e Silva (2003), afirmaram que na caatinga, a diversidade de abelhas é relativamente baixa, entretanto existe uma fauna de abelhas formada por várias espécies endêmicas, o que ressalta valor da sua preservação. Nas áreas de caatinga arbórea, por exemplo, é possível a existência restrita de uma fauna associada ao atual quadro de devastação dessa vegetação.

Para manter a população geneticamente estável é necessário incentivar as criações racionais, conhecidas como meliponicultura, permitindo associar a exploração comercial com a manutenção da espécie (CAMPOS, 1994). Sua preservação pode ser conquistada não somente por meio de aspectos ecológicos, mas também com o auxílio da genética de populações. Além de repassar aos agricultores as informações sobre a importância da relação entre produção e conservação dos habitats dessas abelhas, a principal limitação para aumentar sua conservação e o interesse comercial sobre as mesmas é a falta de técnicas de reprodução em massa associada à baixa taxa de reprodução das colônias (SLAA; SÁNCHEZ CHAVES e MALAGODI-BRAGA, 2006).

## **2.6. Marcadores moleculares como ferramenta de estudo para conservação**

Na década de 60, estudos de polimorfismos nas populações eram realizados por meio de marcadores baseados nos fenótipos dos indivíduos. Esses marcadores (conhecidos como marcadores morfológicos) representam um número restrito dentro de linhagens com acesso reduzido a poucas espécies. Além disso, são afetados pelas influências ambientais, o que torna as variantes fenotípicas raras, classificando as populações como geneticamente homogêneas (FUTUYMA, 1992; FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998).

Após o surgimento de técnicas modernas de biologia molecular, como por exemplo, a reação em cadeia de polimerase (PCR) descrita por Kary Mullis em meados da década de 80, surgiram diversos métodos para verificar polimorfismo genético de DNA. Esta técnica pode ser utilizada em diversas metodologias para detectar e analisar a variabilidade genética a nível molecular, inclusive em estudos relativos à conservação por meio dos marcadores moleculares. O princípio da utilização desses marcadores é baseado no dogma central da biologia molecular, com a vantagem de se obter polimorfismo genético, identificação direta do genótipo sem influência do ambiente e gerar maior quantidade de informação genética por loco (FALEIRO, 2007).

Os marcadores moleculares são locos gênicos que apresentam variabilidade e podem ser utilizados para detectar diferenças entre dois ou mais indivíduos, duas ou mais populações (AVISE, 1994; SILVA; RUSSO, 2000). Segundo Waldschmidt



(2000), constituem ferramentas de grande importância para o conhecimento biológico e populacional das espécies. Geralmente são marcadores neutros em relação a efeitos fenotípicos (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998). Esses marcadores têm sido utilizados em estudos evolutivos, ecológicos, filogenéticos e taxonômicos, como por exemplo, em estudo de análise genética em abelhas *Melipona quadrifasciata* Lep, por meio de marcadores RAPD, com objetivo de distinguir duas subespécies (WALDSCHMIDT et al., 2002). O desenvolvimento dos marcadores moleculares tem sido rápido e a possibilidade de amplificação dos segmentos de DNA por meio da PCR desvendou o paradigma da inferência do genótipo através do fenótipo (CASTIGLIONI; BICUDO, 2003).

A partir da década de 90, novas técnicas de biologia molecular passaram a fornecer maior número de marcadores do que os que estavam disponíveis. Com isso, acentuaram-se grandemente os estudos de sistemáticas, transmissão genética e genética de populações, inclusive em abelhas (HALL, 1991).

Estudos sobre a estrutura genética das populações podem ser utilizados para auxiliar no direcionamento de políticas de gerenciamento. Os parâmetros genético-populacionais estimados com base em marcadores moleculares podem ser úteis para a conservação da espécie, bem como na elaboração de uma regulamentação que vise seu uso sustentável. Sendo assim, estes podem atuar na detecção de grupos que apresentem diferentes magnitudes de variabilidade genética e que, portanto, requerem estratégias distintas para a conservação dos meliponíneos (AVISE; HAMRICK, 1996).

Entre os diversos marcadores genéticos existentes, os marcadores RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) têm sido eficazes para distinguir subespécies de várias espécies de abelhas (SUAZO; MACTIERNAN e HALL, 1998; WALDSCHMIDT, 2000; OLIVEIRA et al., 2004). Em 1990, surgiu a ideia de se utilizar *primers* de sequências curtas e arbitrária durante a reação de amplificação, eliminando o conhecimento prévio da sequência a ser amplificada (SUAZO; MACTIERNAN e HALL, 1998; LOPES et al., 2002). Esses *primers* quando submetidos a temperaturas ideais se hibridizam com sequências genômicas complementares. Essa técnica foi desenvolvida por Williams et al. (1990), o qual patentearam a tecnologia denominando-a RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) e Welsh e McClelland (1990), que propuseram o nome de AP-PCR (*Arbitrarily Primed Polymerase*

*Chain Reaction*), assim como DAF (*DNA Amplification Fingerprinting*), nome proposto por Caetano-Anollés Bassam e Gresshoff, (1991a,b), com o objetivo de detectar diferenças genéticas entre organismos.

A amplificação desse marcador ocorre quando no genoma existem dois sítios complementares ao *primer*, localizados em regiões opostas e distantes entre si. O iniciador pode encontrar várias regiões complementares à sua sequência, e consecutivamente, mostrar vários locos. Ferreira e Grattapaglia (1998) dizem que os *primers* arbitrários dirigem a síntese dos segmentos de DNA simultaneamente em diversos pontos do genoma, o qual será representado em bandas no gel. Os fragmentos obtidos são separados por eletroforese em gel de agarose.

O polimorfismo apresentado pelos marcadores RAPD é gerado a partir de mutações ou rearranjos entre dois sítios ou mesmo no próprio sítio de hibridização dos dois *primers* (LOPES et al., 2002), sendo de natureza binária, onde o segmento está presente ou ausente nos fragmentos ou bandas do gel. Evidências mostram diferenças de apenas um par de bases, ou seja, mutações em ponto, as quais são suficientes para causar a não complementariedade do *primer* com o sítio de iniciação, o que impede a amplificação de um segmento (CASTIGLIONI; BICUDO, 2003).

O número de marcadores RAPD amplificados e visualizados na eletroforese está teoricamente ligado ao comprimento do *primer*, assim como tamanho e complexidade do genoma. A técnica de RAPD produz segmentos a partir da amplificação onde a complementariedade entre o *primer* e o sítio de iniciação no DNA molde é mais elevada (CASTIGLIONI; BICUDO, 2003).

O RAPD caracteriza-se como um marcador genético dominante. Não é possível distinguir um indivíduo heterozigoto para determinado loco de um indivíduo homozigoto dominante, ou seja, olhando para o gel não tem como distinguir se o segmento originou-se de uma ou duas cópias de sequências amplificadas. Sendo no gel alelos de um mesmo loco revelados pela presença ou ausência de uma banda, o genótipo homozigoto recessivo é identificado pela ausência e o homozigoto e dominante e heterozigoto pela presença da banda no gel (Figura 3). O RAPD não apresenta sensibilidade quantitativa para diferenciar os dois casos, portanto o genótipo homozigoto recessivo (aa) é identificado pela ausência da banda no gel e o homozigoto dominante e

heterozigoto os quais revelam bandas no gel, é colocado na mesma classe fenotípica (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998; CASTIGLIONI; BICUDO, 2003).

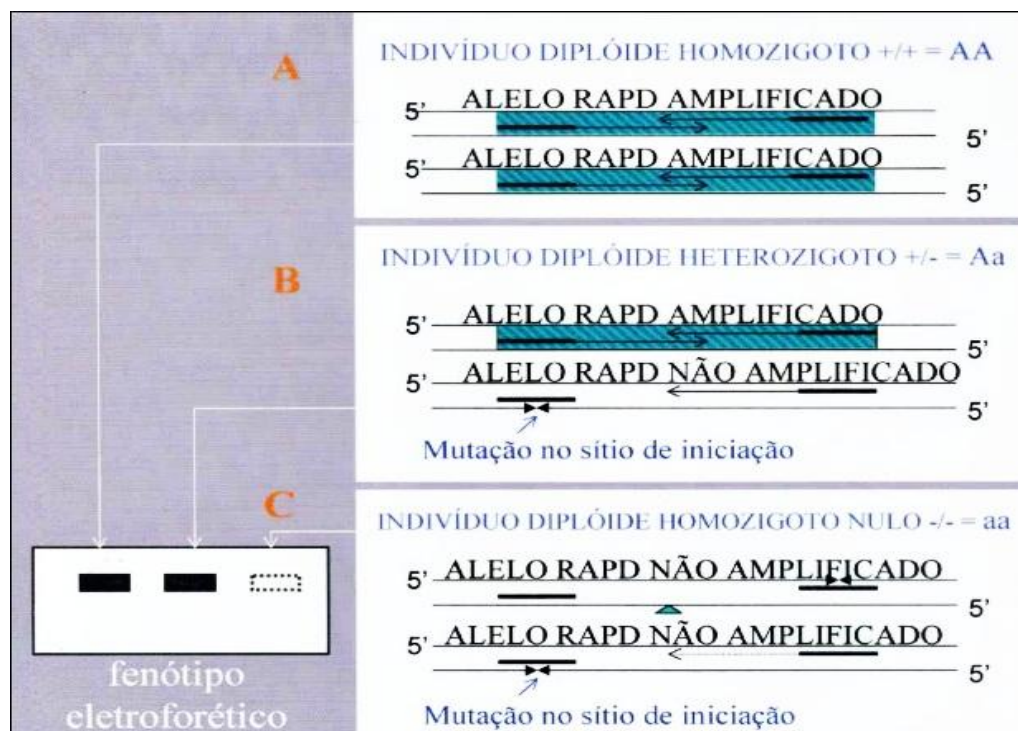


Figura 3 – Representação dos alelos de RAPD diferenciando os locus amplificados e não amplificados. Alelo AA (A) com dois alelos amplificados, alelo Aa (B) com apenas um alelo amplificado e alelo aa (C) não apresenta alelo amplificado. Fonte: Modificado do Dag/UFLA, 2013.

