

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM GENÉTICA EVOLUTIVA
E BIOLOGIA MOLECULAR**

O desvio reprodutivo se correlaciona positivamente com o parentesco genético e o sistema de acasalamento? *Euglossa cordata* (Hymenoptera, Apidae, Euglossini) como Estudo de Caso.

Gabriele Antico Freiria

**São Carlos – SP
2015**

Gabriele Antico Freiria

O desvio reprodutivo se correlaciona positivamente com o parentesco genético e o sistema de acasalamento? *Euglossa cordata* (Hymenoptera, Apidae, Euglossini) como Estudo de Caso.

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética Evolutiva e Biologia Molecular do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Ciências, Área de Concentração: Genética e Evolução.

Orientador: Prof. Dr. Marco Antonio Del Lama
Coorientador: Prof. Dr. Carlos Alberto Garófalo

**São Carlos – SP
2015**

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária/UFSCar**

F866dr Freiria, Gabriele Antico.
O desvio reprodutivo se correlaciona positivamente com o parentesco genético e o sistema de acasalamento? *Euglossa cordata* (Hymenoptera, Apidae, Euglossini) como estudo de caso / Gabriele Antico Freiria. -- São Carlos : UFSCar, 2015.
110 f.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2015.

1. Abelha. 2. Reprodução. 3. Euglossini. 4. *Euglossa cordata*. 5. Microsatélites. 6. Parentesco. I. Título.

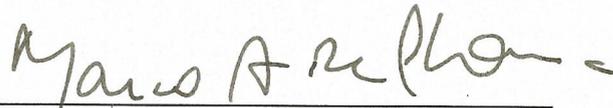
CDD: 595.799 (20^a)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Genética Evolutiva e Biologia
Molecular

Folha de Aprovação

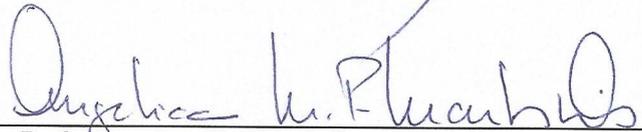
Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Tese de Doutorado da candidata Gabriele Antico Freiria, realizada em 26/06/2015:



Prof. Dr. Marco Antonio Del Lama
UFSCar



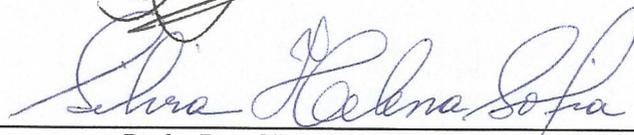
Prof. Dr. Carlos Alberto Garófalo
USP



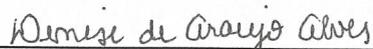
Profa. Dra. Angélica Maria Pentead Martins Dias
UFSCar



Profa. Dra. Solange Cristina Augusto
UFU



Profa. Dra. Sílvia Helena Sofia
UEL



Profa. Dra. Denise de Araújo Alves
USP

*Em memória da minha avó, Rita Baioco Antico.
Por ter me mostrado com a sua história, sempre em
minha memória, o peso e a importância de algumas
oportunidades.*

***“O mundo não é, ele está sendo.”
(Paulo Freire)***

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. Marco Antonio Del Lama, pela orientação, ensinamentos, por fazer o seu trabalho com seriedade, amor e muita dedicação, nos dando o exemplo. Mas, principalmente, por responder, na maioria das vezes, devolvendo a pergunta. Embora esta atitude muitas vezes não nos cause satisfação momentânea, ao longo do tempo, nos faz perceber que é uma atitude honesta e verdadeiramente altruísta com o outro, pois só podemos enxergar o mundo e os problemas com os nossos próprios olhos e ao nosso modo.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Carlos Alberto Garófalo, por ter me recebido de maneira acolhedora no seu laboratório, já no meio da jornada, o que foi muito importante para mim. Por ter compartilhado conosco o seu conhecimento e opiniões sobre o tema, o que contribuiu de maneira transformadora com o desenvolvimento deste estudo. Mas, principalmente, por ter “entrado no barco conosco”, o que levo comigo como um sincero exemplo de comprometimento.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela bolsa e auxílio financeiro concedidos para o desenvolvimento deste estudo.

À Isabel Godoy e José Carlos Serrano, por todo apoio técnico prestado, sempre com boa vontade e dedicação.

À Dra. Katia Ferreira, não só por ter corrido as genotipagens, mas por ter sido tão prestativa e disposta a ajudar, enviando dados por e-mail e dando ideias para melhorar os resultados, muito obrigada pela contribuição.

À Dra. Morgana Silveira Sazan e à Dra. Solange Cristina Augusto, pelos ninhos cedidos.

Aos colegas do Laboratório de Genética Evolutiva de Himenópteros e colegas do Laboratório de Ecologia e Evolução de Abelhas e Vespas, tanto aos que tive a oportunidade de conhecer melhor, como àqueles com quem acabei convivendo pouco. Por toda a contribuição que cada um deu à sua maneira. Fico feliz por ter

passado por estes lugares, pois neles fiz em alguns casos mais do que colegas, fiz amigos. Obrigada: Caito, Tony, Naná, Elder, Simone, Marcela, Ju Afonso, Dani, Teca, Pedro, Diana, Camila, Mariana, Diego, Patrícia, Nanda, Ju Galaschi, Tiago, Maria, Anne, Elisa, Morgana, Ulysses, Paula, Bruno, Alejandro, Malu.

Aos meus amigos, aos que vejo sempre e àqueles que devido ao curso da vida quase não os vejo, mas sei que estamos juntos na amizade e ter a certeza disso já é o suficiente. Por todo carinho: Tati, Camila, Isa, Carol, Márcio, Fernando, Glauce, Bel, Bianca, Bárbara, Wan.

À minha grande amiga Thais Morgado, que é quem tem convivido mais próxima a mim, por ouvir todas as lamúrias, que não são poucas, e tolerar as oscilações bruscas e repentinas de humor. Obrigada por todo apoio e paciência.

À minha família, que mesmo distante, carrego sempre comigo. Por serem a base, o referencial e, quando as horas não são tão fáceis, também a motivação para seguir. Pelo amor incondicional e por compreenderem, respeitarem e apoiarem as minhas escolhas. Muito obrigada: Nelma Aparecida Antico (Mãe), Ednaldo Antonio da Freiria (Pai), Gustavo Henrique Freiria (Irmão), Maria Madalena Silva da Freiria (Vó), José Lima da Freiria (Vô), Maria Inês Antico (Tia).

RESUMO

As abelhas da tribo Euglossini sempre foram consideradas promissoras para estudos sobre evolução do comportamento social e divisão de trabalho reprodutivo. Isto decorre do fato dos Euglossini serem os únicos membros não claramente eussociais entre as abelhas corbiculadas. Neste estudo, foi investigada a correlação entre parentesco genético e desvio reprodutivo em uma espécie do gênero *Euglossa*, um dos cinco gêneros de Euglossini, visando subsidiar o entendimento da evolução da divisão de trabalho reprodutivo na tribo. Dentre os cinco gêneros de Euglossini, *Euglossa* é o mais indicado para estudos sobre a evolução de divisão de trabalho reprodutivo, pois neste gênero são encontradas espécies solitárias, comunais e primitivamente eussociais. Foram analisados doze ninhos da espécie *Euglossa cordata* (Linnaeus, 1758). Nesta espécie, o processo de fundação dos ninhos é solitário, mas pequenas colônias são formadas durante as reativações, com as fêmeas estabelecendo diferentes tipos de associações, nas quais o parentesco entre elas é distinto. Durante as reativações, uma das fêmeas realiza oofagias, seguidas de oviposições em células anteriormente operculadas por outras fêmeas, deixando um maior número de descendentes. As análises de comportamento, associadas a estimativas de parentesco, realizadas mediante o uso de marcadores microsatélites, indicam que as fêmeas dominantes realizam oofagia, seguida de oviposição, em todas as células operculadas pelas subordinadas. O desvio reprodutivo foi completo, independentemente do tipo de associação formada entre as fêmeas reativadoras e, portanto, não houve correlação entre parentesco genético e desvio reprodutivo. Além disso, a biologia de nidificação em espécies de *Euglossa* foi estudada, dada a escassez de informações sobre os hábitos e características do processo de nidificação na maioria das espécies já descritas. Utilizando a técnica de

ninhos-armadilha, foram obtidos 44 ninhos de *Euglossa*. O estudo traz novas informações sobre a biologia de nidificação no gênero, principalmente no que diz respeito aos inimigos naturais associados aos ninhos.

Palavras-chave: Euglossini, *Euglossa cordata*, abelhas corbiculadas, biologia de nidificação, comportamento social, desvio reprodutivo.

ABSTRACT

The orchid bees have always been considered promising for studies of the evolution of social behavior and reproductive division of labor. This is due to the fact that the orchid bees are the only members not clearly eusocial in corbiculate clade. In this study, the correlation between genetic relatedness and reproductive skew was investigated in the genus *Euglossa*, one of the five genus of Euglossini tribe, in order to support the understanding of the evolution of reproductive division of labor in Euglossini. Among the five genera of Euglossini, *Euglossa* is the most suitable for studies on the evolution of reproductive division of labor, because in this genus can be found solitary, communal and primitively eusocial species. Twelve nests of *Euglossa cordata* (Linnaeus, 1758) were analyzed. In this species, the foundation process is solitary, but small colonies are formed during nest reactivations, with females establishing different types of associations, in which their relatedness differs. During reactivations, one of the females performs oophagy and then oviposition in brood cells previously operculated by another females, consequently leaving a larger number of offspring. The behavioral analysis associated with relatedness estimates, made through the use of microsatellite markers, indicated that the dominant female perform oophagy followed by oviposition in all operculated cells by the subordinated

bees. The reproductive skew was complete, regardless of the type of association established between the interacting females, and so reproductive skew and genetic relatedness was not associated in this study. Furthermore, the nesting biology of *Euglossa* was also studied, given the information scarcity about the nesting process in most species already described for this genus. Using the technique of trap nests, 43 nests of *Euglossa* were sampled. This study provides new information on the nesting biology of this genus, especially with regard to natural enemies associated with nests.

Key words: Orchid bees, *Euglossa cordata*, corbiculate bees, nesting biology, social behavior, reproductive skew.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I: As abelhas do gênero *Euglossa* (Hymenoptera, Apidae, Euglossini): aspectos sobre a sua biologia de nidificação

Figura 1. Número de ninhos de *Euglossa* capturados nas armadilhas por mês, considerando os três anos (2012 – 2014) de amostragem**p.25**

Figura 2. Ninho INDA5 (*Euglossa cordata*) e FFCL4 (*Euglossa* sp.) com as células e a entrada construídas com resina de coloração amarelada. E = entrada do ninho **p.30**

Figura 3. Ninho BOT15 (*Euglossa* sp.), com destaque para a entrada do ninho (a), célula e resina espalhada no fundo da caixa com coloração acinzentada (b)**p.30**

Figura 4. Ninho FFCL7 de *Euglossa cordata*, com as células dispostas em forma de favo. E = entrada do ninho**p.31**

Figura 5. Vista interna dos ninhos: a) INDA1, *Euglossa cordata*; b) INDA5, *Euglossa cordata*; c) INDA2, *Euglossa townsendi*; d) INDA4, *Euglossa townsendi*; e) INDA6, *Euglossa townsendi*; f) BOT8, *Euglossa townsendi*; g) JAPI1, *Euglossa truncata*; h) BOT11, *Euglossa* sp. Diferentes tipos de disposição das células nos ninhos. P = parede de resina que delimita o espaço ocupado pelo ninho e que contém a entrada do ninho propriamente dita.....**p.32**

Figura 6. Ninho de *Euglossa cordata* (FFCL8,) no início de sua fundação, com a entrada já construída (E), resina espalhada pelo ninho e a primeira célula em fase inicial de construção (C)**p.37**

Figura 7. Fundação de ninhos de *Euglossa cordata* (FFCL2, 5, 7, 8 e 9) e *Euglossa* sp. (FFCL1, 4 e 10). Período de atividade, inatividade e de emergências, em dias, nos ninhos. Número de células construídas (n) durante o período de atividade das fêmeas**p.38**

Figura 8. Ninho de *Euglossa cordata* após ataque do cleptoparasita *Hoplostelis nigrifula*, com destaque para as larvas que foram retiradas do interior das células pelo cleptoparasita**p.43**

Figura 9. Ninho INDA1 de *Euglossa cordata*, enfocando o pequeno orifício em uma das células, por onde emergiram os parasitoides da espécie *Aximopsys masneri* **p.44**

CAPÍTULO II: O processo de reativação de ninhos e o desvio reprodutivo em *Euglossa cordata* (Hymenoptera, Apidae, Euglossini)

Figura 1. Caixa de observação conectada com a parede. Destaque para a mangueira que conecta a caixa com o meio externo (a) e para a conexão entre a mangueira e a caixa de observação (b). No interior da caixa, a presença de duas fêmeas de *Euglossa cordata***p.61**

Figura 2. Fêmea de *Euglossa cordata*, marcada no tórax**p.62**

Figura 3. Fêmea de *Euglossa cordata*, chegando ao ninho com alimento larval na corbícula**p.70**

Figura 4. Reativações que tiveram o parentesco entre a prole e as fêmeas reativadoras estimado por meio de análises de segregação mendeliana em 12 locos microssatélites. Fêmeas reativadoras analisadas, tipo de associação estabelecida entre elas e prole produzida. FD = fêmeas dominantes; FS = fêmeas subordinadas; M = machos; F = fêmeas**p.77**

LISTA DE TABELAS

INTRODUÇÃO GERAL

Tabela 1. Correlação entre desvio reprodutivo e alguns parâmetros, predita pelos dois modelos de desvio reprodutivo e o modelo de agressão (REEVE; KELLER, 2001)**p.13**