O RAPD apresenta algumas vantagens em relação a outros marcadores, como: baixo custo, técnica simples e acessível com sequências repetitivas do genoma e revela níveis altos de polimorfismo genético. Como já mencionado, não é necessário o

conhecimento prévio das sequências de nucleotídeos no qual flanqueia a sequência de DNA de interesse, pois um conjunto único de *primers* arbitrário pode ser utilizado para qualquer organismo. Assim, também não é necessária a construção de bancos genômicos. Essa técnica tem sido aplicada também quando há escassez de DNA, pois pode ser realizada a partir de uma baixa quantidade de material para análise genotípica do indivíduo. Outra vantagem é a geração de uma grande quantidade de polimorfismo de segmentos de DNA distribuídos no genoma. Entretanto, esses marcadores apresentam suas limitações, pois não permitem a distinção entre genótipos homocigotos e heterocigotos dominantes e a reprodutibilidade dos fragmentos gerados tem se mostrado sensíveis a pequenas modificações nos componentes da reação, como a quantidade e a qualidade de DNA, a concentração de íons magnésio e a concentração da enzima Taq polimerase. Portanto, deve-se buscar uma padronização da reação e a utilização de um método de separação dos fragmentos de alta resolução (LOPES et al., 2002; CASTIGLIONI; BICUDO, 2003) .

Esses marcadores têm sido utilizados em estudos populacionais. Em abelhas são utilizados como ferramenta para estudos da genética, sistemática, ecologia de populações, variabilidade genética e distância genética (SUAZO; MACTIERNAN e HALL, 1998; OLIVEIRA et al., 2004). Vasconcelos (1998), utilizando marcadores RAPD, determinou as distâncias genéticas entre populações de *Melipona rufiventris*, identificando a presença de três grupos entre as populações estudadas. Além disso, o marcador pode ser utilizado para identificar e discriminar indivíduos, cultivares, variedades, subespécies e espécies (NIGATO, 2000, WALDSCHMIDT, 2000, GHANY; ZAKI, 2003). Suzuki et al. (2006), também utilizaram esse marcador para analisar as similaridades genéticas em *Euglossa truncata*, assim como, Waldschmidt et al. (2002) que realizou análise genética de *Melipona quadrifasciata* Lep. e concluiu um alto grau de similaridade genética entre as abelhas provenientes de diferentes regiões. De acordo com a distância genética dois grupos podem ser distinguidos, um pertencente à subespécie *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* (região de Santa Catarina) e outro pertencente à subespécie *Melipona quadrifasciata anthidioides* (demais regiões amostradas).

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1. Amostragem**

Foram utilizados 49 espécimes de *Scaptotrigona* aff. *depilis*, provenientes de quatro municípios do Estado do Piauí: Dom Expedito Lopes, Bom Jesus, Cristino Castro e Santa Luz (Tabela 2 e Figura 4). As abelhas adultas foram coletadas diretamente na entrada das colônias de ninhos naturais ou em meliponários, as quais foram trazidas vivas para o laboratório ou fixadas em

etanol P.A. dentro de tubos criogênicos de 2,0 mL. Os tubos foram identificados e, em seguida, o material foi estocado em freezer a -20°C para posterior extração do DNA total.

Indivíduos extras foram coletados das colônias e encaminhados ao Laboratório de Zoologia da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto – USP, para identificação e confirmação da espécie.

Tabela 2 – Localização e quantidade de colônias de *Scaptotrigona* aff. *depilis* utilizadas. A origem das amostras indicam se as mesmas foram provenientes de meliponários (M) ou de ninhos naturais (N).

Município	Origem	Coordenadas geográficas	Nº de colônias	Nº de espécimes
Dom Expedito	M	6°57'33,14"S	9	30
Lopes		41°38'32,13"O		
Bom Jesus	M	9°04'00,10"S	1	07
		44°21'46,01"O		
Cristino Castro	N	8°49'03,74"S	1	10
		44°13'32,12"O		
Santa Luz	N	8°57'12,48"S	2	02
		44°07'49,95"O		
			<b>Total 49</b>	

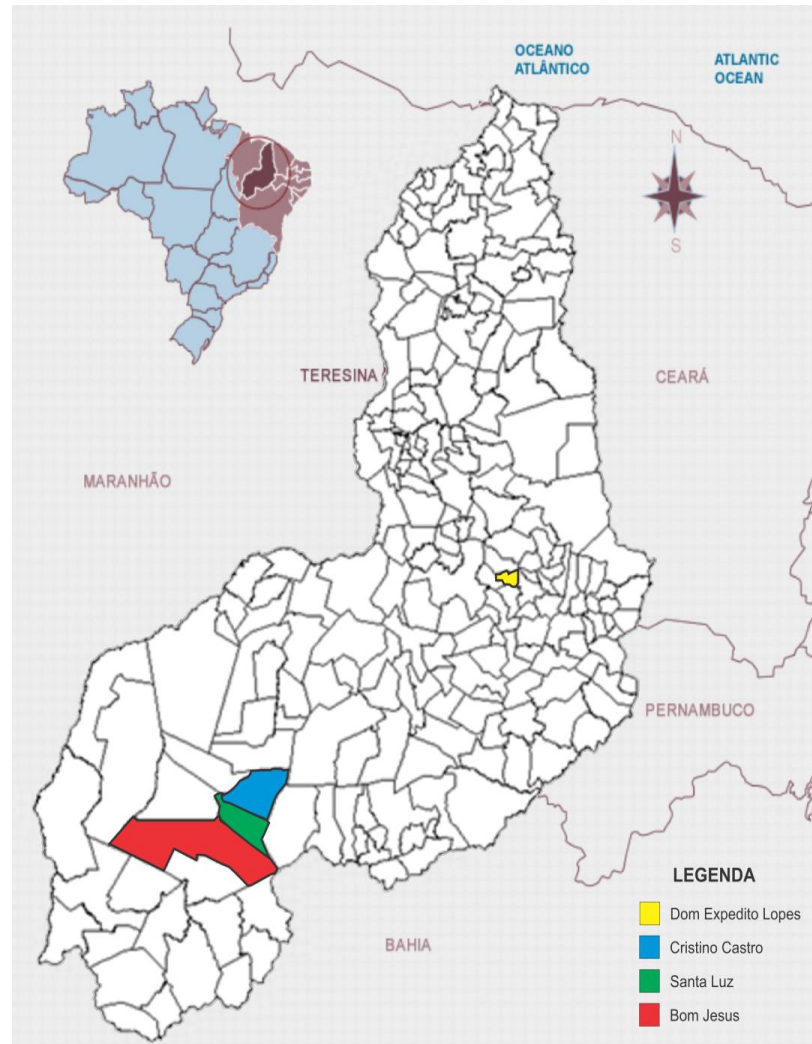


Figura 4 - Mapa do Piauí notando a localização dos municípios de onde foram retiradas as amostras de abelhas *Scaptotrigona* aff. *depilis* no período de 2013.

### 3.2. Extração de DNA

O DNA genômico das abelhas foi extraído no Laboratório de Genética da Universidade Federal do Piauí, Campus Profª. Cinobelina Elvas, através do kit de extração Qiagen QIAamp® DNA Mini Kit (250), com as modificações descritas abaixo.

Foram utilizados a cabeça e o tórax de cada indivíduo, os quais foram individualmente fragmentados com auxílio de bisturi e armazenados dentro de microtubos de 1,5 mL. A cada amostra foi adicionado 90 µL de tampão ATL e 20 µL de proteinase K fornecidos com o kit. Os microtubos com as amostras foram agitados em vórtex e incubados a 56°C por quatro horas. Após a incubação as amostras foram centrifugadas a 1 minuto a 8000 rpm. Em seguida adicionou-se 100 µL de tampão AL sendo o material agitado em vórtex e incubado a 70°C por 10 minutos. Após essa incubação, foram adicionado 100 µL de álcool absoluto, levando os microtubos ao vórtex e, em seguida a uma centrifugação a 1 minuto por 8000 rpm. O sobrenadante foi transferido para um novo tubo contendo um filtro de membrana de sílica. Em seguida foi centrifugado a 1 minuto a 8000 rpm. O filtrado foi descartado e adicionou-se 300 µL de tampão AW1, na qual foi levado à centrífuga por 1 minuto a 8000 rpm. O filtrado foi descartado e adicionou-se 500 µL de tampão AW2, também fornecido com o kit. Novamente o material foi centrifugado por 3 minutos a 14000 rpm. O tampão foi despejado (o processo foi repetido, para remoção total do tampão AW2) e o tubo com filtro foi colocado em outro microtubo de 1,5mL, no qual foi adicionado 50 µL de tampão AE para conservação do DNA. Nesta fase a amostra ficou 5 minutos em temperatura ambiente e em seguida foi à centrífuga a 1 minuto por 8000 rpm para a recuperação do DNA. As amostras foram estocadas em freezer a -20°C para procedimentos posteriores.

A integridade e a pureza do DNA extraídos foram verificadas por meio da quantificação em gel de agarose a 0,8%. Os géis foram corados com brometo de etídeo e em seguida visualizados em transluminador.

### 3.3. Marcadores RAPD



Inicialmente foram avaliados 34 marcadores RAPD, desenhados pela University of British Columbia (Tabela 3) os quais foram testados em amostras de DNA escolhidas aleatoriamente. Cada um foi testado em Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) em volume final de 10 µL contendo os seguintes componentes: tampão de PCR a 1×; MgCl<sub>2</sub> a 3,0 mM; dNTP a 0,8 µM; *primer* a 0,8 µM, 1 U de Taq DNA polimerase; 0,5 µL (~5 ng) de DNA genômico e água ultrapura q.s.p. 10 µL. O programa de amplificação consistiu de desnaturação inicial de 5 minutos a 94°C, seguida de 40 ciclos com desnaturação de 40 segundos a 94°C, 1 minuto a 37°C para anelamento e 2 minutos a 72°C para extensão. Foi realizada uma etapa de extensão final de 10 minutos a 72°C. A reação foi realizada em termociclador MG96 (Biocycler).

Tabela 3 - Marcadores RAPD para a diversidade e estrutura genética das *Scaptotrigona* aff. *depilis*. Todas as reações foram realizadas com temperatura de anelamento a 37°C, Teresina-PI, 2013.