CAPÍTULO I: As abelhas do gênero *Euglossa* (Hymenoptera, Apidae, Euglossini): aspectos sobre a sua biologia de nidificação

Tabela 1. Data e local da coleta de ninhos de espécies de *Euglossa*, tipo e dimensões (diâmetro e comprimento) das armadilhas ocupadas pelas fêmeas e espaço (comprimento, em cm) ocupado pelo ninho estabelecido em secção de bambu**p.27**

Tabela 2. Adultos, número e disposição de células nos ninhos coletados das espécies de *Euglossa***p.29**

Tabela 3. Período (em dias) entre a coleta dos ninhos de *Euglossa* e a emergência dos indivíduos produzidos e/ou de parasitas. N = número de emergências acompanhadas**p.34**

Tabela 4. Duração (em dias) do desenvolvimento dos indivíduos provenientes dos ninhos de *Euglossa cordata* (FFCL2, 5, 7, 8 e 9) e *Euglossa* sp. (FFCL1, 4 e 10), de acordo com a estação do ano: quente e chuvosa (de setembro a fevereiro: S/F); fria

e seca (de março a agosto: M/A). NO = nenhuma oviposição observada na respectiva estação do anop.40

Tabela 5. Ninhos atacados por parasitoides ou cleptoparasitas, número de células operculadas no momento da coleta do ninho, número de células das quais emergiram parasitoides ou cleptoparasitas, data de coleta ou fundação do ninho e estimativa do tempo de desenvolvimento em dias a partir da data e coleta ou fundação.....p.42

CAPÍTULO II: O processo de reativação de ninhos e o desvio reprodutivo em *Euglossa cordata* (Hymenoptera, Apidae, Euglossini)

Tabela 1. Número de reativações acompanhadas e associações estabelecidas entre fêmeas durante as reativações. Localização do ninho, fora do laboratório (F) e dentro do laboratório (D)p.67

Tabela 2. Duração de cada reativação, número de fêmeas e células operculadas em cada reativaçãop.69

Tabela 3. Razão sexual de fêmeas e machos e duração (em dias) do desenvolvimento de fêmeas e machos de *Euglossa cordata* provenientes de 11 ninhos de acordo com a estação do ano - quente e chuvosa (de setembro a fevereiro); fria e seca (de março a agosto); ? = associação entre as fêmeas não determinada pelas observações; F = fêmeas; M= machosp.75

Tabela 4. Segregação dos alelos no ninho FFCL9 para 12 locos microssatélites (FD = fêmea dominante; FS = fêmea subordinada; C = célula; M = macho; F = fêmea) **p.81**

Tabela 5. Segregação dos alelos no ninho API3 para 12 locos microssatélites (FD = fêmea dominante; FS = fêmea subordinada; C = célula; M = macho; F = fêmea) **p.82**

Tabela 6. Segregação dos alelos no ninho GEN1 para 12 locos microssatélites (FD-S = genótipos inferidos para uma suposta fêmea poedeira não coletada; FD = fêmea dominante; FS = fêmea subordinada; C = célula; M = macho; F = fêmea); ? = possível alelo da suposta fêmea poedeira não coletada, que não pode ser estabelecido definitivamente, pelo fato de não ter sido observado nos machos da prole. **p.85**

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| INTRODUÇÃO GERAL | 1 |
| 1 As abelhas Euglossini – Biologia de nidificação e comportamento social..... | 1 |
| 2 A evolução do comportamento social nos Apidae corbiculados – Teoria da seleção de parentesco | 8 |
| 3 Os modelos do desvio reprodutivo..... | 11 |
| OBJETIVOS | 18 |
| CAPÍTULO I: As abelhas do gênero <i>Euglossa</i> (Hymenoptera, Apidae, <i>Euglossini</i>): aspectos sobre a sua biologia de nidificação | 20 |
| 1 Introdução | 21 |
| 2 Material e Métodos | 23 |
| 3 Resultados | 24 |
| 3.1 Ninhos de <i>Euglossa</i> capturados em cavidades artificiais | 24 |
| 3.2 Processos de fundação de ninhos acompanhados diariamente | 36 |
| 3.3 O parasitismo nos ninhos capturados | 41 |
| 4 Discussão | 45 |
| CAPÍTULO II: O processo de reativação de ninhos e o desvio reprodutivo em <i>Euglossa cordata</i> (Hymenoptera, Apidae, <i>Euglossini</i>) | 54 |
| 1 Introdução | 55 |
| 2 Material e Métodos | 59 |
| 2.1 Observações das reativações de ninhos de <i>Euglossa cordata</i> | 60 |
| 2.2 Análises de desvio reprodutivo durante as reativações de ninhos | 62 |
| 3 Resultados | 65 |
| 3.1 Características dos processos de reativação em ninhos de <i>Euglossa cordata</i> | 65 |

| | |
|--|------------|
| 3.2 Análises genéticas de parentesco e estimativas de desvio reprodutivo | 76 |
| 4 Discussão | 86 |
| CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS | 98 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 101 |
| ANEXOS | 108 |

INTRODUÇÃO GERAL

1 As abelhas Euglossini – Biologia de nidificação e comportamento social

As abelhas da tribo Euglossini recebem este nome devido a uma característica morfológica marcante, a presença de uma glossa (língua) muito longa, podendo ultrapassar o tamanho do corpo em algumas espécies (DRESSLER, 1982). Outra característica que chama a atenção é o tegumento, frequentemente metálico e de diferentes cores: verde, azul, roxo, vermelho, cobre (ROUBIK; HANSON, 2004). Estas abelhas estão restritas ao continente americano e sua faixa de distribuição vai desde o sul dos Estados Unidos (SILVEIRA; MELO; ALMEIDA, 2002; SKOV; WILEY, 2005; PEMBERTON; WHEELER, 2006) e norte do México até a Argentina (PEARSON; DRESSLER, 1985; ROUBIK; HANSON, 2004).

A verificação de que os machos de Euglossini são atraídos por iscas odores sintéticas, devido ao comportamento de coletar fragrâncias na natureza (DODSON et al., 1969), proporcionou um avanço significativo nos estudos sobre a caracterização das faunas de diversos locais (CAMERON, 2004; NEMÉSIO; SILVEIRA, 2007). Atualmente, mais de 200 espécies estão descritas (RAMÍREZ et al., 2010; NEMÉSIO; RASMUSSEN, 2011), distribuídas entre cinco gêneros, sendo três de vida livre, *Euglossa* Latreille 1802, *Eulaema* Lepeletier 1841 e *Eufriesea* Cockerell 1909, e dois cleptoparasitas, *Aglae* Lepeletier & Serville 1825 e *Exaerete* Hoffmannsegg 1817 (MICHENER, 2007).

Se a partir da década de 1960, a descoberta das iscas odores fez com que a taxonomia e a distribuição de muitas espécies de Euglossini se tornassem conhecidas, a biologia de nidificação das espécies desta tribo ainda permanece pouco conhecida (CAMERON, 2004). Estima-se que cerca de 20% das espécies do grupo tenham a estrutura de seus ninhos relatada (GARÓFALO, 1994; RAMÍREZ et

al., 2002). De acordo com alguns autores, essa falta de informação é devida ao fato dos ninhos de Euglossini não serem facilmente encontrados (DRESSLER, 1982; GARÓFALO, 1994; CAMERON, 2004).

Em relação à biologia de nidificação, é possível verificar que a nidificação em cavidades preexistentes é uma característica apresentada pela maioria das espécies de Euglossini, embora os substratos sejam diversos (GARÓFALO, 1994; RAMÍREZ et al., 2002). De acordo com Garófalo (1994), há relatos de ninhos encontrados em troncos e galhos de árvores, cavidades no solo, em ninhos abandonados de *Xylocopa* ssp., formigueiros e/ou termiteiros abandonados, caixas de madeira, bambu, blocos de cimento utilizados em construções, entre outros. Por outro lado, os ninhos aéreos, expostos no ambiente, construídos fixos sob folhas, galhos ou ramos de árvores, parecem ser mais raros, sendo descritos para poucas espécies (DODSON, 1966; YOUNG, 1985; EBERHARD, 1988). Devido ao fato de muitas espécies nidificarem em cavidades preexistentes, a estratégia de ninhos-armadilha, que consiste em dispor no campo secções de bambu ou pequenas caixas de madeira para atrair fêmeas nidificantes, tem sido apontada como um procedimento alternativo eficaz para aumentar o número de espécies estudadas (GARÓFALO et al., 1993; CAMERON, 2004).

Embora ainda se conheça pouco sobre a biologia da nidificação e sobre o comportamento social na tribo Euglossini, estes estudos sempre foram considerados promissores, principalmente os voltados à evolução do comportamento social (ZUCCHI et al., 1969; DRESSLER, 1982; GARÓFALO, 1994; RAMÍREZ et al., 2002; CAMERON; RAMÍREZ, 2001; SOUCY et al., 2003; CAMERON, 2004; GARÓFALO, 2006; AUGUSTO; GARÓFALO, 2004, 2009, 2011). Esta expectativa é resultante, em grande parte, da posição dos Euglossini dentro do

grupo monofilético conhecido como “Apidae corbiculados”, as abelhas corbiculadas (GARÓFALO, 1994; CAMERON; RAMÍREZ, 2001). O grupo é formado pelas tribos Apini, Bombini, Meliponini e Euglossini, sendo as espécies da tribo Euglossini as únicas não claramente eussociais (MICHENER, 2007), já que todos os Apini e Meliponini são altamente eussociais e os Bombini são primitivamente eussociais. Sendo assim, como a maioria dos outros Apidae é eussocial, existe a expectativa de serem encontrados nos Euglossini estágios intermediários entre os comportamentos solitário e eussocial (ZUCCHI et al., 1969; DRESSLER, 1982).

Os estudos realizados até o momento indicam que na tribo Euglossini ocorrem espécies solitárias, comunais e primitivamente sociais (AUGUSTO; GARÓFALO, 2009). No entanto, dos três gêneros de vida livre da tribo Euglossini, apenas no gênero *Euglossa* são conhecidas espécies solitárias, comunais e espécies com ninhos compartilhados por mais de uma fêmea, ocorrendo ali divisão de trabalho reprodutivo e sobreposição de gerações (AUGUSTO; GARÓFALO, 2011). Portanto, as espécies do gênero *Euglossa* parecem ser as mais promissoras para os estudos da evolução do comportamento social (GARÓFALO, 2006).

1.1 O comportamento social no gênero *Euglossa*

Os estudos sobre a estrutura social no gênero *Euglossa* estão restritos a poucas espécies: *E. atroveneta* Dressler 1978 (RAMÍREZ-ARRIAGA et al., 1996), *E. annectans* Dressler 1982 (GARÓFALO et al., 1998), *E. cordata* (Linnaeus 1758) (GARÓFALO, 1985; AUGUSTO; GARÓFALO, 2011), *E. fimbriata* Moure 1968 (AUGUSTO; GARÓFALO, 2009), *E. hyacinthina* Dressler 1982 (SOUCY et al., 2003), *E. melanotricha* Moure 1967 (ANDRADE-SILVA; NASCIMENTO, 2012), *E. nigropilosa* Moure 1965 (OTERO et al., 2008), *E. townsendi* Cockerell 1904

(AUGUSTO; GARÓFALO, 2004), *E. truncata* Rebêlo & Moure 1996 (BRAGA; GARÓFALO, 1998), *E. viridissima* Friese 1899 (COCOM PECH et al., 2008), *E. imperialis* Cockerell 1922 e *E. ignita* Smith 1874 (ROBERTS; DODSON, 1967). Considerando-se que o gênero *Euglossa* tem cerca de 110 espécies descritas (RAMÍREZ et al., 2010), fica evidente que muito pouco se conhece do comportamento social nesse gênero.

Os estudos indicam que a fundação do ninho no gênero *Euglossa* é um processo solitário; exceções foram relatadas para *E. annectans* (GARÓFALO et al., 1998) e *E. hyacinthina* (SOUCY et al., 2003). A ocorrência de mais de uma fêmea no ninho ocorre frequentemente durante os processos de reativação (AUGUSTO; GARÓFALO, 2004). A fêmea fundadora, após fechar um número variável de células (1 a 14), frequentemente permanece no ninho até a emergência dos descendentes. Algumas fêmeas da prole tendem a retornar ao ninho materno, reativando-o. Durante o processo de reativação, a mãe pode ou não estar presente (GARÓFALO, 1985; AUGUSTO; GARÓFALO, 2004; 2011). Portanto, pequenas colônias podem ser formadas por fêmeas de diferentes gerações (mãe e filhas), da mesma geração e, em raras ocasiões, por fêmeas não aparentadas, como observado em *E. hyacinthina* (SOUCY et al., 2003), *E. annectans* (GARÓFALO et al., 1998), *E. townsendi* (AUGUSTO; GARÓFALO, 2004) e *E. cordata* (AUGUSTO; GARÓFALO, 2011).

Os comportamentos descritos para as espécies de *Euglossa* anteriormente citadas permitem que algumas delas sejam agrupadas, de acordo com as similaridades existentes.

As espécies *E. annectans* (GARÓFALO et al., 1998), *E. hyacinthina* (SOUCY et al., 2003), *E. nigropilosa* (OTERO et al., 2008), *E. imperialis* e *E. ignita*

(ROBERTS; DODSON, 1967) podem ser agrupadas devido ao fato de que as fêmeas reativadoras parecem apenas compartilhar a cavidade, caracterizando o comportamento comunal. No entanto, de acordo com o estudo de Boff (2012) em *E. annectans*, embora não tenham fêmeas com comportamento dominante e todas trabalhem em seus próprios conjuntos de células, podem ocorrer oofagias, principalmente quando a fêmea que operculou uma determinada célula está ausente, realizando as atividades de campo.