<b>Marcador</b>	<b>Sequência</b>
UBC-01	5'-CCTGGGCTTC-3'
UBC-13	5'-CCTGGGTGGA-3'
UBC-040	5'-TTACCTGGGC-3'
UBC-088	5'-CGGGGGATGG-3'
UBC-097	5'-ATCTGCGAGC-3'
UBC-125	5'-GCGGTTGAGG-3'
UBC-158	5'-TAGCCGTGGC-3'
UBC-180	5'-GGGCCACGCT-3'
UBC-197	5'-TCCCCGTTCC-3'

UBC-243	5'-GGGTGAACCG-3'
UBC-247	5'-TACCGACGGA-3'
UBC-248	5'-GAGTAAGCGG-3'
UBC-270	5'-TGCGCGCGGG-3'
UBC-272	5'-AGCGGGCCAA-3'
UBC-321	5'-ATCTAGGGAC-3'
UBC-358	5'-GGTCAGGCC-3'
UBC-378	5'-GACAACAGGA-3'
UBC-386	5'-TGTAAGCTCG-3'
UBC-409	5'-TAGGCGGCGG-3'
UBC-436	5'-GAGGGGGCCA-3'
UBC-386	5'-TGTAAGCTCG-3'
UBC-474	5'-AGGCGGGAAC-3'
UBC-494	5'-TGATGCTGTC-3'
UBC-506	5'-CCTTTCCCGA-3'
UBC-529	5'-CACTCCTACA-3'
UBC-549	5'-CCGGCTTATG-3'
UBC-556	5'-ATGGATGACG-3'
UBC-564	5'-CGGCGTTACG-3'
UBC-573	5'-CCCTAATCAG-3'
UBC-626	5'-CCAAGCCCGG-3'
UBC-643	5'-ATAAGCGGTG-3'
UBC-663	5'-CGTATAGCCG-3'
UBC-686	5'-CGTGACAGGA-3'
UBC-691	5'-AAACCAGGCG-3'

---

### 3.4. Genotipagem

A genotipagem foi realizada por eletroforese em gel de agarose a 1,5%, seguida de banho em brometo de etídeo e visualização no transluminador L.PIX (Loccus Biotecnologia).

As informações moleculares obtidas nos géis foram convertidas em dados binários, onde a presença e ausência de bandas foram codificadas, respectivamente com os valores 1 e 0.

### 3.5. Análise estatística

A partir dos dados gerados em análise direta no gel, foi possível verificar a taxa de polimorfismo após a contagem de quantos locos polimórficos estavam presentes entre o número total de locos amplificadas. Além disso, a taxa de polimorfismo foi avaliada para cada população isoladamente.

O programa HICKORY 1.1, que implementa o método Bayesiano descrito por Holsinger; Lewis e Dey, (2002), foi usado para estimar heterozigosidades ( $H_S$ ),  $\theta_B$  (um análogo  $F_{ST}$ ) entre locais de amostragem e o  $G_{ST-B}$  análogo ao  $G_{ST}$  de Nei.

A análise de variância molecular (AMOVA) para as quatro populações foi realizado para determinar  $\Phi_{ST}$ , outro análogo  $F_{ST}$ , utilizando ARLEQUIN 3.0 (EXCOFFIER; LAVAL; SCHNEIDER, 2005). O AMOVA foi configurado agrupando-se as populações em (a) região central (Dom Expedito Lopes) e (b) região sul do Piauí (Bom Jesus, Cristino Castro e Santa Luz).

O programa STRUCTURE versão 2.2 (PRITCHARD; STEPHENS; DONNELLY, 2000) foi utilizado para definir o número de grupos ( $K$ ) mais provável nas amostras coletadas, por meio de métodos bayesianos sem informações a “priori” sobre a origem das amostras. Foram utilizadas 100.000 simulações de Cadeias de Markov Monte Carlo com *burn in* de 200.000 e modelo de ancestralidade *no admixture*. Foram testados valores de  $K$  variando de 1 a 8. A determinação do  $K$  mais provável em relação aos propostos foi realizada utilizando valores de  $\Delta K$  (EVANNO; REGNAULT; GOUDET, 2005).

A similaridade genética entre as amostras foi estimada utilizando o programa PAST (HAMMER; HARPER; RYAN, 2001) de acordo com o coeficiente de similaridade de Jaccard. A análise de agrupamento foi realizada no conjunto de dados para a

construção de um dendrograma utilizando o método de Ligação Média entre Grupos (UPGMA) para determinar a relação genética entre as amostras. Foram utilizadas 10.000 repetições de bootstrap para verificar a confiabilidade do dendrograma gerado.

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Perfil dos marcadores RAPD

Dos 34 *primers* de RAPD testados, apenas cinco apresentaram sucesso nas ampliações e presença de polimorfismos. Destes marcadores foram amplificados um total de 113 bandas (*locos*), sendo 89 polimórficas (78,76%). Os detalhes de cada marcador encontram-se descritos na Tabela 4, e o padrão de bandas de RAPD obtido pelos mesmos está representado na Figura 5, pelo *primer* UBC 125. Foi observada uma variação de 17 a 28 bandas amplificadas, com média de 22,6 por *primer*.

Tabela 4 – *Primers* de RAPD selecionados, com suas respectivas sequências, número de fragmentos amplificados e polimórficos. Teresina, PI, 2013.

<i>Primer</i>	Sequências	Nº de fragmentos	
		Amplificados	Polimórficos
UBC-13	5'-CCTGGGTGGA-3'	17	13
UBC-125	5'-GCGGTTGAGG-3'	28	24
UBC-243	5'-GGGTGAACCG-3'	24	20
UBC-272	5'-AGCGGGCCAA-3'	18	12
UBC-564	5'-CGGCGTTACG-3'	26	20
Total		113	89

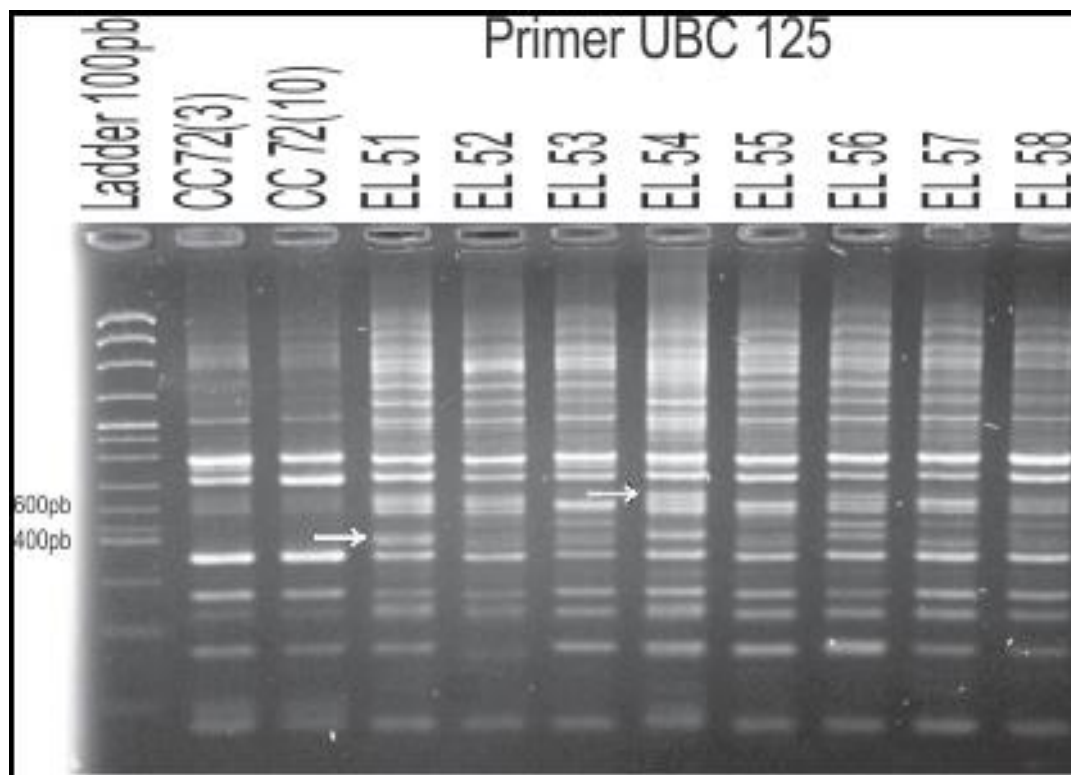


Figura 5 - Exemplo de um padrão de amplificação dos fragmentos RAPD obtidos pelo *primer* UBC-125 com o DNA das *Scaptotrigona aff. depilis* de Cristino Castro (CC) e Dom Expedito Lopes (EL), 2013.

#### 4.2. Diversidade genética

Os índices de diversidade genética dentro de cada população ( $h_s$ ) de *S. depilis*, variaram de 0,172 a 0,190 com média geral ( $H_s$ ) entre as populações de 0,179 (Tabela 5).

Tabela 5 - Índices de diversidade genética ( $h_s$ ) para as quatro populações de *Scaptotrigona aff. depilis*, Teresina, PI, 2013.

Populações	hs
Bom Jesus	0,172
Cristino Castro	0,176
Dom Expedito Lopes	0,177
Santa Luz	0,190
Média ( $H_s$ )	0,179

O coeficiente de diferenciação gênica  $G_{ST-B}$  foi de 0,5546, demonstrando 55,46% da variabilidade genética entre populações. Assim a diversidade gênica das populações ( $H_s = 0,1786$ ) foi responsável por 44,54% da diversidade gênica total.

As análises de diferenciação populacional mostraram que as populações estão altamente diferenciadas, com  $\theta_B$  igual a 0,6217.