Um segundo grupo envolve as espécies *E. atroveneta* (RAMÍREZ-ARRIAGA et al., 1996), *E. fimbriata* (AUGUSTO; GARÓFALO, 2009) e *E. cordata* (GARÓFALO, 1985; AUGUSTO; GARÓFALO, 2011). Nos ninhos destas espécies, uma das fêmeas reativadoras assume o comportamento de dominância e as outras o de subordinação. As fêmeas com comportamento de subordinação realizam as atividades de reuso/construção de células e aprovisionamento, enquanto as fêmeas dominantes raramente saem do ninho. As fêmeas dominantes possuem o comportamento de ovipositar em células anteriormente ovipositadas pelas subordinadas; elas comem os ovos presentes nas células ovipositadas pelas subordinadas (oofagia) e os substituem pelos seus (RAMÍREZ-ARRIAGA et al., 1996; AUGUSTO; GARÓFALO, 2009; 2011). A idade da fêmea parece estar relacionada com a exibição dos comportamentos de dominância e subordinação, pois nos ninhos dessas espécies, as fêmeas mais velhas são as dominantes (RAMÍREZ-ARRIAGA et al., 1996; AUGUSTO; GARÓFALO, 2009; 2011). Outra característica compartilhada neste grupo é a presença de comportamentos agonísticos, em que as fêmeas dominantes são agressivas em relação às subordinadas (RAMÍREZ-ARRIAGA et al., 1996; AUGUSTO; GARÓFALO, 2009; 2011). Além disso, para *E. cordata* e *E. fimbriata*, os autores (AUGUSTO;

GARÓFALO, 2009, 2011) acreditam que apenas a fêmea dominante deixe descendentes, pois a fêmea com comportamento dominante parece realizar oofagias em todas as células ovipositadas pelas subordinadas.

Por outro lado, *E. melanotricha* (ANDRADE-SILVA; NASCIMENTO, 2012), *E. townsendi* (AUGUSTO; GARÓFALO, 2004), *E. truncata* (BRAGA; GARÓFALO, 1998) e *E. viridissima* (COCOM PECH et al., 2008) apresentam particularidades que dificultam agrupá-las. No entanto, uma característica que parece estar presente em todas essas espécies é o comportamento de dominância assumido pela mãe nas associações entre mãe e filhas.

Em *E. melanotricha*, parece existir apenas uma fêmea com comportamento dominante no interior dos ninhos e esta fêmea é agressiva em relação às fêmeas com comportamento de subordinação; ou seja, ocorrem comportamentos agonísticos no interior dos ninhos (ANDRADE-SILVA; NASCIMENTO, 2012). A idade das fêmeas não parece ser um fator tão relacionado à exibição dos comportamentos de dominância, como em *E. atroveneta* (RAMÍREZ-ARRIAGA et al., 1996), *E. cordata* (AUGUSTO; GARÓFALO, 2011) e *E. fimbriata* (AUGUSTO; GARÓFALO, 2009). Além disso, em *E. melanotricha*, a fêmea com comportamento de dominância parece não ser a responsável por toda a prole (ANDRADE-SILVA, comunicação pessoal).

Diferentemente do que foi descrito para *E. melanotricha* (ANDRADE-SILVA; NASCIMENTO, 2012), em *E. townsendi* não ocorre comportamentos agonísticos no interior dos ninhos (AUGUSTO; GARÓFALO, 2004). A idade da fêmea também não é determinante para a exibição de comportamentos de dominância ou subordinação, pois nem sempre as fêmeas mais velhas apresentam comportamento de dominância (AUGUSTO; GARÓFALO, 2004). Em *E. townsendi*,

exceto nas relações matrilineais, pode haver mais de uma fêmea com comportamento de dominância no ninho, de forma que múltiplas substituições de ovos podem ocorrer (AUGUSTO; GARÓFALO, 2004). Estas múltiplas substituições dificultam estabelecer a maternidade dos indivíduos da prole (AUGUSTO; GARÓFALO, 2004). Para *E. truncata*, Braga e Garófalo (1998) relatam um sistema parecido ao descrito para *E. townsendi*, em que ocorreria mais de uma substituição de ovos em uma mesma célula.

Em *E. viridissima* foram observadas apenas associações entre mães e filhas, o que impossibilita comparar esta espécie com as outras, considerando os demais tipos de associações. De acordo com Cocom Pech et al. (2008), a mãe assumiu o comportamento de dominância nas reativações observadas. Um comportamento observado nesta espécie, não relatado nas demais, foi o comportamento da mãe ovipositar em células não previamente ovipositadas pelas filhas (COCOM PECH et al., 2008). Quando as mães ovipositavam em células não anteriormente ovipositadas, as filhas faziam oofagia nas células ovipositadas pela mãe e, então, ovipositavam nas células. Nestas células, a oviposição das filhas era seguida pela oofagia das mães e, caso as filhas tentassem realizar uma segunda oofagia, as mães disparavam um comportamento ameaçador em relação às filhas – elas se aproximavam da filha com suas pernas dianteiras e mandíbulas abertas, mas sem qualquer contato físico (COCOM PECH et al., 2008). Estes autores consideraram que a divisão de trabalho reprodutivo em *E. viridissima* ocorre sem nenhuma aparente dominância física da mãe em relação às suas filhas. De acordo com Cocom Pech et al. (2008), quando a reativação é realizada na presença de apenas uma filha, as mães garantiriam a maternidade de todos os indivíduos da prole. No entanto, quando existem duas filhas no ninho, a mãe seria responsável por

50% da prole, enquanto as duas filhas dividiriam a maternidade da outra metade. Recentemente, Boff et al. (2015) relataram a existência de uma fêmea subordinada especializada na defesa do ninho em *E. viridissima*. Quando a associação é formada por três fêmeas, a subordinada mais nova sai pouco do ninho para realizar as atividades de forrageamento. Ela permanece a maior parte do tempo na entrada do ninho, enquanto a fêmea dominante permanece a maior parte do tempo sobre as células. De acordo com Boff et al. (2015), a presença da subordinada no ninho diminui o sucesso que outras fêmeas da mesma espécie têm ao tentar roubar resina.

As abelhas do gênero *Euglossa* realmente podem fornecer informações valiosas para uma maior compreensão das vias trilhadas na evolução do comportamento social dentro do grupo de abelhas corbiculadas. Seria possível explorar características como a presença ou ausência de agressão, as diferentes estruturas sociais que podem ser estabelecidas em uma mesma espécie, dependendo do tipo de associação formada entre as fêmeas reativadoras, entre outras características. No tópico seguinte, uma importante teoria que diz respeito à evolução do comportamento social no grupo das abelhas corbiculadas será apresentada.

2 A evolução do comportamento social nos Apidae corbiculados – Teoria de seleção de parentesco

O comportamento social nas abelhas parece ter evoluído de forma independente pelo menos três vezes (CARDINAL; DANFORH, 2011; DANFORTH et al., 2013). No entanto, apenas no grupo de abelhas corbiculadas o comportamento social atinge níveis mais sofisticados e permanentes (O'TOOLE; RAW, 2004), sendo

o único grupo que apresenta o comportamento definido como altamente eussocial (MICHENER, 2007).

A caracterização do comportamento eussocial envolve a sobreposição de gerações, o cuidado com a prole e divisão de trabalho reprodutivo. A divisão de trabalho reprodutivo depende de uma ação altruísta por parte de algumas fêmeas, que não se reproduzem em detrimento da reprodução de outras fêmeas (KELLER; CHAPUISAT, 1999). Como as relações assimétricas de parentesco genético, decorrentes do sistema haplodiploide de determinação do sexo, tornam as irmãs completas das abelhas mais aparentadas entre si ($r = 0,75$) do que com seus próprios filhos ($r = 0,5$), cabe aqui as considerações da teoria de seleção de parentesco (*kin selection theory*), proposta por Hamilton (1964) que estabelece que o parentesco entre os indivíduos pode favorecer a evolução de características altruístas.

De acordo com Hamilton (1964), os atos altruístas são mais passíveis de serem selecionados quanto mais aparentados são os indivíduos e quando o decréscimo na aptidão (fitness) do altruísta é relativamente menor em comparação com o aumento do fitness de seu beneficiário. Sendo assim, o aumento ou decréscimo na frequência de um alelo seria afetado não somente pelo fitness do seu portador, mas pelo seu efeito sobre o fitness de outros indivíduos que compartilham este alelo por descendência (HAMILTON, 1964).

Portanto, de acordo com a teoria de seleção de parentesco de Hamilton (1964), uma característica altruísta irá aumentar em frequência em uma população sempre que o custo imposto ao seu portador em termos de fitness direto (c) for menor que o produto do benefício em termos de fitness indireto (b) e o

coeficiente de parentesco (r) entre o doador e o beneficiário da ação, isto é: $c < r \cdot b$ (HAMILTON, 1964; KELLER; CHAPUISAT, 1999; LIAO et al., 2015).

Como mencionado anteriormente, as fêmeas de abelhas são mais aparentadas com suas irmãs do que com seus próprios filhos; sendo assim, ajudar a mãe a produzir uma prole maior e fértil estará associado a um alto fitness indireto, a soma do fitness direto mais o indireto, o que Hamilton denominou de fitness inclusivo. Deste modo, de acordo com a teoria de seleção de parentesco, as abelhas apresentariam condições favoráveis para o surgimento de características altruístas que resultariam na divisão de trabalho reprodutivo (QUELLER; STRASSMANN, 1998; KELLER; CHAPUISAT, 1999).

Um ponto importante a ser considerado é o fato de que o alto parentesco entre as fêmeas irmãs ($r = 0,75$) em uma colônia de abelhas resulta da monandria da mãe; ou seja, para que todas as irmãs sejam completas, a mãe deve se acasalar com um único macho (HUGLES et al., 2008).

Considerando o grupo de abelhas corbiculadas, os estudos indicam que as fêmeas das tribos Bombini e Meliponini são usualmente monândricas e que as fêmeas de Apini são altamente poliândricas (STRASSMANN, 2001; HUGLES et al., 2008). Recentemente, Hughes et al. (2008) demonstraram que a poliandria apresentada pelos Apini é uma característica derivada, tendo sido originada após o estabelecimento do comportamento eussocial. Na tribo Euglossini, os estudos realizados por meio da análise de genótipos da progênie encontrada no interior dos ninhos de *E. cordata*, *E. townsendi* (SOUZA, 2007; OI, 2010), *E. viridissima*, *E. hemichlora* e *E. dilemma* (ZIMMERMANN et al., 2009) indicam que a monandria provavelmente seja uma regra.

Parece haver um consenso sobre a importância da seleção de parentesco como força seletiva na evolução da divisão de trabalho reprodutivo e da eussocialidade (QUELLER; STRASSMANN, 1998; KELLER; CHAPUISAT, 1999; STRASSMANN et al., 2011; LIAO et. al., 2015). Outra predição da teoria de seleção de parentesco é a existência de conflito na colônia, isto é, a vida no seu interior não seria tão harmoniosa como aparenta ser à primeira vista. Os indivíduos, por não serem geneticamente idênticos, apresentam uma parcela de interesses genéticos distintos, podendo agir de forma egoísta na tentativa de propagar seus próprios genes. Estes conflitos de interesse entre os membros influenciam a própria evolução do comportamento altruísta e, por consequência, a evolução da divisão de trabalho reprodutivo. No entanto, apesar de predizer a existência de conflito, a teoria de seleção de parentesco não prediz como estes conflitos poderiam ser resolvidos e como isto afetaria a evolução do comportamento altruísta (KELLER; CHAPUISAT, 1999). De acordo com Keller e Chapuisat (1999), os interesses divergentes entre os membros de uma colônia e a capacidade deles influenciarem na reprodução um dos outros, por meio de coerção ou suborno, são considerados pelos modelos do desvio reprodutivo (*models of reproductive skew*), que serão abordados no próximo tópico.

3 Os modelos do desvio reprodutivo

Os modelos do desvio reprodutivo tentam explicar as taxas reprodutivas diferenciais dos membros do grupo, existentes em diferentes sociedades animais. Eles assumem que existe um conflito de interesses entre os membros, pois cada um estaria interessado em obter uma maior parcela da reprodução. Um conjunto de predições é apresentado pelos modelos, na tentativa de

explicar como o conflito de interesses pode ser resolvido, para que um equilíbrio seja atingido (REEVE; KELLER, 2001).

Tais modelos são divididos em duas classes: a dos modelos transacionais, a qual possui dois modelos principais, o da concessão e o da restrição, e, a classe dos modelos de compromisso (ou “cabo-de-guerra”). A primeira classe de modelos considera que existe uma troca de benefícios entre os membros do grupo; os membros concedem oportunidades reprodutivas uns aos outros. Já na segunda classe, não há concessão de oportunidades reprodutivas; os membros atuam de maneira egoísta competindo pela maior parcela da reprodução (REEVE; KELLER, 2001).

Outro ponto de divergência entre os modelos é o fato de que os modelos transacionais assumem que as variáveis produtividade do grupo (k), parentesco genético (r) e chance dos indivíduos viverem sozinhos (x) atuem em conjunto, resultando em oscilações nas taxas de desvio reprodutivo. Como resultado, os grupos atingem o equilíbrio em momentos diferentes. Por outro lado, os modelos de compromisso assumem que as restrições ecológicas e a produtividade do grupo não afetam as taxas de desvio reprodutivo, mas o parentesco genético (r) sim. No entanto, o poder desta variável em influenciar as taxas de desvio é pequeno (Tabela 1) (REEVE; KELLER, 2001).