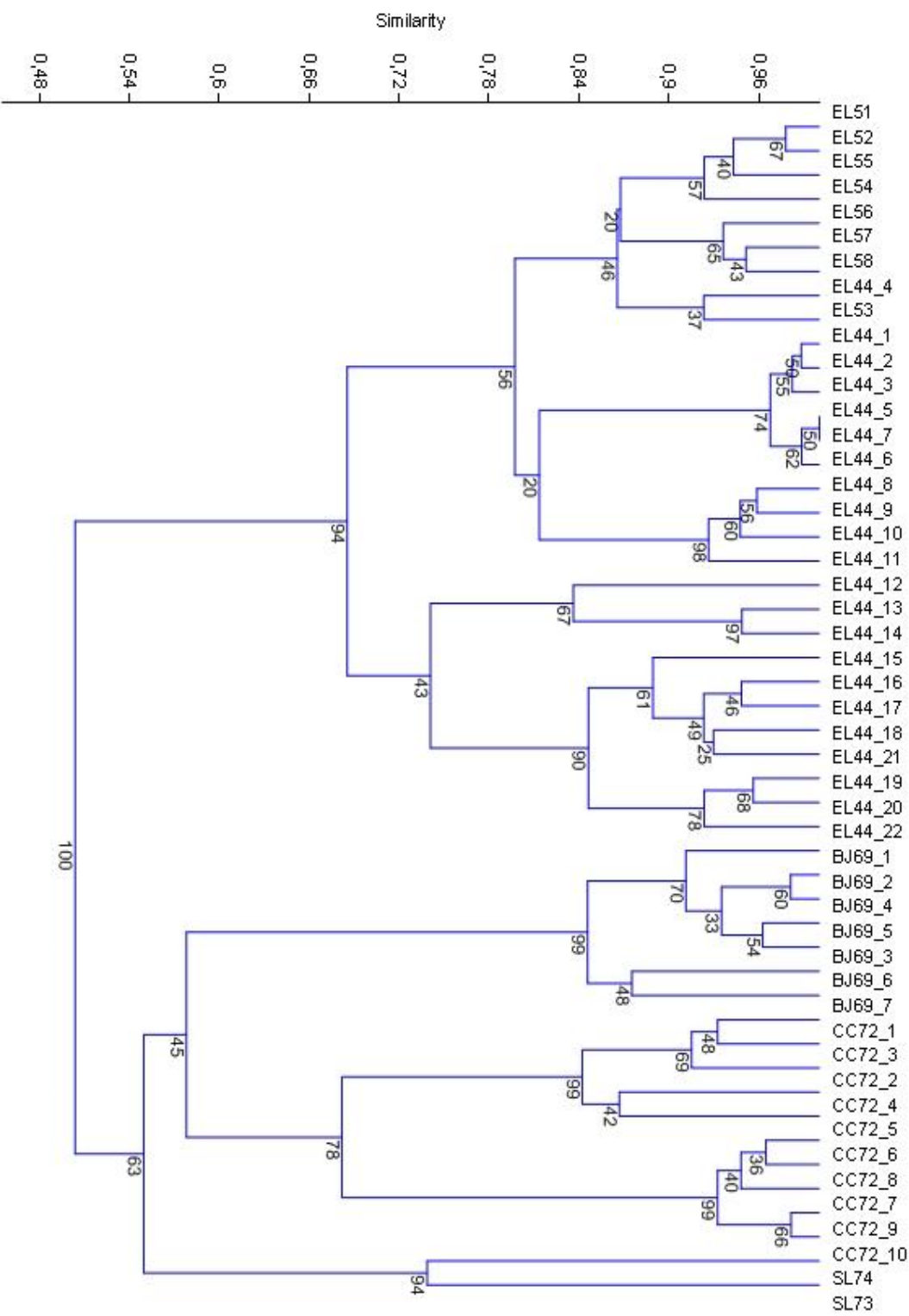
#### 4.3. Similaridade genética e estrutura populacional

Os índices de similaridade obtidos por meio do coeficiente de Jaccard entre as populações (ANEXO 1) revelou variação de 0,25 a 1,0, apresentando média de 0,62 ( $\pm 0,1536$ ). O par mais similar ocorreu entre os indivíduos EL44(5) e EL44(7) da população de Dom Expedito Lopes enquanto os mais dissimilares foram registrados entre os indivíduos EL44\_4 com CC72\_3, CC72\_4 e CC72\_5, da população de Dom Expedito Lopes com o indivíduo da população de Cristino Castro, respectivamente.

Através das análises de agrupamento foi obtido um dendrograma onde constatou-se a existência de quatro agrupamentos distintos, concordando com a distribuição geográfica dos quatro municípios amostrados (Figura 6). Um deles foi constituído pela população de Dom Expedito Lopes, com 30 amostras situadas na região central do estado do Piauí. O segundo grupo foi formado



por sete amostras oriundas de Bom Jesus na região do Sul do Piauí. O terceiro, também foi proveniente do Sul do Piauí, com dez amostras de Cristino Castro. O quarto grupo apresentou as duas amostras de Santa Luz (Figura 6).



abelhas, utilizando o índice de similaridade de

Jaccard, e o método de agrupamento UPGMA, Santa Luz (SL), Bom Jesus (BJ), Cristino Castro (CC) e Dom Exedito Lopes (EL).

O programa STRUCTURE foi utilizado com simulações de populações variando de  $K=1$  a  $K=8$  e mostrou que o melhor valor de  $\Delta K$  para explicar o conjunto de dados fornecidos foi igual a 2 (Figura 7). As análises mostraram ainda que entre a região central e o sul do Piauí o fluxo gênico é altamente restrito. Apenas alguns indivíduos representados na figura (indivíduos 1, 2, 14, 40 e 41) mostraram ter seu perfil genético compartilhado entre ambas as regiões (Figura 8).

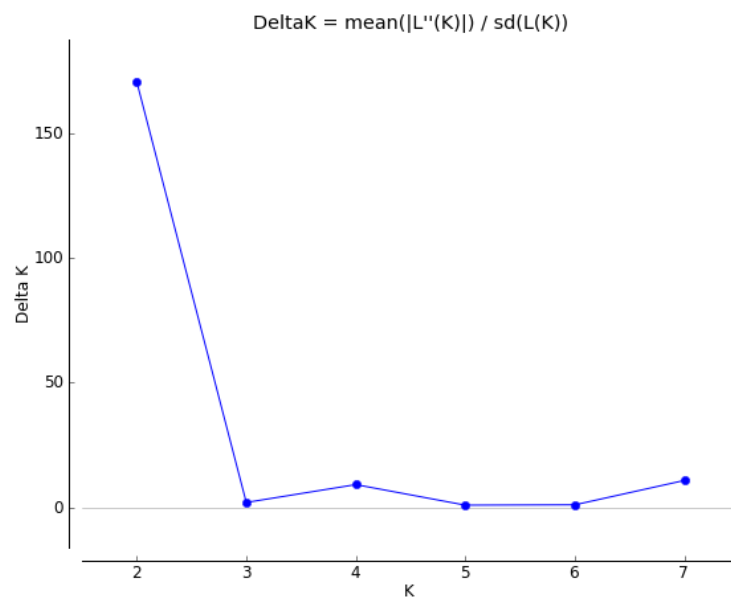


Figura 7 - Representação gráfica do  $\Delta K$  mais provável de acordo com Evanno; Regnault e Goudet, (2005).

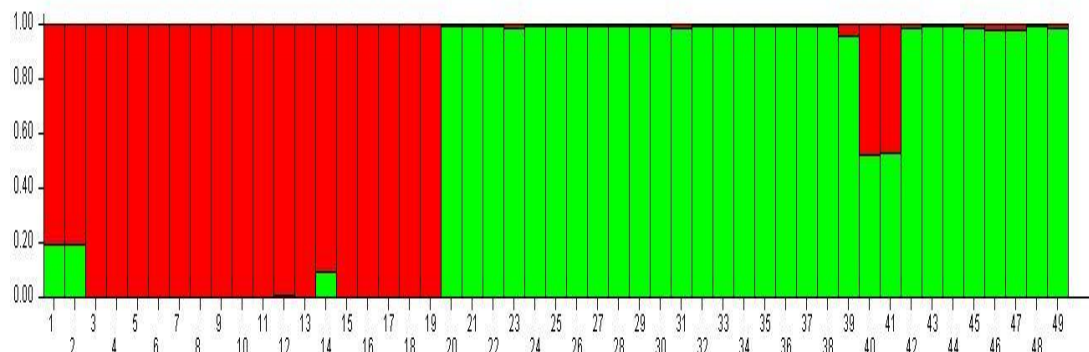


Figura 8 - Designação das populações de *Scaptotrigona aff. depilis* usando a estrutura baseada na alocação das amostras para K=2. 1 e 2 - Santa Luz, 3 a 9 - Bom Jesus, 10 a 19 - Cristino Castro, 20 a 49 - Dom Expedito Lopes.

#### 4.4. Análise de variância molecular (AMOVA)

A diferenciação genética existente entre as populações amostradas foi altamente significativa ( $\Phi_{ST} = 0,60$ ,  $p < 0,001$ ), correspondendo a 60% da variação genética total (Tabela 6). A análise de variância molecular mostra que a maior parte da diversidade está entre populações dentro de grupos (42,36%) e a fração menor está entre grupos (18,23%) (Tabela 6).

Tabela 6 - Resumo da análise de variância molecular (AMOVA) para as quatro populações de *Scaptotrigona aff. depilis.*, com todas as amostras de cada colônia, Teresina, PI, 2013.

Fonte de variação	GL	SQ	Comp. de variância	% Total	$\Phi_{ST}$	p
Entre grupos	1	201,6	3,1551 Va	18,23	0,60	< 0,001
Entre populações	2	93,9	7,3330 Vb	42,36		

dentro de grupos				
Dentro de populações	45	306,9	6,8214 Vc	39,41
Média	48	602,5	17,3097	

---

GL: graus de liberdade; SQ: soma dos quadrados;  $\Phi_{ST}$ : variabilidade genética; p: significância ao percentual de 0,001.

## 5. DISCUSSÃO

As amostras de *S. aff. depilis* estudadas apresentaram uma variabilidade genética com alto índice de polimorfismo detectado (78,76%). Em estudos com *M. quadrifasciata*, 251 fragmentos de RAPD reproduzidos por 29 *primers* apresentaram 112 fragmentos polimórficos (44,62%) (WALDSCHMIDT et al., 2002). Esses resultados mostram que, no presente estudo, com um número reduzido de marcadores, foi possível obter um número significativo de fragmentos amplificados (113), além do índice de polimorfismo ter sido mais representativo do que em outros estudos com abelhas-sem-ferrão. Esta estimativa demonstra a qualidade dos marcadores em termos informativos.

Além disso, a informatividade dos marcadores pode ser observada pelos valores de diversidade estimados que, apesar de baixos, estão de acordo com os encontrados em outras espécies de abelhas-sem-ferrão. A média da estimativa de diversidade genética ( $H_S$ ) foi de 0,1786 entre as populações. Em estudo com *M. quadrifasciata* foi obtido valor de 0,18 utilizando marcadores ISSR. Esses níveis baixos, no entanto, podem ser explicados pelo sistema de determinação do sexo, comportamento social e características ecológicas. Outro motivo poderia estar relacionada com a estabilidade ambiental e as barreiras geográficas, na qual podem impedir fluxo gênico entre indivíduos e levar ao aumento da endogamia (NASCIMENTO, 2008).