Tabela 1. Correlação entre desvio reprodutivo e alguns parâmetros, predita pelos dois modelos de desvio reprodutivo e o modelo de agressão (REEVE; KELLER, 2001).

| Correlação entre as variáveis e o desvio reprodutivo preditas pelos modelos do desvio reprodutivo | | | |
|--|------------------------------|------------------|-------------------------|
| Variáveis | Modelos transacionais | | “Cabo-de-guerra” |
| | Concessão | Restrição | |
| <i>x</i> | Negativa | Positiva | Ausente |
| <i>k</i> | Positiva | Negativa | Ausente |
| <i>r</i> | Positiva | Negativa | Ausente ou Negativa |
| Correlação entre agressão e desvio reprodutivo predita pelos modelos de agressão: | | | |
| | Transacionais | | “Cabo-de-guerra” |
| | Positiva | | Negativa |

x= chance dos indivíduos terem sucesso vivendo sozinhos; *k*= produtividade do grupo; *r*= parentesco genético.

3.1 Os modelos transacionais

Na classe dos modelos transacionais, dois modelos principais foram propostos: o da concessão e o da restrição. Uma diferença importante entre estes modelos é o papel desempenhado pelos indivíduos dominantes e subordinados no controle da divisão de trabalho reprodutivo e da adesão ao grupo (REEVE; KELLER, 2001).

No modelo da concessão, o indivíduo dominante controla tanto a divisão de trabalho reprodutivo como a adesão do subordinado ao grupo. Cabe ao subordinado decidir se fica ou não no grupo, decisão tomada com base na parcela da reprodução que lhe é concedida como incentivo para que ele ali permaneça. O dominante lhe cede apenas a parcela mínima necessária para que ele não abandone o grupo. Neste modelo, as variáveis produtividade do grupo (*k*) e parentesco genético (*r*) se correlacionam de maneira positiva com o desvio reprodutivo. Por outro lado, a chance de viver sozinho (*x*) se correlaciona de maneira negativa com o desvio reprodutivo (Tabela 1) (REEVE; KELLER, 2001).

O entendimento do tipo de correlação existente entre variáveis *k*, *r* e *x* e o desvio reprodutivo é possível quando o papel dos indivíduos no modelo da

concessão é considerado. Por exemplo, se as chances de viver sozinho fossem elevadas (x alto), por existir poucas restrições ecológicas no ambiente, o indivíduo dominante concederia uma maior parcela da reprodução ao subordinado para que ele não decidisse abandonar o grupo; logo, o desvio reprodutivo diminuiria. Por outro lado, se o parentesco genético fosse alto (r alto) e a produtividade do grupo fosse alta (k alto), a situação seria favorável para o subordinado, pois o fitness inclusivo obtido pelo subordinado seria alto. Portanto, nestas situações, o indivíduo dominante concederia uma menor parcela da reprodução para o subordinado como incentivo para que ele não abandonasse o grupo e o desvio reprodutivo aumentaria (Tabela 1) (REEVE; KELLER, 2001).

As predições do modelo da restrição são exatamente opostas às do modelo da concessão (Tabela 1). Isto se deve ao fato deste modelo assumir que o papel do indivíduo subordinado é o controle da divisão de trabalho reprodutivo, enquanto que o do dominante é controlar a adesão do subordinado ao grupo. De acordo com o modelo da restrição, o dominante ameaça expulsar o subordinado dependendo da parcela da reprodução que o subordinado tome para si (REEVE; KELLER, 2001).

No modelo da restrição, o papel dos indivíduos também terá que ser considerado para que a correlação das variáveis k , r e x com o desvio reprodutivo possa ser bem interpretada. Por exemplo, se as chances de viver sozinho fossem grandes (x alto), o dominante não hesitaria em mandar o subordinado embora, caso ele decidisse tomar uma grande parcela da reprodução para si. Ou seja, o dominante restringiria a reprodução do subordinado, sob a ameaça de expulsá-lo do grupo. O subordinado, como mantenedor do controle da divisão do trabalho reprodutivo, passaria a tomar uma menor parcela reprodutiva para si, para não ser

expulso e, deste modo, o desvio reprodutivo aumentaria. De modo diferente, quando a produtividade do grupo aumentasse (k) e o parentesco genético fosse alto (r), o dominante passaria a ser mais tolerante com o subordinado. O dominante não expulsaria o subordinado do grupo, pelo fato do parentesco e da produtividade do grupo serem altos, pois nesta situação o fitness inclusivo do dominante seria alto. Desta forma, o desvio reprodutivo diminuiria (REEVE; KELLER, 2001).

É importante perceber que o fato do modelo da restrição assumir que o subordinado controla a reprodução e o dominante a adesão, resulta em um jogo de forças que tem como resultado taxas de desvio reprodutivo dependentes das variáveis x , k e r . De modo diferente, como o modelo da concessão considera que o dominante tem o controle sobre a reprodução e sobre a adesão do subordinado ao grupo, o desvio reprodutivo é dado apenas pelas ponderações do dominante, levando em consideração as variáveis x , k e r (REEVE; KELLER, 2001).

3.2 Os modelos de compromisso (“modelos cabo-de-guerra”)

Nestes modelos, conforme mencionado anteriormente, os indivíduos agem de maneira egoísta reivindicando uma maior parcela da reprodução. Um indivíduo se reproduzir mais do que o outro depende das estratégias egoístas de cada membro. A dominância se instala devido à maior ou menor habilidade competitiva de um indivíduo. Os indivíduos com maior potencial competitivo são dominantes e os com menor, os subordinados (REEVE; KELLER, 2001).

Este modelo prediz correlação negativa entre parentesco (r) e desvio reprodutivo (Tabela 1). Por exemplo, quando o parentesco (r) entre os membros é alto, os jogadores reduzem seus esforços competitivos e o desvio reprodutivo diminui. De acordo com este modelo, o parentesco é a única variável capaz de

influenciar as taxas de desvio reprodutivo. No entanto, a influência desta variável (r) é pequena e, na maioria das situações, ela não tem sequer influência, resultando em ausência de correlação entre parentesco e desvio reprodutivo (REEVE; KELLER, 2001).

Atualmente, existem propostas que consideram que os modelos da restrição e da concessão são os extremos de um contínuo. De um lado, estariam os modelos da concessão, no qual o indivíduo dominante tem o controle da divisão de trabalho reprodutivo. Do outro lado, estariam os modelos da restrição, no qual o dominante não tem nenhum controle da divisão de trabalho reprodutivo. No meio deste contínuo, existe uma zona de controle incompleto, onde as regras dos modelos de compromisso se aplicam. Portanto, de acordo com estas propostas, nas sociedades animais, podem ser encontrados padrões comportamentais preditos pelos três modelos, dependendo da situação (JONSTONE; CANT, 2009).

3.3 A variável agressão adicionada aos modelos transacionais e de compromisso

Existem alguns modelos que adicionam a variável agressão (f) às classes de modelos transacionais e de compromisso. Tais modelos predizem correlação positiva entre agressão e desvio reprodutivo para a classe de modelos transacionais e correlação negativa para os modelos de compromisso (REEVE; KELLER, 2001; JONSTONE; CANT, 2009).

Os modelos que incluem a agressão consideram que uma condição propícia para o surgimento dela, na classe de modelos transacionais, é quando a chance de viver sozinho com sucesso é baixa, a produtividade do grupo é alta e o parentesco genético é alto. Nesta condição, o dominante se torna mais agressivo e a

reação do subordinado é se contentar com uma menor parcela da reprodução (no modelo da concessão) ou diminuir suas taxas reprodutivas (no modelo da restrição), ocasionando, em ambos os casos, um aumento do desvio reprodutivo (REEVE; KELLER, 2001) (Tabela 1).

No caso dos modelos de compromisso, uma situação propícia para o surgimento da agressão é quando as habilidades competitivas dos membros são equiparáveis; nesta condição, a agressão aumenta por parte dos dois membros e o desvio reprodutivo diminui (REEVE; KELLER, 2001) (Tabela 1).

De acordo com a descrição destes modelos, pode-se perceber que suas predições, se passíveis de teste, podem contribuir para um maior entendimento da divisão de trabalho reprodutivo nas diferentes sociedades animais. Conforme mencionado, as abelhas da tribo Euglossini, mais especificamente as do gênero *Euglossa*, têm sido consideradas promissoras para investigações sobre a evolução do comportamento social e, por consequência, sobre divisão de trabalho reprodutivo, no grupo das abelhas corbiculadas (GARÓFALO, 2006). Deste modo, considerando-se o que foi apresentado nos parágrafos anteriores, fica evidente que os estudos de comportamento em *Euglossa* que tenham por objetivo testar as predições destes modelos permitirão definir melhor como as espécies deste gênero resolveram seus conflitos reprodutivos. Desta forma, será possível compreender também um pouco mais a origem da divisão de trabalho reprodutivo nas abelhas corbiculadas.

OBJETIVOS

Com base no que foi apresentado sobre a biologia de nidificação e o comportamento social em *Euglossini* e levando em consideração a teoria da seleção de parentesco e os modelos do desvio reprodutivo, este trabalho tem como objetivo geral:

Investigar a divisão de trabalho reprodutivo em espécies do gênero *Euglossa*, gerando conhecimentos que auxiliem no maior entendimento da evolução do comportamento social dentro do grupo de abelhas corbiculadas.

De forma a cumprir o objetivo geral, este trabalho tem dois objetivos específicos, que são abordados em capítulos distintos na tese. Estes objetivos são:

- 1) Estudar a biologia de nidificação de espécies do gênero *Euglossa*, ampliando o conhecimento sobre o processo de fundação dos ninhos, uso da cavidade pelas fêmeas, presença de inimigos naturais, entre outros aspectos.

A técnica de ninhos-armadilha foi utilizada para a obtenção de ninhos, dada a eficiência desta metodologia. Os resultados relativos à biologia da nidificação estão relatados e discutidos no Capítulo I.

- 2) Investigar a presença de correlação entre o desvio reprodutivo e parentesco nos processos de reativação de ninhos da espécie *E. cordata*, nos quais as fêmeas reativadoras estabelecem diferentes tipos de associações, resultando em graus distintos de parentesco entre elas.

Uma vez estimadas as taxas de desvio reprodutivo, relacionadas às diferentes associações entre as fêmeas, as predições dos modelos do desvio reprodutivo foram consideradas, para verificar se um ou mais dos modelos podem ser utilizados para explicar o padrão existente em *E. cordata*, contribuindo para um melhor entendimento da evolução do trabalho reprodutivo nesta espécie. Para

estimar as taxas de desvio reprodutivo, observações de comportamento foram associadas a análises de parentesco entre a prole e as fêmeas reativadoras, mediante o uso de marcadores microssatélites. Os resultados referentes ao processo de reativação de ninhos e desvio reprodutivo em *E. cordata* estão apresentados no Capítulo II desta tese.

CAPÍTULO I: As abelhas do gênero *Euglossa* (Hymenoptera, Apidae, Euglossini): aspectos sobre a sua biologia de nidificação

Resumo

A tribo Euglossini é composta por cinco gêneros, três de vida livre, *Euglossa*, *Eulaema* e *Eufriesea* e dois cleptoparasitas, *Exaerete* e *Aglae*. Muito pouco se sabe sobre a biologia de nidificação em Euglossini, embora muitas espécies tenham sido descritas para a tribo. Apesar de poucas espécies terem sua biologia de nidificação conhecida, os relatos existentes indicam que a nidificação em cavidades preexistentes é um hábito muito mais comum do que a construção de ninhos aéreos, expostos no ambiente. Considerando-se a falta de conhecimentos sobre a biologia de nidificação em Euglossini e a eficiência da estratégia de ninhos-armadilha para a atração de fêmeas nidificantes, estratégia que consiste em oferecer cavidades artificiais para as fêmeas nidificarem, este estudo buscou ampliar os conhecimentos sobre a biologia de nidificação em *Euglossa*, o gênero com maior número de espécies descritas da tribo, cerca de 110. Para atrair fêmeas nidificantes, seções de bambu e pequenas caixas de madeira foram distribuídas no campus da Universidade Federal de São Carlos, SP (UFSCar), no Horto Florestal Municipal “Navarro de Andrade” (distanto 2 km da UFSCar) e na Universidade de São Paulo – Campus de Ribeirão Preto, mais especificamente na Faculdade de Filosofia Ciências e Letras e no Departamento de Genética da Faculdade de Medicina. A partir do monitoramento dos 44 ninhos obtidos de *Euglossa*, novas informações sobre a biologia de nidificação, principalmente no que diz respeito ao parasitismo, são relatadas neste estudo.

Palavras-Chave: Euglossini, *Euglossa*, hábito de nidificação, ninhos-armadilha.

1 Introdução

A tribo Euglossini possui mais de 200 espécies descritas (RAMÍREZ et al., 2010; NEMÉSIO; RASMUSSEN, 2011), distribuídas entre cinco gêneros. As espécies dos gêneros *Euglossa*, *Eulaema* e *Eufriesea*, são de vida livre, enquanto que as espécies de *Aglae* e *Exaerete* são cleptoparasitas de ninhos de outros Euglossini (MICHENER, 2007). As espécies de *Exaerete* parasitam ninhos de *Eufriesea* e *Eulaema*, enquanto que a única espécie descrita para o gênero *Aglae* é parasita de ninhos de *Eulaema* (GARÓFALO, 1994; GARÓFALO; ROZEN, 2001).