As análises de similaridade genética corroboram com a posição geográfica das amostras. Os agrupamentos formados no dendrograma revelaram que as amostras provenientes de Bom Jesus não mostraram subdivisões, ao contrário das amostras de Dom Expedito Lopes e Cristino Castro. As amostras de Dom Expedito Lopes, mesmo com indivíduos provenientes da mesma colônia, formaram três subgrupos, assim como as de Cristino Castro, com dois subgrupos dentro dos grupos. Uma das explicações para esses resultados seria a poliandria facultativa, que consiste em múltiplos acasalamentos em rainhas, e/ou poliginia, quando uma ou mais rainhas são capazes de pôr ovos na mesma colônia. Paxton (2000), empregando marcadores microssatélites, demonstrou a ocorrência de poliandria facultativa em *Scaptotrigona postica*. A poliandria foi documentada para *S. postica* com a rainha inseminada por um a seis machos (PAXTON et al., 1999). Foi também registrada para *M. scutellaris* com 34,5% dos acasalamentos ocorrendo com pelo menos dois machos (CARVALHO, 2001). Em relação à poliginia nas abelhas-sem-ferrão, a

presença de várias rainhas em uma colônia é comum, entretanto, apenas uma rainha é fisogástrica. Porém, a presença de mais de uma rainha foi documentada em *M. marginata*, com duas rainhas (KLEINERT-GIOVANNINI, 1989).

As populações revelaram similaridade alta o que reflete a baixa variabilidade genética dentro das mesmas. Pouca variabilidade genética tem sido encontrada em estudos realizados com meliponíneos sendo um dos motivos, a sua constituição genética haplodiploide. Assim, o baixo grau de variabilidade genética entre os meliponíneos pode ser decorrente de uma maior efetividade da seleção em alelos recessivos nos machos haploides (MACHADO, 1982).

Outro fator que pode colaborar para a diminuição da variabilidade genética em pequenas populações é a endogamia e o fluxo gênico reduzido. Como há limitação na dispersão de muitas espécies, os acasalamentos entre indivíduos aparentados podem ocorrer em alta frequência.

Resultados indicando alto grau de similaridade genética entre as abelhas provenientes de diferentes regiões foi encontrado também por Waldschmidt et al. (2002). Estudos entre machos de *E. truncata* (Hymenoptera, Apidae) revelada por marcadores RAPD, mostraram altos valores de similaridades, sendo o maior valor encontrado entre indivíduos do mesmo local (SUZUKI et al., 2004). Além disto, os resultados do presente estudo ainda são apoiados pelas análises do programa STRUCTURE, que possui a capacidade de inferir o número provável de subpopulações mesmo quando a diferenciação genética entre os grupos é baixa e um número de locos utilizada é relativamente pequeno (SERRANO et al., 2009). No presente trabalho, foram identificadas duas populações fortemente estruturadas entre as regiões central e sul do Piauí ( $K = 2$ ).

O fluxo gênico é um dos fatores que determina a diversidade genética entre e dentro das populações. Quando à concentração da variabilidade genética dentro dos grupos é maior, possivelmente o fluxo gênico é restrito ou ausente entre indivíduos dos diferentes grupos, resultando no alto índice de endogamia dentro das localidades (NASCIMENTO, 2008). A diferenciação genética entre as populações do Piauí amostras indica baixo fluxo gênico ao longo dos anos, o que é justificado pelo processo de reprodução dos Meliponini que ocorre por enxameagem progressiva. Esta consiste num longo período de dependência entre a colônia mãe e colônia filha (NOGUEIRA NETO, 1997). A colônia-mãe provê recursos como cera e alimento

para o novo sítio de nidificação, desse modo às fêmeas reprodutivas não se dispersam durante a formação de novas colônias. Alves e Imperatriz-Foseca (2010) afirmaram que essa estreita relação no início do ciclo das colônias filhas impede que elas se dispersem para grandes distâncias. As colônias de abelhas-sem-ferrão são dependentes da existência de árvores, que abrigam seus ninhos e as protegem de predadores, e dos recursos florais. Conseqüentemente, com a perda de habitats, populações de espécies de abelhas tem se tornado cada vez menores, fragmentadas e separadas umas das outras por grandes distâncias, levando a uma redução da diversidade genética.

Populações de abelhas das espécies *Tetragonisca angustula* e *Bombus morio*, apresentam uma baixa distância de voo das rainhas, sendo que esse fato está ligado à estratégia de nidificação. A baixa dispersão das rainhas e/ou a grande distância entre as populações, faz com que a hipótese do fluxo gênico seja uma distribuição contínua entre essas populações (FRANCISCO, 2012). Os machos de *Scaptotrigona postica* Latreille, apresentam um raio de voo de pouco mais de 600 metros (KERR, 1962). Em *M. scutellaris* a distância de dispersão (migração) das colônias é determinada pela capacidade de voo dos machos que nessa espécie é de cerca de 1km (CARVALHO-ZILSE; KERR, 2004). Esses dados podem justificar o fato dessas populações de abelhas se manterem geneticamente distintas. Apesar das três populações (Cristino Castro, Santa Luz e Bom Jesus) estarem geograficamente próximas uma da outra, as distâncias geográficas entre as mesmas ultrapassam os valores acima descritos para o voo das abelhas.

As estatísticas análogas de  $F_{ST}$  também evidenciaram o isolamento entre as populações ( $\theta_B = 0,62$  e  $\Phi_{ST} = 0,60$ ). Primeiramente, ambas as estimativas evidenciaram valores muito próximos, mesmo sendo obtidas por meio de diferentes algoritmos. Além disto, de acordo com Wright (1978) valores de  $F_{ST}$  acima de 0,25 indicam diferenciação genética muito alta, que pode ser causada por seleção natural, deriva genica e/ou migração. Apesar dos valores estarem bem acima dos geralmente encontrados em estudos de marcadores moleculares, trabalhos com outras abelhas-sem-ferrão já chegaram a resultados semelhantes. Em abelhas jataí (*T. angustula*) o grau de diferenciação entre as colônias ( $F_{ST}$ ) obtido por meio de isoenzimas foi de 0,672 (STUCHI, 2006).



A alta estruturação genética sugere que espécies que apresentam baixa capacidade de dispersão, ou grande dependência do habitat, fiquem confinadas, levando à interrupção do fluxo gênico e acentuando os efeitos negativos da deriva genética em populações com número reduzido de colônias (BEEBEE; ROWE, 2004). A distância de voo de diversas espécies de abelhas fornece dados que auxiliam no estudo da área de reprodução e de distribuição da população geneticamente ativa da região estudada. O raio de ação das castas reprodutivas pode determinar se a população está reprodutivamente isolada de outras populações ou se a mesma está em equilíbrio e livre de extinção (AIDAR; KERR, 2001).

Um outro fator que pode estar contribuindo para a alta estruturação é a redução do habitat natural. Segundo Michener (2000), a degradação ambiental provoca a diminuição nas populações de abelhas em todo o mundo. No estado do Piauí, as populações de abelhas têm sido bastante afetadas pelos desmatamentos. A diminuição dessas áreas resulta na redução do tamanho das populações que vivem e habitam esses locais. De acordo com o Ministério do Meio Ambiente (2011), o Piauí é considerado um dos recordistas em desmatamento, em razão principalmente da cultura da soja. O percentual da área original do cerrado no Piauí é somente 37% dos 93.424 Km<sup>2</sup> original. Esse índice ocasiona grandes perdas de biodiversidade, e conseqüentemente queda da variabilidade genética das espécies de abelhas. As amostras do Sul do Piauí foram coletadas em regiões afetadas pelo desmatamento, principalmente devido à plantação de soja. Portanto, diante dos resultados obtidos podemos concluir que essas populações também podem estar sendo afetadas por esses desmatamentos.

Os resultados obtidos nesse estudo mostraram que o marcador RAPD permitiu a detecção de polimorfismo genético possibilitando a obtenção de informações sobre a diversidade e estruturação genética de *S. depilis*. Outros estudos moleculares mais detalhados, com um maior número de amostras e/ou com outros tipos de marcadores poderão acrescentar mais dados para a melhor compreensão da dinâmica populacional dessas abelhas. Essas informações serão fundamentais para o desenvolvimento de métodos de manejo das abelhas e de manutenção dos fragmentos das mata.

## 6. CONCLUSÃO

Os marcadores RAPD foram eficientes no estudo de diversidade genética entre as populações naturais de *Scaptotrigona* aff. *depilis*, detectando alto grau de polimorfismo.

Dentro das populações constatou-se baixo nível de variabilidade genética. Além disso as análises de diferenciação interpopulacional mostraram que estas estão altamente diferenciadas, fato que pode estar relacionado (I) à biologia reprodutiva da espécie, que consiste num longo período de dependência entre a colônia mãe e colônia filha, (II) à incapacidade de voo dos machos a longa distância e/ou (III) ao impacto do homem no ambiente, levando à rápida perda de diversidade genética dessas abelhas.

A presença de grande estruturação genética entre as populações analisadas deve ser levada em consideração no desenvolvimento de estratégias que visem à conservação dessas abelhas e dos habitats que elas ocupam.



## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIDAR, D.S.; KERR, W.E. 2001. Número de alelos X0 em uma população de *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lepeletier (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). **Revista Brasileira de Zoologia**, n. 18(4), p. 1237 – 1244.

ALVES, R. M. O.; SOUZA, B. A.; CARVALHO, C. A. L.; JUSTINA, G. D. 2005. Custo de produção de mel: uma proposta para abelhas africanizadas e meliponíneos. **Série meliponicultura**, n. 2, Cruz das Almas: Universidade Federal da Bahia/SEAGRI-BA, 14p.

ALVES, D.A.; IMPERATRIZ-FOSECA, V.L. 2010. **Rainhas e machos em abelhas-sem-ferrão: o que eles nos ensinam?** Laboratório de Abelhas, Instituto de Biociências, USP, São Paulo.

ARAÚJO, M.J.A.M.; DUTRA, R.P.; COSTA, G.C.; REIS, A.S.; ASSUNÇÃO, A.K.M.; LIBÉRIO, S.A.; MACIEL, M.C.G.; SILVA, L.A.; GUERRA, R.N.M.; RIBEIRO, M.N.S.; NASCIMENTO, F.R.F. 2010. Efeito do tratamento com própolis de *Scaptotrigona aff. postica* sobre o desenvolvimento do tumor de Ehrlich em camundongos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, n. 20(4), p. 580-587.

ASCHER J., EARDLEY C., GRISWOLD T., MELO G., POLASZEK A., RUGGIERO M., WILLIAMS P., WALKER K., WARRIT N. 2008. **World Bee Checklist Project**. Disponível em: <http://www.itis.gov/beechecklist.html>. Acesso em: 10/02/2013.

AVISE, J.C. 1994. Molecular markers, natural history and evolution. Chapman & Hall, New York. 511 p. 4 ed.

AVISE, J.C.; HAMRICK, J.L. 1996. **Conservation genetics: case histories from nature**. New York: Chapman & Hall, 556p.

BEEBEE, T. J. C.; ROWE, G. 2004. Conservation genetics. In: introduction to molecular ecology. **Oxford University Press**, New York, p. 199-222.

BELLUSCI, S; MARQUES, M.D. 2001. Circadian Activity Rhythm of the Foragers of a Eusocial Bee (*Scaptotrigona aff. depilis*, Hymenoptera, Apidae, Meliponinae) outside the Nest. **Biological Rhythm Research**, v. 32, n. 2, pp. 117–124.

BRASIL, Ministério Ambiental do Paraná. 2009. **Plano de Conservação para Abelhas Sociais Nativas sem ferrão**. Paraná, 27p.

CAETANO-ANOLLÉS; BASSAM, B. J.; GRESSHOFF, P. M. 1991a. DNA amplification fingerprinting using very short arbitrary oligonucleotide *primers*. **Biotechnology**, v. 9, p. 553-7.

CAETANO-ANOLLÉS, BASSAM, B. J., GRESSHOFF, P. M. 1991b. DNA amplification fingerprinting: a strategy for genome analysis. **Plant Molecular Biology**, v. 4, p. 295-307.

CAMARGO, J. M. F.; PEDRO, S. R. M. 2013. Meliponini Lepeletier, 1836. In Moure, J. S., Urban, D. & Melo, G. A. R. (Orgs). Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region - online version. Available at <http://www.moure.cria.org.br/catalogue>. Accessed Jun/24/2013

CAMPOS, L. A. O. 1994. Meliponicultura. In: X CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA. **Anais**, Goiás, Brasil, p 33-36.

CARVALHO, G. A. 2001. The Number of Sex Alleles (CSD) in a Bee Population and its Pratical Importance (Hymenoptera: Apidae). **Journal of Hymenoptera Research**, v. 10(1), p. 10-15.

CARVALHO, C. A. L. de; ALVES, R. M. de O.; SOUZA, B. de A. 2003. **Criação de abelhas-sem-ferrão: aspectos práticos**. Cruz das Almas: Universidade Federal da Bahia/SEAGRI – BA. 42p.

CARVALHO-ZILSE, G. A.; KERR, W.E. 2004. Substituição natural de rainhas fisogástricas e distância de vôo dos machos em Tiuba (*Melipona compressipes fasciculata* Smith, 1854) e Uruçu (*Melipona scutellaris* Latreille, 1811) (Apidae, Meliponini). **Acta Amazonica**, v. 34(4), p. 649 – 652.

CASTELLETI, C.H.M.; SILVA, J.M.C. TABARELLI, M.; SANTOS, A.M.M. 2000. **Quanto ainda resta da caatinga? Uma estimativa preliminar**. In: SILVA, J.M.; TABARELLI, M.; FONSECA, M.T.; LINS, L.V. (Orgs.). 2004. Biodiversidade da Caatinga: áreas e ações prioritárias para a conservação. Ministério do Meio Ambiente/Universidade Federal de Pernambuco, Brasília, p. 91-100.

CASTIGLIONI, L.; BICUDO, H. E. M. C. 2003. A Técnica de RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) e suas aplicações para estudos em genética molecular. **Revista UNORP**, v. 3 (2), p. 63-77.

CERUTI, F.C.; LÁZZARI, S.M.N. 2003. Utilização de bioensaios e marcadores moleculares para detecção da resistência de coleópteros de produtos armazenados a inseticidas. **Revista Brasileira de Entomologia**. v. 47(3), p. 447-453.

- CROZIER, R.H. 1977. Evolutionary Genetics of the Hymenoptera. **Annual Review of Entomology**, v. 22, p. 263-288.
- CRUZ, D.O.; FREITAS, B.M.; SILVA, L.A.; SILVA, E.M.S; BONFIM, I.G.A. 2003. Adaptação e comportamento de pastejo da abelha jandaíra (*Melipona subnitida* Ducke) em ambiente protegido. **Acta Scientiarum**, v. 26, p. 293-298.
- CRUZ, D.O.; CAMPOS, L.A.O. 2009. Polinização por abelhas em cultivos protegidos. **Revista Brasileira Agrociência**, Pelotas, v.15, n. 1-4, p. 5-10.
- DOWLING, T.E.; MORITZ, C.; PALMER, J.D.; RIESEBERG, L.H. 1996. **Nucleic acids III: Analysis of fragments and restriction sites**. In: D.M. Hillis, C. Moritz; B.K. Mable (eds.), *Molecular systematics*, 2 ed. Sunderland, Sinauer Associates Inc, 655p.
- DIAS, C.C.M. 2011. **Desenvolvimento e caracterização de marcadores microssatélites de *Scaptotrigona aff depilis* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)**. 96 p. Dissertação (Mestrado em Genética) Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP, São Paulo.
- EVANNO, G.; REGNAULT, S.; GOUDET, J. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. **Molecular Ecology**. v. 14, p. 2611-2620.
- EXCOFFIER, L.; LAVAL, G.; SCHNEIDER, S. 2005. Arlequin (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis. **Evolutionary Bioinformatics Online**, v. 1, p. 47-50.
- FALEIRO, F.G. 2007. **Marcadores genético moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos**. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 107p.
- FARIA, L.B. de; ALEIXO, K.P.; GARÓFALO, C.A.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L.; SILVA, C.I. da. 2012. Foraging of *Scaptotrigona aff. depilis* (Hymenoptera, Apidae) in an Urbanized Area: Seasonality in Resource Availability and Visited Plants. **Psyche**, 12 p.
- FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. 1998. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3 ed, Embrapa CENARGEN, Brasília, DF.
- FRANCISCO, F.O. 2012. **Estrutura e diversidade genética em populações insulares e continentais de abelhas na Mata Atlântica**. 170 p. Tese (Doutorado em Ciências) Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo.

FREITAS, B. M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; MEDINA, L.M.; KLEINERT, A. M. P.; GALETTO, L.; NATES-PARRA, G.; QUEZADA-EUÁN, J.J.G. 2009. Diversity, threats and conservation of native bees in the Neotropics. **Apidologie**, v. 40, p. 332–346.

FUTUYMA, D. J. 1992. **Biologia Evolutiva**. 2. ed. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética.

GHANY, A.G.A.A.; ZAKI, E.A. 2003. DNA Sequences of RAPD fragments in the Egyptian cotton *Gossypium barbadense*. **Afr. J. African Journal of Biotechnology**, v. 2, p. 129-132.

GONÇALVES, R.C.; MARQUES, M.D. 2012. Ritmos de populações: o caso das abelhas-sem-ferrão. **Revista da Biologia**, v. 9(3), p. 53–57.

GUIMARÃES, R.A. 2006. **Abelhas (Hymenoptera: Apoidea) visitantes das flores de goiaba (*Psidium guajava* L.), laranja (*Citrus sinensis* L.) e tangerina (*Citrus reticulata* B.) em pomares comerciais em Salinas – MG**. 84 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista, Bahia.

HALL, H. G. 1991. **Genetics characterization of honey bees through DNA analysis**. In: SPIVACK, M. et al. (Ed.). The “African” Honey Bee. San Francisco: Wesview Press. p. 45-73.

HAMMER; HARPER, D.A.T.; RYAN, P.D. 2001. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. **Palaeontologia Electronica**, v. 4(1), 9 p.

HEARD, T.A. 1999. The role of stingless bees in crop pollination. **Annual Reviews**, v. 44, p. 183-206.

HOLSINGER, K.E.; LEWIS, P.O.; DEY, D.K. 2002. A Bayesian approach to inferring population structure from dominant markers. **Molecular Ecology**, v.11, p.1157-1164.

JUNGNICKEL, H.; COSTA, A.J.S. da; TENTSCHERT, J.; PATRICIO, E.F.L.R.A.; IMPERATRIZ-FONSECA V.L.; DRIJFHOUT, F.; MORGAN, E.D. 2004. Chemical basis for inter-colonial aggression in the stingless bee *Scaptotrigona bipunctata* (Hymenoptera: Apidae). **Journal of Insect Physiology**, v. 50, p. 761–766.

KERR, W.E. 1962. Reproduction in the social bees (Hymenoptera: Apidae). **Journal of the New York Entomological Society**, v. 70, n. 4, p. 265-276.

KERR, W.E.; CARVALHO, G.A.; NASCIMENTO, V.A. 1996. Abelha Uruçu: Biologia Manejo e Conservação. **Editora Fundação Acangáú**. Belo Horizonte, MG, Brasil. 144p.

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

KLEINERT-GIOVANNINI, A. 1989. Mecanismos de controle reprodutivo em *Melipona marginata* Lepeletier (Apidae, Meliponinae). Tese Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo.

KREMEN C; WILLIAMS, N.M.; THORP, R.W. 2002. Crop pollination from native bees at risk from agricultural intensification. **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**. v. 99(26), p.16812-16816.

KOLING, D. F.; MORETTO, G. 2010. Mitochondrial discrimination of stingless bees *Tetragonisca angustula* (Apidae: Meliponini) from Santa Catarina state, Brazil. **Apidologie**, v. 41, p. 454–462.

LEAL, I.R.; TABARELLI, M.; SILVA, J.M.C. da. 2003. **Ecologia e conservação da caatinga**. Universitária da UFPE, Recife, PE, 822p.

LOPES, R.; LOPES, M.T.G.; FIGUEIRA, A.V.O.; CAMARGO, L.E.A; FUNGARO, M.H.P.; CARNEIRO, M.S. e VIEIRA, M.L.C. 2002. Marcadores moleculares dominantes (RAPD E RFLP). **Biotecnologia**, v. 5, n. 29, p. 56-60.