Apesar do grande número de espécies descritas, a biologia de nidificação das espécies da tribo Euglossini ainda é pouco conhecida. Estima-se que cerca de 20% delas tenham a estrutura de seus ninhos descrita (GARÓFALO, 1994; RAMÍREZ et al., 2002). A falta de conhecimento sobre a biologia de nidificação do grupo está relacionada com o fato dos ninhos serem dificilmente encontrados na natureza (DRESSLER, 1982; GARÓFALO, 1994; CAMERON, 2004). De acordo com o que já foi descrito, é possível perceber que o hábito de nidificação em cavidades preexistentes parece ser o mais comum na tribo, embora os substratos sejam diversos (GARÓFALO, 1994; RAMÍREZ et al., 2002). De acordo com Garófalo (1994), há relatos de ninhos encontrados em troncos e galhos de árvores, cavidades no solo, em ninhos abandonados de *Xylocopa* spp., formigueiros e/ou termiteiros abandonados, caixas de madeira, bambu, blocos de cimento utilizados em construções, entre outros. A construção de ninhos em cavidades dificulta a visualização deles no campo, o que possivelmente resulta na dificuldade de encontrá-los. Os ninhos aéreos, expostos no ambiente, construídos fixos sob folhas, em galhos ou ramos de árvores, foram descritos para poucas espécies e parecem

ser raros (DODSON, 1966; YOUNG, 1985; EBERHARD, 1988; CAPALDI et al., 2007; RIVEROS et al., 2009).

Como o hábito de nidificação em cavidades é, aparentemente, o mais frequente, a estratégia de ninhos-armadilha, em que pequenas secções de bambu ou pequenas caixas de madeira são dispostas no campo para atrair fêmeas nidificantes, é considerada uma metodologia alternativa eficaz para que mais espécies tenham seus ninhos conhecidos e para que o comportamento no interior destes ninhos possa ser observado (GARÓFALO et al., 1993; CAMERON, 2004).

As fêmeas fundam os ninhos solitariamente, o que aparentemente é uma regra na tribo Euglossini. Exceções foram descritas para *E. annectans* (GARÓFALO et al., 1998), *E. hyacinthina* (SOUCY et al., 2003) e *Eulaema nigrita* (GARÓFALO, comunicação pessoal). Os materiais utilizados na construção das células são variados. De modo geral, as espécies de *Eufriesea* utilizam resina e fragmentos de árvores, já as espécies de *Eulaema* utilizam barro, excremento animal e resina, enquanto as espécies de *Euglossa* utilizam apenas resina (GARÓFALO, 1994).

Considerando que a biologia de nidificação é desconhecida ou pouco conhecida para a maioria das espécies da tribo Euglossini, o objetivo deste trabalho foi ampliar os conhecimentos sobre aspectos da biologia de nidificação no gênero *Euglossa*. A estratégia de ninhos-armadilha foi utilizada para obtenção dos ninhos, dada a sua eficácia em atrair fêmeas nidificantes. Os esforços foram concentrados na obtenção de ninhos do gênero *Euglossa*, pois os ninhos obtidos neste estudo foram posteriormente utilizados em análises de comportamento, conforme será descrito no segundo capítulo.

2 Material e Métodos

Para obtenção dos ninhos, foram utilizados dois tipos de ninhos-armadilha. Um dos tipos consistia em secções de bambu, fechadas em uma das extremidades pelo próprio nó, com diferentes diâmetros e comprimentos, as quais foram agrupadas em conjuntos de 10 unidades. Também foram utilizadas caixas de madeira com diferentes dimensões (7,0 x 7,0 X 5,0 cm e 10 x 10 X 5,0 cm) e com uma abertura circular em uma das faces (diâmetro de 1,2 cm).

As armadilhas foram distribuídas no campus da Universidade Federal de São Carlos, SP (UFSCar) (21° 59' 0.091" S; 47° 52' 47.721" W), no Horto Florestal Municipal "Navarro de Andrade" (distanto 2 km da UFSCar) (21° 59' 16.584" S; 47° 52' 23.456" W) e na Universidade de São Paulo – Campus de Ribeirão Preto, mais especificamente na Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras e no Departamento de Genética da Faculdade de Medicina (21° 09' 46.0" S; 47° 51' 39.4" W e 21° 10' 10.1"; S 47° 51' 34.6" W). O período de amostragem ocorreu entre maio de 2012 a dezembro de 2014, exceto no Campus da USP de Ribeirão Preto, onde o período foi de dezembro de 2012 a dezembro de 2014.

As armadilhas foram dispostas em locais protegidos contra as intempéries, aproveitando as próprias construções existentes nas diferentes áreas. Sendo assim, não foi possível estabelecer um número fixo de armadilhas por área; ele foi variável e dependente da quantidade de sítios disponíveis para instalação das armadilhas em cada área.

A inspeção e limpeza dos ninhos foram feitas quinzenalmente, sempre que possível. Quando um ninho em fundação era encontrado, a atividade da fêmea era observada durante o dia (no período entre 9 e 16 horas). O ninho era levado para o laboratório apenas quando havia indícios de que a fêmea havia interrompido

suas atividades reprodutivas e estava aguardando o nascimento da prole. Supunha-se que as atividades haviam cessado quando, em horários que costumam ser pico de atividade de coleta de pólen e resina, geralmente das 10 às 16 horas, a entrada do ninho ficava fechada durante a maior parte do tempo, indicando que a fêmea estava no seu interior. Alguns ninhos foram cedidos pela Profa. Dra. Solange Cristina Augusto, pela Dr. Morgana Silveira Sazan e pelo Prof. Dr. Carlos Alberto Garófalo, coletados, respectivamente, nas regiões de Uberlândia (MG), Indaiatuba (SP) e Jundiaí (SP).

Apesar da data precisa de fundação não ser conhecida para a maioria dos ninhos coletados, a partir da data de captura e do número de células presentes no momento da coleta foi possível ter uma estimativa de quando eles foram fundados. No entanto, em algumas situações, o processo de fundação foi observado desde o início, de forma que, para estes ninhos, a data de fundação é precisa.

2.1 Análise estatística dos dados

O teste- t de Student foi realizado para comparar possíveis diferenças no tempo de desenvolvimento dos indivíduos da prole. Estas análises foram realizadas no programa *BioStat 5.3* (AYRES; AYRES, 2007).

3 Resultados

3.1 Ninhos de *Euglossa* capturados em cavidades artificiais

Nas áreas amostradas, foram coletados 44 ninhos de *Euglossa*. Destes, sete eram de *E. townsendi*, 20 de *E. cordata* e um de *E. truncata*. Não foi possível identificar a espécie dos outros 16 ninhos pelos seguintes motivos: por não terem sido observadas as emergências dos machos (n= 6); porque só emergiram

fêmeas (n= 2); pelo fato de só terem emergido parasitas (n=3); por terem emergido apenas parasitas e fêmeas (n = 3) ou por não ter ocorrido emergências no ninho (n= 2). Foram verificadas fundações ao longo dos dois anos de amostragem, com uma acentuada diminuição no número de ninhos capturados no período de Julho a Novembro (Figura 1).

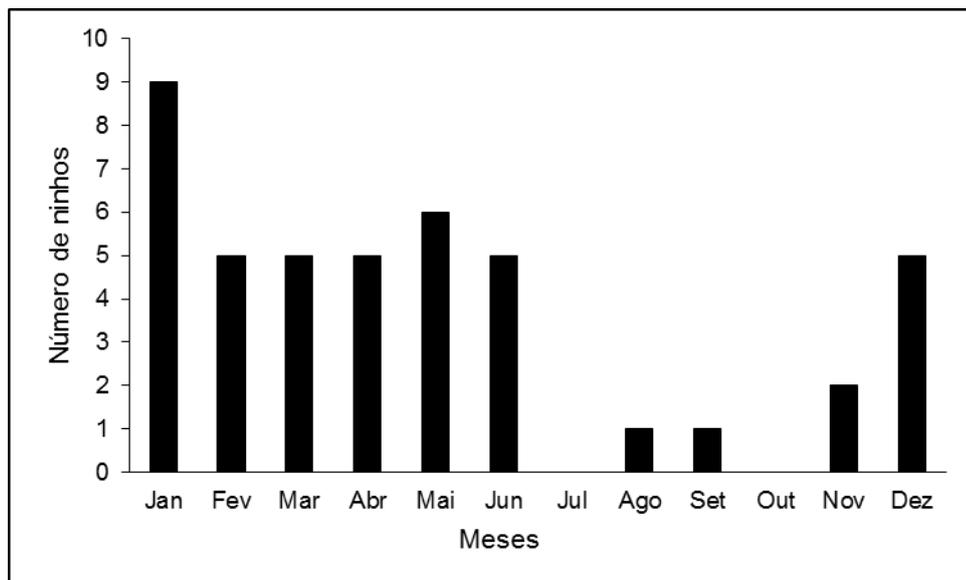


Figura 1. Número de ninhos de *Euglossa* capturados nas armadilhas por mês, considerando os três anos (2012 - 2014) de amostragem.

Apenas em seis ninhos coletados (Tabela 1) havia indícios de que eles já poderiam ter sido reativados, como a presença de mais de uma fêmea no ninho, células das quais já haviam emergido indivíduos e o próprio aspecto do ninho; os demais eram resultantes do processo de fundação solitária. A fêmea fundadora foi encontrada em 27 ninhos (Tabela 2). Em relação aos ninhos que, quando encontrados, já apresentavam sinais de reativação, em quatro deles uma ou mais fêmeas estavam presentes (Tabela 2).

Em todos os ninhos coletados em bambu havia uma parede de resina na parte anterior, a qual tinha uma entrada circular de tamanho suficiente para que a

fêmea passasse por ela. Nos ninhos estabelecidos em caixas de madeira, o orifício circular da caixa teve seu diâmetro diminuído pela construção de uma parede de resina no centro da qual havia um orifício que seria a entrada propriamente dita (Figura 2). As frestas existentes no bambu ou na caixa de madeira estavam vedadas com resina. O diâmetro dos bambus utilizados, bem como o espaço ocupado pelo ninho dentro do bambu foi variável (Tabela 1).

Com relação aos tipos de armadilha utilizados pelas fêmeas nidificantes, as caixas com dimensões menores (7 x 7 x 5 cm) foram as mais utilizadas; secundariamente, as fêmeas preferiram secções de bambu, sendo que as caixas com dimensões maiores (10 x 10 x 8 cm ou 9 x 9 x 10 cm) se mostraram pouco eficazes na atração das fêmeas. No entanto, uma observação importante é que todos os ninhos de *E. townsendi* foram construídos em bambu. Por outro lado, a maioria dos ninhos de *E. cordata* foi coletada em caixas de madeira. Comparando o diâmetro dos bambus utilizados por ambas as espécies, foi possível perceber que *E. townsendi* preferiu bambus de menor diâmetro (Tabela 1).

Tabela 1. Data e local da coleta de ninhos de espécies de *Euglossa*, tipo e dimensões (diâmetro e comprimento) das armadilhas ocupadas pelas fêmeas e espaço (comprimento, em cm) ocupado pelo ninho estabelecido em secção de bambu. (continua)

| Espécies de <i>Euglossa</i> | Código do ninho | Data e local da coleta ou (fundação) | Tipo de armadilha | Dimensões da armadilha | | Espaço (cm) ocupado pelo ninho no bambu |
|-----------------------------|-----------------------|--------------------------------------|-------------------|--------------------------|------------------|---|
| | | | | diâmetro da entrada (cm) | comprimento (cm) | |
| <i>E. townsendi</i> | BOT8 ² | 18/12/2012 | bambu | 1,4 | ? | 13,5 |
| <i>E. townsendi</i> | ALIMP1 ¹ | 04/03/2013 | bambu | 1,9 | 17,9 | 15,0 |
| <i>E. townsendi</i> | BOTL1 ² | 25/01/2013 | bambu | 1,3 | ? | 13,2 |
| <i>E. townsendi</i> | BOTL3 ² | 10/04/2013 | bambu | 1,5 | 25,3 | 18,9 |
| <i>E. townsendi</i> | INDA2 ⁶ | 03/05/2013 | bambu | 1,4 | 22,2 | 13,3 |
| <i>E. townsendi</i> | INDA4 ⁶ | 03/05/2013 | bambu | 1,8 | 21,5 | 14,7 |
| <i>E. townsendi</i> | INDA6 ⁶ | 03/05/2013 | bambu | 1,6 | ? | 8,2 |
| <i>E. cordata</i> | CPROF2 ^{4;a} | 20/02/2013 | caixa de madeira | 1,2 | 7,0x7,0x5,0 | |
| <i>E. cordata</i> | ALIMP2 ² | 08/03/2013 | bambu | 1,2 | ? | 10,9 |
| <i>E. cordata</i> | API1 ^{8;a} | 13/03/2013 | caixa de madeira | 1,2 | 10,0x10,0x8,0 | |
| <i>E. cordata</i> | CINT1 ^{5;a} | 18/03/2013 | caixa de madeira | 1,2 | 10,0x10,0x8,0 | |
| <i>E. cordata</i> | CINT2 ^{5;a} | 18/03/2013 | caixa de madeira | 1,2 | 10,0x10,0x8,0 | |
| <i>E. cordata</i> | CPROF3 ^{4;a} | 10/04/2013 | caixa de madeira | 1,2 | 7,0x7,0x5,0 | |
| <i>E. cordata</i> | FFCL2 ⁵ | (14/04/2013) | caixa de madeira | 1,2 | 7,0x7,0x5,0 | |
| <i>E. cordata</i> | INDA1 ⁶ | 03/05/2013 | bambu | 2,3 | 15,0 | 11,5 |
| <i>E. cordata</i> | INDA5 ⁶ | 03/05/2013 | bambu | 2,2 | ? | 10,4 |
| <i>E. cordata</i> | FFCL5 ⁵ | (17/06/2013) | caixa de madeira | 1,2 | 7,0x7,0x5,0 | |
| <i>E. cordata</i> | GEN1 ^{2;a} | 26/06/2013 | caixa de madeira | 1,2 | 9,0x9,0x10 | |
| <i>E. cordata</i> | GEN3 ² | 09/11/2013 | caixa de madeira | 1,2 | 7,0x7,0x5,0 | |
| <i>E. cordata</i> | FFCL7 ⁵ | 07/01/2014 | caixa de madeira | 1,2 | 7,0x7,0x5,0 | |
| <i>E. cordata</i> | FFCL8 ⁵ | 15/01/2014 | caixa de madeira | 1,2 | 7,0x7,0x5,0 | |
| <i>E. cordata</i> | API3 ⁸ | 28/01/2014 | bambu | 2 | 12,5 | 8,2 |
| <i>E. cordata</i> | BOT12 ² | 16/01/2014 | caixa de madeira | 1,2 | 7,0x7,0x5,0 | |
| <i>E. cordata</i> | CCBS1 ² | 11/04/2014 | bambu | 1,7 | 32,0 | 26,9 |
| <i>E. cordata</i> | GEN6 ² | 04/06/2014 | caixa de madeira | 1,2 | 7,0x7,0x5,0 | |
| <i>E. cordata</i> | API4 ⁸ | 04/06/2014 | caixa de madeira | 1,2 | 7,0x7,0x5,0 | |
| <i>E. cordata</i> | FFCL9 ⁵ | (21/08/2014) | caixa de madeira | 1,2 | 7,0x7,0x5,0 | |
| <i>E. truncata</i> | JAPI1 ⁷ | 31/01/2014 | bambu | 1,6 | 14,0 | 13 |
| <i>E. sp.</i> | BOT10 ² | 18/12/2012 | caixa de madeira | 1,2 | 7,0x7,0x5,0 | |