MACHADO, M. F. P. S. 1982. Isoenzimas da desidrogenase málica em abelhas do gênero *Plebéia*: controle genético e dados populacionais. Dissertação (Mestrado em Genética) - Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto.

MACIAS, M.J.O.; QUEZADA-EUAN, J.J.G.; PARRA-TABLA, V. 2001. **Comportamiento y eficiencia de polinization de las abejas sin aguijón (*Nannotrigona perilampoides*) en el cultivo del tomate (*Lycopersicum esculentum* M) bajo condiciones de invernadero em Yucatán, Mexico**. In: II Seminario mexicano sobre abejas sin aguijón – uma vision sobre su biología y cultivo. Memorias. Universidade Autonoma de Yucatán – Facultad de Medicina Veterinária y Zootecnia. Mérida, p.119-124.



- MALAGODI-BRAGA, K.S.; KLEINERT, A.M.P. 2004. Could *Tetragonisca angustula Latreille* (Apinae, Meliponini) be used as strawberry pollinator in greenhouses? **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 55, p. 771-773.
- MICHENER, C. D. 2000. The bees of the world. **The Johns Hopkins University Press**. v.1, 913p.
- MICHENER, C.D. 2007. The bees of the world. Baltimore: **The Johns Hopkins University Press**. London, 2 ed, 992p.
- MORAES, S. S.; BAUTISTA, A. R. L.; VIANA, B. F. 2000. Avaliação da Toxicidade Aguda (DL50 e CL50) de Inseticidas para *Scaptotrigona tubiba* (Smith) (Hymenoptera: Apidae). Via de Contato. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 29, n.1, p. 31-37.
- NASCIMENTO, M.A. 2008. **Variabilidade genética de *Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera: Apidae) no estado de Minas Gerais com marcadores ISSR**. 33 p. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Estrutural). Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.
- NIGATO, A. 2000. Evaluation of numerical analyses of RAPD and API 50 CH patterns to differentiate *Lactobacillus plantarum*, *Lact. fermentum*, *Lact. rhamnosus*, *Lact. sake*, *Lact. parabuchneri*, *Lact. gallinarum*, *Lact. casei*, *Weissella minor* and related taxa isolated from kocho and tef. **Journal of Applied Microbiology**, v. 89, n. 6, p. 969-978.
- NOGUEIRA-NETO, P. 1997. Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão. **Editores Nogueirapis**, São Paulo, 445p.
- OLIVEIRA, R. de C.; NUNES, F.M.F.; CAMPOS, A.P.S.; VASCONCELOS, S.M.; ROUBIK, D.; GOULART, L.R.; KERR, W.E. 2004. Genetic divergence in *Tetragonisca angustula* Latreille, 1811 (Hymenoptera, Meliponinae, Trigonini) based on rapd markers. **Genetics and Molecular Biology**, v. 27, n. 2, p. 181-186.
- OLLERTON, J.; WINFREE, R.; TARRANT, S. 2011. How many flowering plants are pollinated by animals? **Oikos**, v. 120, n. 3, p. 321–326.
- PAXTON, R. J.; WEIBSCHUH, N.; ENGELS, W.; HARTFELDER, K., QUEZADA-EUAN, J.G. 1999. Not only single mating in stingless bees. **Naturwissenschaften**, v.86, p.143–146.
- PAXTON, R. J. 2000. Genetic structure of colonies and a male aggregation in the stingless bee *Scaptotrigona postica*, as revealed by microsatellite analysis. **Insectes Sociaux**, v. 47, p. 63 – 69.

PEREIRA, F. M. de; LOPES, M.T.R; SOUZA, B.A. 2010. **Meliponicultura: uma alternativa para salvar as abelhas-sem-ferrão**. Embrapa Meio Norte, Teresina, PI.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente (MMA). **Plano de Ação para prevenção e controle do desmatamento e das queimadas: cerrado**. 2011. Brasília. 200 p. 2. ed. Disponível em: <[http://www.mma.gov.br/estruturas/201/\\_arquivos/ppcerrado\\_201.pdf](http://www.mma.gov.br/estruturas/201/_arquivos/ppcerrado_201.pdf)>. Acesso em: 03.Maio.2013.

PRITCHARD, J. K.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, v. 115, p. 945-959.

PROCTOR, M.; YEO, P.; LACK, A. 2004. The natural history of pollination. **Timber Press**, 479p.

RIDLEY, M. 2006. Evolução. **Artmed**, Porto Alegre, 3 ed. 752p.

SANTOS, S. A.B., ROSELINO, A. C.; BEGO. L. R. 2008. Pollination of Cucumber, *Cucumis sativus* L. (Cucurbitales: Cucurbitaceae), by the Stingless Bees *Scaptotrigona* aff. *depilis* Moure and *Nannotrigona testaceicornis* Lepageletier (Hymenoptera: Meliponini) in Greenhouses. **ECOLOGY, BEHAVIOR AND BIONOMICS. Neotropical Entomology**. v. 37, n. 5, p. 506-512.

SANTOS. A.B. 2010. Abelhas nativas: polinizadores em declínio. **Natureza on line**, v. 3, p. 103-106.

SANTOS, C.F.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. Estratégias reprodutivas dos machos de abelhas melíferas e sem ferrão, 2011. Disponível em <<http://www.apacame.org.br/mensagemdoce/113/artigo.htm>>. Acesso em: 10. Junho.2013.

SERRANO, M.; CALVO, J. H.; MARTÍNEZ, M.; CARCAVILLA, A. M.; CUEVAS, J.; GONZÁLEZ, C.; JURADO, J. J.; TEJADA, P. D. 2009. Microsatellite based genetic diversity and population structure of the endangered Spanish Guadarrama goat breed. **BMC Genetics**, v. 10, n. 61.

SCHMIDT, V.M.; ZUCCHI, R.; BARTH, F.G. 2006. Recruitment in a scent trail laying stingless bee (*Scaptotrigona* aff. *depilis*): Changes with reduction but not with increase of the energy gain. **Apidologie**, v. 37, p. 487–500.

- SILVA, E.P.; RUSSO, C.A.M. 2000. **Techniques and statistical data analysis in molecular population genetics**. In: Sole-Cava, A.M.; Russo, C.A.M.; Thorpe, J.P. (eds). *Marine Genetics*. Kluwer Academic Publishers. Amsterdam, 111- 135p.
- SILVA, W. P.; PAZ, J. R. L. da. 2012. Abelhas sem ferrão: muito mais do que uma importância econômica. **Natureza on line**, v. 10, n. 3, p. 146-152.
- SILVEIRA, F.A.; MELO, G.A.R.; ALMEIDA, E.A.B. 2002. **Abelhas brasileiras: sistemática e identificação**. Belo Horizonte. 253 p.
- SLAA, E.J.; SÁNCHEZ CHAVES, L.A.; MALAGODI-BRAGA, K.S. 2006. Stingless bees in applied pollination practice and perspectives. **Apidologie**, v.37, p.293-315.
- STUCHI, A.L.P.B. 2006. **Estrutura De Populações Em Abelhas Jataí (Tetragonisca Angustula Latreille) Por Meio De Isoenzimas**. 37 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Estadual de Maringá. Maringa, Paraná.
- SUAZO, A.; MACTIERNAN, R. e HALL, H.G. 1998. Differences between African and European honey bees (*Apis mellifera* L.) in random amplified polymorphic DNA (RAPD). **Journal of Heredity**. v. 89, p. 32-36.
- SUZUKI, KM; ALMEIDA, FS; SODRÉ, LMK; SOFIA, SH. 2004. **Similaridade genética entre machos de *Euglossa truncata* (Hymenoptera, Apidae) revelada por marcadores RAPD**. In 50º CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA. Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.
- SUZUKI, K. M. ALMEIDA, F. S.; SODRÉ, L.M.K; PASCUAL, A.N.T.; SOFIA S.H. 2006. Variabilidade e estrutura genética de populações de *Euglossa truncata* (Hymenoptera, Apidae) de duas áreas urbanas, Londrina-PR. 2004. In: VII Encontro Paranaense de Genética, 2004. Londrina. **Anais**. Londrina: Universidade Estadual de Londrina.
- VASCONCELOS, S.M. 1998. **Divergência genética entre populações de *Melipona rufiventris* (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae)**. 45 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Bioquímica). Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia. Uberlândia, Minas Gerais.
- VENTURIERI, G. 2004. **Meliponicultura: Criação de Abelhas Indígenas Sem Ferrão**. Embrapa Amazônia Oriental. Belém, PA. Disponível em: [www.cpatu.embrapa.br/paginas/meliponicultura](http://www.cpatu.embrapa.br/paginas/meliponicultura). Acesso em: 11/04/2013.

VILLAS- BÔAS, J. 2012. Manual Tecnológico: Mel de Abelhas-sem-ferrão. **Série Manual Tecnológico**. Brasília, DF, Instituto Sociedade, População e Natureza (ISPN), 96 p.

VIT, P; MEDINA, M.; ENRÍQUEZ, M. E. 2004. Quality standards for medicinal uses of Meliponinae honey in Guatemala, México and Venezuela. **Bee World**, v. 85, n. 1, p. 2-5.

WALDSCHMIDT, A. M. 2000. A molecular marker distinguishes the subspecies *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* and *Melipona quadrifasciata anthidioides* (Hymenoptera: Apidae, Meliponinae). **Genetics and Molecular Biology**. v. 23, n. 3, p. 609-611.

WALDSCHMIDT, A. M; MARCO-JUNIOR, P.; BARROS, E. G.; CAMPOS, L. A. O. 2002. Genetic analysis of *Melipona quadrifasciata* Lep. (Hymenoptera: Apidae, Meliponinae) with RAPD markers. **Brazilian Journal of Biology**, v. 62, n. 4B, p. 923-928.

WINSTON, M.L. 2003. A biologia das abelhas. **Magister**, Porto Alegre, p. 276.

WILLIAMS, J. G. K.; KUBELIK, A. R.; LIVAK, K. J.; RAFASLKI, J. A. e TINGEY, S. V. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary *primers* are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**, v. 18, n. 22, p. 6531-5.

WELSH, J.; McCLELLAND, M. 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary *primers*. **Nucleic Acids Research**. v. 18, n. 24, p. 7213-8.

WRIGHT, S. 1978. **Evolution and genetics of populations**. The University of Chicago Press, 511p.