| Espécies de <i>Euglossa</i> | Código do ninho | Data e local da coleta ou (fundação) | Tipo de armadilha | Dimensões da armadilha | | Espaço (cm) ocupado pelo ninho no bambu |
|-----------------------------|----------------------|--------------------------------------|-------------------|--------------------------|------------------|---|
| | | | | diâmetro da entrada (cm) | comprimento (cm) | |
| <i>E. sp.</i> | HORT2 ³ | 19/02/2013 | bambu | 1,4 | ? | 18,7 |
| <i>E. sp.</i> | BOT11 ² | 05/02/2013 | bambu | 1,5 | ? | 13,9 |
| <i>E. sp.</i> | FFCL1 ⁵ | (02/04/2013) | caixa de madeira | 1,2 | 7,0x7,0x5,0 | |
| <i>E. sp.</i> | FFCL3 ⁵ | (24/05/2013) | caixa de madeira | 1,2 | 7,0x7,0x5,0 | |
| <i>E. sp.</i> | FFCL4 ⁵ | (10/06/2013) | caixa de madeira | 1,2 | 7,0x7,0x5,0 | |
| <i>E. sp.</i> | BOTL2 ² | 19/02/2013 | caixa de madeira | 1,2 | 7,0x7,0x5,0 | |
| <i>E. sp.</i> | API2 ⁸ | 30/11/2013 | bambu | 1,6 | 15,7 | 14 |
| <i>E. sp.</i> | LBOT4 ² | 09/12/2013 | caixa de madeira | 1,2 | 7,0x7,0x5,0 | |
| <i>E. sp.</i> | LBOT5 ² | 09/12/2013 | bambu | 1,5 | 12,9 | 7,0 |
| <i>E. sp.</i> | GEN4 ² | 19/12/2013 | caixa de madeira | 1,2 | 7,0x7,0x5,0 | |
| <i>E. sp.</i> | C PROF6 ⁴ | 16/01/2014 | caixa de madeira | 1,2 | 7,0x7,0x5,0 | |
| <i>E. sp.</i> | GEN2 ² | 16/01/2014 | caixa de madeira | 1,2 | 7,0x7,0x5,0 | |
| <i>E. sp.</i> | GEN5 ² | 16/01/2014 | caixa de madeira | 1,2 | 7,0x7,0x5,0 | |
| <i>E. sp.</i> | BOT15 ² | 05/02/2014 | caixa de madeira | 1,2 | 7,0x7,0x5,0 | |
| <i>E. sp.</i> | FFCL10 ⁵ | (19/09/14) | caixa de madeira | 1,2 | 7,0x7,0x5,0 | |

¹ Uberlândia (MG), ² Campus da UFSCar (São Carlos, SP), ³ Horto Florestal Municipal "Navarro de Andrade" (São Carlos, SP), ⁴ Área urbana na cidade de São Carlos (SP), ⁵ FFCLRP - Campus da USP- Ribeirão Preto (SP), ⁶ Indaiatuba (SP). ⁷ Serra do Japi (SP). ⁸ FMRP (Departamento de Genética) – Campus da USP – Ribeirão Preto (SP), ^a ninhos coletados com evidências de já terem sido reativados. ? = medida não realizada.

Tabela 2. Condições do ninho no momento da coleta, código do ninho, espécie de *Euglossa*, número de adultos no ninho, quantidade e disposição de células.

| Espécies de <i>Euglossa</i> | Código do ninho | Número de fêmeas | Número de células | Disposição das células |
|-----------------------------|-----------------|------------------|--|------------------------|
| <i>E. townsendi</i> | BOT8 | 1 ^a | 11 ^d | linear |
| <i>E. townsendi</i> | BOT8 | 0 | 2 ^d ; 9 ^g | linear |
| <i>E. townsendi</i> | BOT8 | 1 ^a | 11 ^d | linear |
| <i>E. townsendi</i> | BOT8 | 1 ^b | 1 ^d ; 1 ^f | linear |
| <i>E. townsendi</i> | BOT8 | 1 ^b | 3 ^d ; 1 ^e ; 4 ^g | linear |
| <i>E. townsendi</i> | BOT8 | 1 ^a | 19 ^d | linear |
| <i>E. townsendi</i> | BOT8 | 1 ^a | 15 ^d | linear |
| <i>E. cordata</i> | CPROF2 | 1 ^c | 3 ^d ; 6 ^g | favo |
| <i>E. cordata</i> | ALIMP2 | 0 | 3 ^d ; 4 ^g | linear |
| <i>E. cordata</i> | API1 | 0 | 14 ^d ; 2 ^g | favo |
| <i>E. cordata</i> | CINT1 | 1 ^c | ? ^h | favo |
| <i>E. cordata</i> | CINT2 | 1 ^c | ? ^h | favo |
| <i>E. cordata</i> | CPROF3 | 2 ^c | 2 ^d ; 2 ^g | favo |
| <i>E. cordata</i> | FFCL2 | 1 ^a | 7 ^d | favo |
| <i>E. cordata</i> | INDA1 | 0 | 14 ^d ; 5 ^g | linear |
| <i>E. cordata</i> | INDA5 | 1 ^a | 14 ^d | linear |
| <i>E. cordata</i> | FFCL5 | 1 ^a | 4 ^d | favo |
| <i>E. cordata</i> | GEN1 | 2 ^c | 6 ^d ; 1 ^g | favo |
| <i>E. cordata</i> | GEN3 | 1 ^a | 6 ^d | favo |
| <i>E. cordata</i> | FFCL7 | 1 ^a | 9 ^d | favo |
| <i>E. cordata</i> | FFCL8 | 1 ^a | 8 ^d | favo |
| <i>E. cordata</i> | API3 | 1 ^a | 8 ^d | linear |
| <i>E. cordata</i> | BOT12 | 1 ^a | 6 ^d ; 1 ^e | favo |
| <i>E. cordata</i> | CCBS1 | 1 ^a | 9 ^d | linear |
| <i>E. cordata</i> | GEN6 | 1 ^a | 4 ^d ; 1 ^e | favo |
| <i>E. cordata</i> | API4 | 1 ^a | 3 ^d | favo |
| <i>E. cordata</i> | FFCL9 | 1 ^a | 4 ^d | favo |
| <i>E. truncata</i> | JAPI1 | 1 ^a | 11 ^d | linear |
| <i>E. sp.</i> | BOT10 | 0 | 5 ^d ; 1 ^e | favo |
| <i>E. sp.</i> | HORT2 | 0 | 7 ^d ; 1 ^e | linear |
| <i>E. sp.</i> | BOT11 | 0 | 6 ^d | linear |
| <i>E. sp.</i> | FFCL1 | 1 ^a | 8 ^d | favo |
| <i>E. sp.</i> | FFCL3 | 1 ^a | 2 ^d | favo |
| <i>E. sp.</i> | FFCL4 | 1 ^a | 2 ^d ; 1 ^e | favo |
| <i>E. sp.</i> | BOTL2 | 0 | 5 ^d ; 1 ^e | favo |
| <i>E. sp.</i> | API2 | 0 | 5 ^d | linear |
| <i>E. sp.</i> | LBOT4 | 1 ^a | 7 ^d | favo |
| <i>E. sp.</i> | LBOT5 | 0 | 1 ^d ; 1 ^e | *1 |
| <i>E. sp.</i> | GEN4 | 1 ^b | 3 ^d ; 1 ^e ; 1 ⁱ | favo |
| <i>E. sp.</i> | CPROF6 | 1 ^a | 4 ^d | favo |
| <i>E. sp.</i> | GEN2 | 0 | 6 ^d | favo |
| <i>E. sp.</i> | GEN5 | 0 | 4 ^d ; 4 ⁱ | favo |
| <i>E. sp.</i> | BOT15 | 1 ^a | 1 ^d | *1 |
| <i>E. sp.</i> | FFCL10 | 1 ^a | 5 ^d | favo |

^afêmea fundadora encontrada viva no ninho; ^bfêmea fundadora encontrada morta no ninho; ^cfêmeas reativadoras encontradas vivas no ninho; ^dcélulas fechadas; ^ecélulas em aprovisionamento; ^fcélulas em construção; ^gcélulas das quais já haviam emergido indivíduos; ^hnão foi possível contar as células, devido ao estado de deterioração; ⁱcélulas amassadas; *1 não foi possível determinar a disposição, pois havia apenas uma ou duas células.

A resina utilizada na construção das células era de coloração escura, exceto em três ninhos (INDA5, FFCL4, FFCL10) nos quais ela tinha uma coloração amarelada (Figura 2) e em outro (BOT 15) uma coloração acinzentada (Figura 3).



Figura 2. Ninhos INDA5 (*Euglossa cordata*) e FFCL4 (*Euglossa* sp.) com as células e a entrada (E) construídas com resina de coloração amarelada.

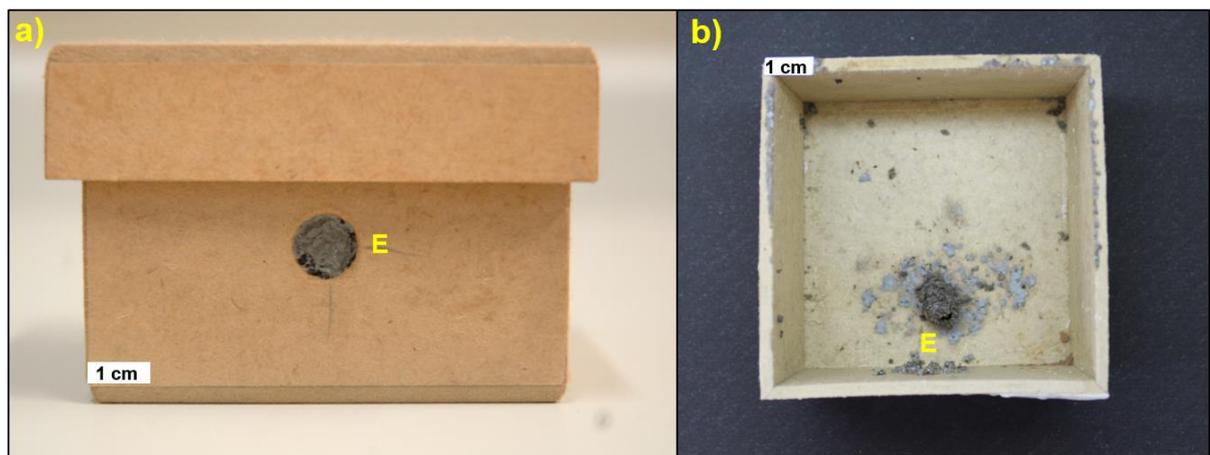


Figura 3. Ninho BOT15 (*Euglossa* sp.), com destaque para a entrada (E) do ninho (a), célula e resina espalhada no fundo da caixa com coloração acinzentada (b).

A disposição das células dentro do ninho foi linear ou em favo (Tabela 2, Figuras 4 e 5). Quando dispostas linearmente, as células se encontravam: 1) completamente isoladas umas das outras; 2) todas juntas; 3) algumas células isoladas e outras juntas, ou; 4) apresentavam mais de uma série linear de células, as quais poderiam estar dispostas, em cada série, no mesmo padrão descrito anteriormente (Figura 5). Além disso, as células podiam ter sido construídas de

forma que apresentassem eixos verticais paralelos ou ligeiramente inclinados (Figura 5).



Figura 4. Ninho FFCL7 de *Euglossa cordata*, com as células dispostas em forma de favo. E = entrada do ninho.

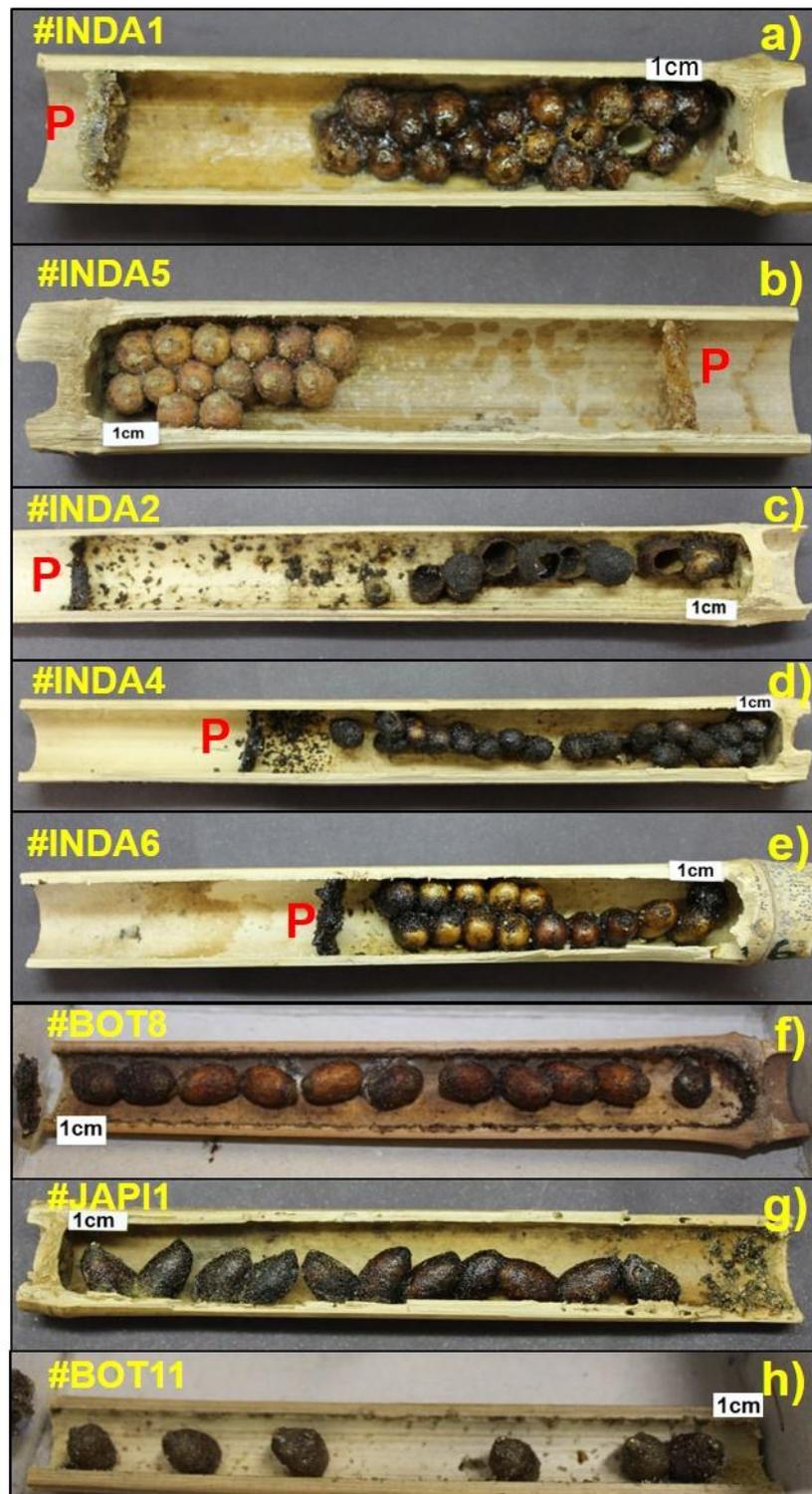


Figura 5. Vista interna dos ninhos: a) INDA1, *Euglossa cordata*; b) INDA5, *Euglossa cordata*; c) INDA2, *Euglossa townsendi*; d) INDA4, *Euglossa townsendi*; e) INDA6, *Euglossa townsendi*; f) BOT8, *Euglossa townsendi*; g) JAPI1, *Euglossa truncata*; h) BOT11, *Euglossa* sp. Diferentes tipos de disposição das células nos ninhos. P = parede de resina que delimita o espaço ocupado pelo ninho e que contém a entrada do ninho propriamente dita.

O número de células construídas em cada ninho foi variável (Tabela 2). No caso de dois ninhos (CINT1 e CINT2), que quando coletados já haviam sido reativados, não foi possível contar o número de células devido ao estado de deterioração de algumas delas. Por meio da observação da sequência de nascimento dos indivíduos foi possível identificar a presença de células mais novas tanto perto da entrada como no fundo do ninho. Isto indica que não há padrão evidente na sequência de construção das células.

Ao nascerem, as abelhas deixaram suas células, abrindo com as mandíbulas um arco na região apical da célula até que a tampa pudesse ser aberta, após forçá-la com sua cabeça. Em alguns casos, após a emergência, a célula manteve-se aberta com a tampa completamente destruída ou presa por apenas um lado da célula. Em outros casos, a tampa permaneceu intacta e em posição como se ainda estivesse fechada.

Nas situações em que foram acompanhadas emergências no ninho, foi possível estimar o tempo de desenvolvimento dos imaturos; tais dados forneceram uma estimativa do período entre a oviposição e emergência dos adultos (Tabela 3).

| Espécies de <i>Euglossa</i> | Código do ninho | Data da coleta | Período (em dias) entre a data de coleta e as emergências | | | | | | | | | | Parasitas encontrados | | |
|-----------------------------|--------------------|----------------|---|----|------|-----|--------|--|------|-----|-----------|----|-----------------------|------------------------------|--|
| | | | Fêmeas | | | (N) | Machos | | | (N) | Parasitas | | | (N) | |
| | | | min. | | max. | | min. | | max. | | min. | | | max. | |
| <i>E. sp.</i> | LBOT4 | 09/12/2013 | | 13 | | (1) | | | | | | | | | |
| <i>E. sp.</i> | LBOT5 ^c | 09/12/2013 | | | | | | | | | | | | | |
| <i>E. sp.</i> | GEN4 | 19/12/2013 | 40 | | 45 | (2) | | | | | | | | | |
| <i>E. sp.</i> | CPROF6 | 16/01/2014 | | | | | | | | | | 50 | (1) | <i>Hoplostelis nigrítula</i> | |
| <i>E. sp.</i> | GEN2 | 16/01/2014 | | | | | | | | 52 | | 55 | (6) | <i>Hoplostelis nigrítula</i> | |
| <i>E. sp.</i> | GEN5 | 16/01/2014 | 59 | | 62 | (2) | | | | | | | | | |
| <i>E. sp.</i> | BOT15 | 05/02/2014 | | 38 | | (1) | | | | | | | | | |

^a nenhuma emergência do ninho foi acompanhada; ^b indivíduos adultos mortos dentro das células; ^c larvas mortas dentro das células.

3.2 Processos de fundação de ninhos acompanhados diariamente

Foram acompanhados nove processos de fundação de ninhos. Todos os ninhos acompanhados encontravam-se no meliponário da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto e imediações. Trata-se da fundação dos ninhos FFCL1, FFCL3, FFCL10 (*Euglossa* sp.) e FFCL2, FFCL4, FFCL5, FFCL7, FFCL8, FFCL9 (*E. cordata*).

3.2.1 Comportamentos observados nos processos de fundação

As fêmeas fundaram os ninhos solitariamente e o processo de fundação teve início com a construção de uma entrada de resina. Como descrito anteriormente, durante a construção da entrada as fêmeas diminuem o orifício circular da caixa ou do gomo de bambu com a construção de uma parede de resina; no centro desta parede fica um orifício que é a entrada propriamente dita. Posteriormente, elas coletaram resina e armazenaram esse material de forma espalhada pelo ninho, formando vários montículos, vedaram as frestas existentes na caixa e então deram início ao processo de construção de células (Figura 6). Elas construíram, provisionaram e ovipositaram uma célula por vez. Após este período, as fêmeas ficaram inativas, aguardando o nascimento da prole. Elas passaram a maior parte do tempo no ninho, mantendo a entrada fechada e foram dificilmente vistas fora do ninho.

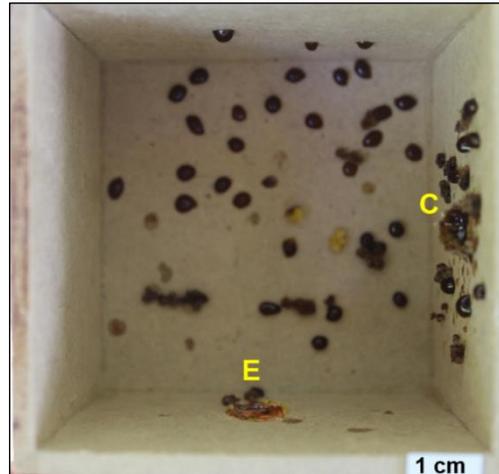


Figura 6. Ninho de *Euglossa cordata* (FFCL8) no início de sua fundação, com a entrada já construída (E), resina espalhada pelo ninho e a primeira célula em fase inicial de construção (C).

A fundação dos ninhos FFCL1, 2, 4, 5, 7, 8, 9 e 10 ocorreu nos dias 02/04/2013, 14/04/2013, 10/06/2013, 17/06/2013, 07/01/2014, 15/01/2014, 21/08/2014 e 19/09/2014, respectivamente. O número de dias que as fêmeas ficaram ativas foi variável, assim como o período de atividade do ninho, número de células construídas e períodos de emergência nestes ninhos (Figura 7).

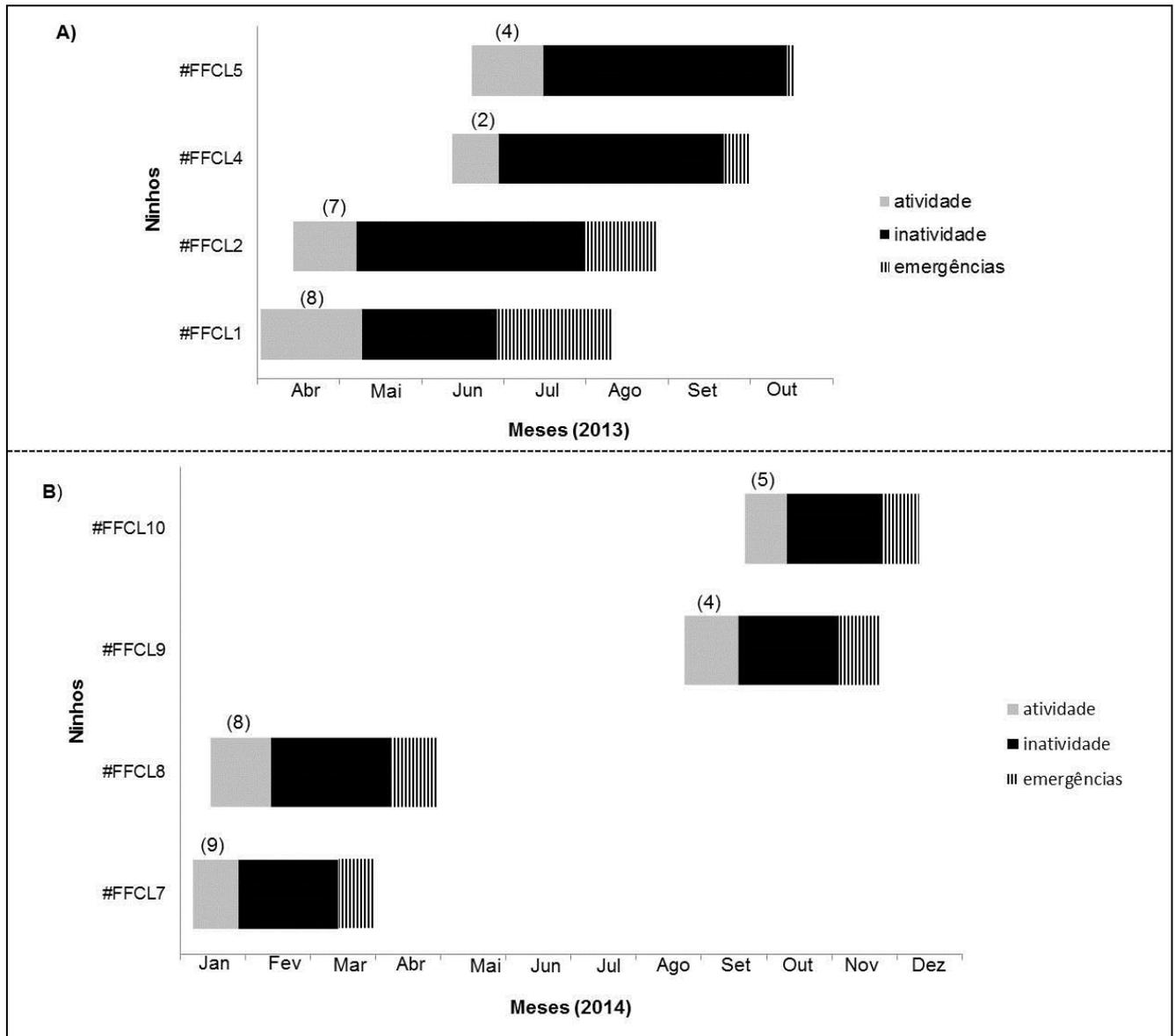


Figura 7. Fundação de ninhos de *Euglossa cordata* (FFCL2, 5, 7, 8 e 9) e *Euglossa* sp. (FFCL1, 4 e 10). Período de atividade, inatividade e de emergências, em dias, nos ninhos. Número de células construídas durante o período de atividade das fêmeas (n).

A fundação do ninho FFCL3 será tratada separadamente devido às suas particularidades. Este ninho foi fundado solitariamente e duas células foram construídas em um período de dez dias. Posteriormente, a fêmea fundadora ficou inativa por 17 dias, quando passou a não ser mais vista no ninho. Quatro dias depois, uma nova fêmea apareceu no ninho. Ela abriu as duas células anteriormente ovipositadas pela primeira fêmea, fechando-as no intervalo de um e três dias depois.