YAMAMOTO; AKATSU, I.P.; SOARES, A.E.E. 2007. Quantificação da produção do mel de *Scaptotrigona* aff. *depilis* (Hymenoptera, Apidae, Apinae) do município de Luiz Antônio, São Paulo, Brasil. **Bioscience Journal**, v. 23, p. 89-93.

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



## ANEXO

ANEXO 1 - Matriz de similaridade de locos RAPD de populações de *Scaptotrigona aff. depilis* originária de municípios de Santa Luz (SL), Bom Jesus (BJ), Cristino Castro (CC) e Dom Expedito Lopes (EL).

---

SL73 SL74 BJ69\_1 BJ69\_2 BJ69\_3 BJ69\_4 BJ69\_5 BJ69\_6 BJ69\_7 CC72\_1 CC72\_2 CC72\_3 CC72\_4 CC72\_5 CC72\_6 CC72\_7

---

SL73																	
SL74	0,74																
BJ69_1	0,48	0,61															
BJ69_2	0,49	0,58	0,94														
BJ69_3	0,47	0,55	0,89	0,94													
BJ69_4	0,49	0,58	0,92	0,98	0,96												
BJ69_5	0,46	0,57	0,89	0,91	0,96	0,93											
BJ69_6	0,48	0,54	0,82	0,84	0,83	0,83	0,83										
BJ69_7	0,52	0,57	0,82	0,89	0,87	0,87	0,87	0,88									
CC72_1	0,53	0,61	0,54	0,53	0,53	0,53	0,55	0,53	0,53								
CC72_2	0,58	0,63	0,56	0,55	0,53	0,55	0,55	0,53	0,53	0,93							
CC72_3	0,53	0,61	0,57	0,57	0,54	0,57	0,57	0,52	0,54	0,93	0,90						
CC72_4	0,52	0,58	0,59	0,58	0,56	0,58	0,58	0,54	0,56	0,85	0,85	0,88					
CC72_5	0,49	0,57	0,56	0,55	0,53	0,55	0,55	0,51	0,52	0,79	0,82	0,86	0,87				
CC72_6	0,52	0,63	0,65	0,61	0,58	0,61	0,61	0,59	0,57	0,70	0,70	0,69	0,71	0,62			
CC72_7	0,52	0,60	0,62	0,61	0,61	0,61	0,63	0,59	0,57	0,70	0,70	0,68	0,71	0,64	0,95		
CC72_8	0,53	0,63	0,65	0,62	0,62	0,62	0,64	0,60	0,58	0,71	0,71	0,69	0,72	0,63	0,96	0,95	

continua

ANEXO 1 - Matriz de similaridade de locos RAPD de populações de *Scaptotrigona aff. depilis* originária de municípios de Santa Luz (SL), Bom Jesus (BJ), Cristino Castro (CC) e Dom Expedito Lopes (EL).

SL73 SL74 BJ69\_1 BJ69\_2 BJ69\_3 BJ69\_4 BJ69\_5 BJ69\_6 BJ69\_7 CC72\_1 CC72\_2 CC72\_3 CC72\_4 CC72\_5 CC72\_6 CC72\_7

CC72_9	0,51	0,61	0,66	0,62	0,59	0,62	0,62	0,60	0,60	0,69	0,69	0,67	0,73	0,63	0,95	0,90
CC72_10	0,49	0,60	0,64	0,60	0,58	0,60	0,60	0,58	0,58	0,67	0,67	0,66	0,71	0,62	0,96	0,91
EL51	0,53	0,57	0,51	0,52	0,52	0,53	0,52	0,45	0,51	0,53	0,53	0,58	0,54	0,57	0,57	0,59
EL52	0,54	0,59	0,52	0,53	0,53	0,54	0,53	0,46	0,53	0,54	0,54	0,59	0,55	0,58	0,59	0,60
EL53	0,51	0,61	0,52	0,51	0,51	0,52	0,51	0,44	0,48	0,53	0,53	0,55	0,52	0,56	0,59	0,58
EL54	0,51	0,53	0,49	0,50	0,51	0,51	0,51	0,43	0,49	0,51	0,53	0,55	0,53	0,54	0,55	0,58
EL55	0,53	0,57	0,53	0,52	0,52	0,53	0,52	0,45	0,51	0,53	0,55	0,58	0,56	0,59	0,60	0,59
EL56	0,49	0,54	0,52	0,54	0,53	0,55	0,53	0,44	0,52	0,52	0,52	0,57	0,52	0,57	0,58	0,60
EL57	0,48	0,53	0,51	0,50	0,49	0,51	0,49	0,41	0,48	0,48	0,50	0,53	0,51	0,55	0,54	0,54
EL58	0,48	0,53	0,52	0,51	0,51	0,52	0,51	0,42	0,51	0,49	0,51	0,54	0,52	0,55	0,55	0,55
EL44_1	0,47	0,52	0,39	0,40	0,41	0,41	0,41	0,34	0,37	0,46	0,44	0,47	0,43	0,47	0,48	0,49
EL44_2	0,46	0,52	0,39	0,39	0,40	0,40	0,40	0,33	0,36	0,45	0,43	0,46	0,42	0,46	0,48	0,48
EL44_3	0,48	0,51	0,39	0,40	0,41	0,41	0,41	0,34	0,37	0,46	0,45	0,47	0,43	0,46	0,48	0,50
EL44_4	-	-	0,57	0,57	0,64	0,64	0,57	0,38	0,36	0,27	0,27	0,25	0,25	0,25	0,30	0,30
EL44_5	0,47	0,52	0,41	0,42	0,43	0,43	0,43	0,36	0,39	0,48	0,46	0,49	0,45	0,49	0,48	0,50
EL44_6	0,46	0,52	0,41	0,41	0,42	0,42	0,42	0,35	0,38	0,47	0,45	0,48	0,44	0,48	0,49	0,49
EL44_7	0,47	0,52	0,41	0,42	0,43	0,43	0,43	0,36	0,39	0,48	0,46	0,49	0,45	0,49	0,48	0,50

Continua

ANEXO 1 - Matriz de similaridade de locos RAPD de populações de *Scaptotrigona aff. depilis* originária de municípios de Santa Luz (SL), Bom Jesus (BJ), Cristino Castro (CC) e Dom Expedito Lopes (EL).

SL73 SL74 BJ69\_1 BJ69\_2 BJ69\_3 BJ69\_4 BJ69\_5 BJ69\_6 BJ69\_7 CC72\_1 CC72\_2 CC72\_3 CC72\_4 CC72\_5 CC72\_6 CC72\_7





CC72_10	0,93	0,98																
EL51	0,58	0,56	0,55															
EL52	0,59	0,57	0,56	0,98														
EL53	0,59	0,57	0,56	0,90	0,92													
EL54	0,57	0,54	0,53	0,95	0,92	0,87												
EL55	0,60	0,60	0,59	0,93	0,95	0,90	0,90											
EL56	0,59	0,59	0,58	0,87	0,89	0,88	0,82	0,89										
EL57	0,55	0,53	0,52	0,89	0,89	0,88	0,86	0,89	0,92									
EL58	0,56	0,56	0,55	0,84	0,86	0,85	0,82	0,91	0,95	0,95								
EL44_1	0,47	0,45	0,46	0,81	0,81	0,80	0,78	0,78	0,74	0,76	0,74							
EL44_2	0,47	0,46	0,46	0,80	0,80	0,81	0,77	0,79	0,72	0,77	0,75	0,99						
EL44_3	0,47	0,46	0,46	0,82	0,82	0,79	0,79	0,79	0,72	0,75	0,73	0,99	0,98					
EL44_4	0,30	0,30	0,30	0,85	0,85	0,92	0,85	0,79	0,80	0,92	0,86	0,92	0,92	0,92				
EL44_5	0,47	0,46	0,46	0,81	0,81	0,80	0,79	0,80	0,76	0,76	0,76	0,98	0,96	0,96	0,92			
EL44_6	0,48	0,46	0,47	0,80	0,80	0,81	0,78	0,81	0,75	0,77	0,77	0,96	0,98	0,95	0,92	0,99		
EL44_7	0,47	0,46	0,46	0,81	0,81	0,80	0,79	0,80	0,76	0,76	0,76	0,98	0,96	0,96	0,92	1,00	0,99	

continua

ANEXO 1 - Matriz de similaridade de locos RAPD de populações de *Scaptotrigona aff. depilis* originária de municípios de Santa Luz (SL), Bom Jesus (BJ), Cristino Castro (CC) e Dom Expedito Lopes (EL).

	CC72_8	CC72_9	CC72_10	EL51	EL52	EL53	EL54	EL55	EL56	EL57	EL58	EL44_1	EL44_2	EL44_3	EL44_4	EL44_5	EL44_6
EL44_8	0,54	0,53	0,52	0,83	0,83	0,82	0,81	0,82	0,82	0,78	0,78	0,83	0,82	0,82	0,80	0,85	0,84



EL44_9	0,82	0,96																
EL44_10	0,81	0,95	0,95															
EL44_11	0,82	0,94	0,92	0,93														
EL44_12	0,69	0,80	0,84	0,85	0,82													
EL44_13	0,58	0,72	0,73	0,74	0,70	0,84												
EL44_14	0,56	0,71	0,71	0,72	0,69	0,83	0,95											
EL44_15	0,70	0,80	0,80	0,81	0,76	0,76	0,75	0,76										
EL44_16	0,71	0,81	0,83	0,82	0,77	0,81	0,78	0,77	0,91									
EL44_17	0,68	0,78	0,81	0,80	0,75	0,80	0,74	0,75	0,89	0,95								
EL44_18	0,67	0,77	0,78	0,77	0,74	0,75	0,73	0,74	0,88	0,91	0,93							
EL44_19	0,62	0,73	0,75	0,74	0,69	0,70	0,69	0,70	0,80	0,81	0,86	0,87						
EL44_20	0,62	0,72	0,74	0,73	0,68	0,71	0,73	0,74	0,79	0,82	0,87	0,86	0,96					
EL44_21	0,75	0,84	0,85	0,84	0,80	0,77	0,75	0,74	0,88	0,94	0,90	0,93	0,89	0,90				
EL44_22	0,64	0,76	0,73	0,76	0,73	0,67	0,71	0,72	0,82	0,80	0,82	0,88	0,93	0,92	0,90			
															conclusão			