Após fechar estas células, no período de 13 dias, ela construiu, aprovisionou e operculou outras duas células. Posteriormente, deu início à construção de mais uma célula. No entanto, na fase de aprovisionamento desta célula, ela interrompeu suas atividades. A fêmea ficou inativa no ninho durante 43 dias, quando passou a não ser mais vista no ninho. Após 20 dias, uma terceira fêmea apareceu no ninho. Esta fêmea não abriu nenhuma célula anteriormente fechada. Ela terminou de aprovisionar a célula deixada aberta pela fêmea anterior, ovipositou e operculou-a um dia após ter chegado. No intervalo de 13 dias ela construiu, aprovisionou e fechou três células. Após este período, ela ficou 25 dias inativa no ninho, quando foi encontrada morta no seu interior. Posteriormente, foi constatado que este ninho estava parasitado, conforme descrito no tópico 3.3.

3.2.2 Duração do período de desenvolvimento dos indivíduos da prole

Para os ninhos que tiveram os processos de fundação acompanhados desde o início foi possível determinar o período de desenvolvimento dos indivíduos e a época do ano em que as oviposições foram realizadas, se na estação fria e seca (de março a agosto) ou na quente e úmida (setembro a fevereiro) (Tabela 4). A comparação das médias mostrou que o tempo de desenvolvimento dos indivíduos foi significativamente maior na estação fria e seca ($p < 0.0001$; $t = 10,43$).

Tabela 4. Duração (em dias) do desenvolvimento dos indivíduos provenientes dos ninhos de *Euglossa cordata* (FFCL2, 5, 7, 8 e 9) e *Euglossa* sp. (FFCL1, 4 e 10), de acordo com a estação do ano: quente e chuvosa (de setembro a fevereiro: S/F); fria e seca (de março a agosto: M/A).

| Código do ninho | FFCL1 | | FFCL2 | | FFCL4 | | FFCL5 | | FFCL7 | | FFCL8 | | FFCL9 | | FFCL10 | |
|--------------------------|-------|-------------|--------------|---------------|--------------|------------|--------------|-------------|--------------|-----|--------------|-----|-----------|-----|--------|-----|
| | S/F | M/A | S/F | M/A | S/F | M/A | S/F | M/A | S/F | M/A | S/F | M/A | S/F | M/A | S/F | M/A |
| Período de oviposição | S/F | M/A | S/F | M/A | S/F | M/A | S/F | M/A | S/F | M/A | S/F | M/A | S/F | M/A | S/F | M/A |
| Número de emergências | - | 4 | 3 | 4 | 2 | 2 | 4 | 2 | 5 | - | 4 | - | 4 | - | 1 | - |
| Duração (em dias) mínima | - | 80 | 58 | 105 | 70 | 110 | 60 | 97 | 67 | - | 62 | - | 64 | - | 56 | - |
| Duração (em dias) máxima | - | 93 | 63 | 113 | 71 | 112 | 54 | 92 | 61 | - | 66 | - | 67 | - | 56 | - |
| $\bar{X} \pm dp$ | - | 86,5 ± 6,45 | 59,66 ± 2,89 | 108,75 ± 3,86 | 70,05 ± 0,71 | 111 ± 1,41 | 57,25 ± 3,77 | 94,5 ± 3,53 | 63,83 ± 2,64 | - | 64,25 ± 1,71 | - | 65 ± 1,41 | - | - | - |

3.3 Parasitismo nos ninhos

Os ninhos atacados por espécies parasitoides ou cleptoparasitas representaram cerca de 20% dos ninhos obtidos. Tanto os ninhos de *E. cordata*, *E. townsendi*, como cinco ninhos de espécies não identificadas de *Euglossa* foram atacados. Três ninhos foram atacados pelo parasitoide *Polistomorpha* sp. (Hymenoptera, Chalcidoidea, Leucospidae), um pelo parasitoide *Coelioxys* sp. (Hymenoptera, Megachilidae), um pelo parasitoide *Aximopsis masneri* Gates, 2009 (Hymenoptera, Chalcidoidea, Eurytomidae), dois ninhos pelo cleptoparasita *Hoplostelis nigrigula* (Friese, 1910) (Hymenoptera, Megachilidae), o outro ninho foi parasitado pelo parasitoide *Anthrax oedipus* Fabricius, 1805 (Diptera, Bombylidae) e por *A. masneri* (Tabela 5).

Tabela 5. Ninhos atacados por parasitoides ou cleptoparasitas, número de células operculadas no momento da coleta do ninho, número de células das quais emergiram parasitoides ou cleptoparasitas, data de coleta ou fundação do ninho e estimativa do tempo de desenvolvimento em dias a partir da data e coleta ou fundação.

| Parasitoide ou Cleptoparasita encontrado | Número de células operculadas | Número de células parasitadas | Espécie de <i>Euglossa</i> | Código do ninho | Data da coleta ou (fundação) | Estimativa do tempo de do desenvolvimento em dias |
|---|-------------------------------|-------------------------------|----------------------------|-----------------|------------------------------|---|
| <i>Polistomorpha</i> sp. | 14 | 6 | <i>E. cordata</i> | API1 | 13/03/2013 | 49,5 ± 1 |
| <i>Polistomorpha</i> sp. | 11 | 8 | <i>E. townsendi</i> | BOT8 | 18/12/2012 | 63,87 ± 1,72 |
| <i>Polistomorpha</i> sp. | 5 | 3 | <i>E. sp.</i> | BOT10 | 18/12/2012 | 66,33 ± 2,51 |
| <i>Coelioxys</i> sp. | 7 | 5 | <i>E. sp.</i> | HORT2 | 19/02/2013 | 31,8 ± 5,71 |
| <i>Aximopsis masneri</i> | 14 | 12 | <i>E. cordata</i> | INDA1 | 03/05/2013 | 30,25 ± 4,09 |
| <i>Aximopsis masneri/ Anthrax oedipus</i> | 4 | 2/2 | <i>E. sp.</i> | FFCL3 | (05/09/2013) | 83 ± 21,21 /50 |
| <i>Anthrax oedipus</i> | 5 | 2 | <i>E. sp.</i> | FFCL10 | (19/09/2014) | 54,5 ± 2,12 |
| <i>Hoplostelis nigrifula</i> | 6 | 6 | <i>E. sp.</i> | GEN2 | 16/01/2014 | 50,5 ± 1,38 |
| <i>Hoplostelis nigrifula</i> | 4 | 1 | <i>E. sp.</i> | CPROF6 | 16/01/2014 | 51 |

Fêmeas de *H. nigrítula* foram capturadas invadindo oito ninhos de *Euglossa* (CINT1- *E. cordata*; CPROF6 - *Euglossa* sp.; GEN2 - *Euglossa* sp.; FFCL1 - *E. cordata*; FFCL4 - *Euglossa* sp.; FFCL5 - *E. cordata*; FFCL7 – *E. cordata* e FFCL10 - *Euglossa* sp.), além deste cleptoparasita ter sido verificado emergindo dos ninhos. Em um destes ninhos (CPROF6) aconteceram três invasões, por diferentes fêmeas. Em todos os ataques, a fêmea de *H. nigrítula* estava sozinha no ninho e a entrada encontrava-se fechada, o que sugere que o parasita havia expulsado a fêmea de *Euglossa* do ninho e fechado a entrada, na tentativa de inibir seu retorno. Em todas as situações, a fêmea de *H. nigrítula* foi coletada e, posteriormente, sacrificada. Além disso, a entrada do ninho foi aberta com o auxílio de uma pinça, para que a fêmea de *Euglossa* não encontrasse a entrada fechada quando tentasse retornar ao ninho. Com exceção de cinco invasões, *H. nigrítula* chegou a abrir uma célula operculada do ninho. Nas células abertas que continham larvas, as mesmas foram encontradas no assoalho do ninho, indicando que o cleptoparasita tinha aberto as células e retirado as larvas de seu interior (Figura 8).

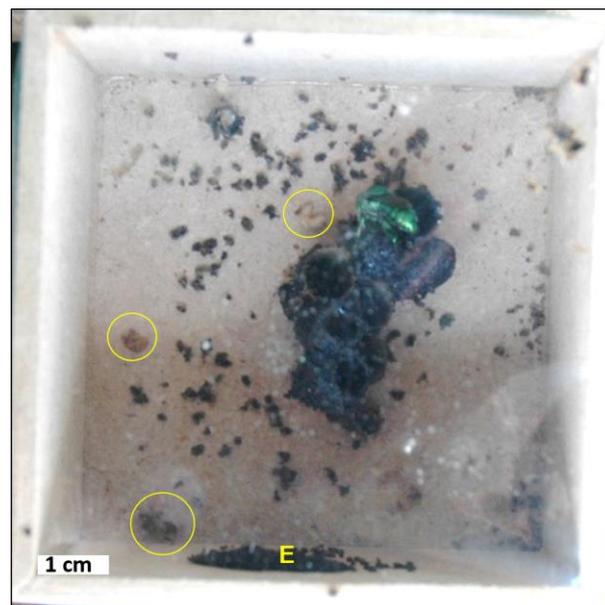


Figura 8. Ninho de *Euglossa cordata* após ataque do cleptoparasita *Hoplostelis nigrítula*, com destaque para as larvas que foram retiradas do interior das células pelo cleptoparasita.

Com relação ao parasitoide *A. masneri*, uma observação interessante foi a razão sexual muito deslocada para fêmeas na prole produzida pelo parasita. No ninho INDA1, das oito células parasitadas nasceram ao todo 179 fêmeas e 29 machos. Já no ninho FFCL3, das duas células parasitadas nasceram 41 fêmeas e sete machos. Deste modo, a razão sexual em ambos os ninhos foi de cerca seis fêmeas para um macho. Vários ovos deste parasitoide parecem ser colocados todos em uma mesma célula, pois de uma única célula emergiram muitos parasitoides ao mesmo tempo através de um pequeno orifício (Figura 9). No ninho FFCL3 foi encontrada uma fêmea de *A. masneri* no interior do ninho, ela foi retirada e, posteriormente, sacrificada. No entanto, foi constatado, posteriormente, que de duas células emergiram indivíduos de *A. masneri*. Em uma das células as emergências ocorreram 31 dias e na outra 61 dias após a fêmea de *A. masneri* ter sido encontrada no ninho. No momento em que a fêmea parasitoide foi encontrada, o ninho de *Euglossa* estava desabitado, pois a fêmea residente havia sido encontrada morta no ninho alguns dias antes.

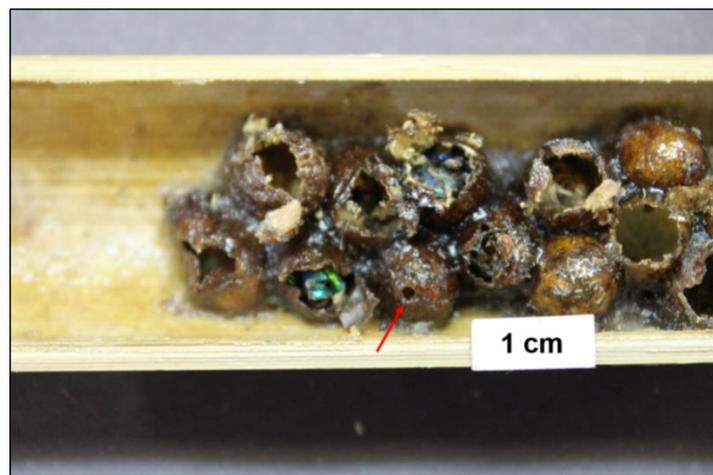


Figura 9. Ninho INDA1 de *Euglossa cordata*, focando o pequeno orifício em uma das células, por onde emergiram os parasitoides *Aximopsis masneri*.

Além dos imaturos terem sido atacados, duas fêmeas adultas foram atacadas por *Melaloncha ronnai* (Diptera, Phoridae), uma espécie parasitoide. Tratava-se de uma fêmea de *E. cordata* (ninho CPROF3) e outra de *E. townsendi* (ninho BOTL3). A fêmea de *E. townsendi* era a fundadora do ninho, havia fechado apenas uma célula e tinha dado início ao processo de construção de uma segunda célula. Já a fêmea de *E. cordata* era uma das reativadoras, mais especificamente a que fazia as atividades de forrageamento e construção de células, enquanto a outra fêmea permanecia a maior parte do tempo no ninho. Tais observações sugerem que ambas as fêmeas foram parasitadas fora dos ninhos, durante suas atividades de campo. Nos dois casos, o parasita emergiu do tórax das fêmeas.

Como não havia relatos na literatura do parasitoide *Melaloncha ronnai* atacando abelhas da tribo Euglossini, os resultados apresentados aqui, somados a mais um relato de parasitismo de uma fêmea de *E. cordata*, verificado por Garófalo, C.A., foram publicados em uma nota intitulada: "A scientific note on the first records of *Melaloncha* Brues, 1904 (Diptera: Phoridae) parasitizing Euglossini and Centridini bees" apresentada ao final do presente trabalho na forma de Anexo.

4 Discussão

As datas de coleta dos ninhos indicam que eles foram preferencialmente estabelecidos na estação quente e chuvosa. Esta observação está de acordo com o que foi descrito para *E. townsendi* (GARÓFALO et al., 1993; AUGUSTO; GARÓFALO, 2004), *E. truncata*, *E. pleosticta*, *E. melanotricha* (GARÓFALO et al., 1993) e *E. atroveneta* (RAMÍREZ-ARRIAGA et al., 1996). De acordo com Augusto e Garófalo (2004), isto deve refletir a maior disponibilidade de

recursos alimentares durante este período do ano nas regiões onde os estudos foram realizados.

A fundação do ninho por uma única fêmea é uma característica frequentemente reportada para as espécies de *Euglossa*, sugerindo ser um padrão (GARÓFALO, 1985; RAMÍREZ-ARRIAGA et al., 1996; AUGUSTO; GARÓFALO, 2004, 2007 e 2011); exceções foram relatadas apenas para *E. annectans* (GARÓFALO et al., 1998) e *E. hyacinthina* (SOUCY et al., 2003). Do mesmo modo, a fundação do ninho em cavidades preexistentes também parece ser mais frequente quando comparada à construção de ninhos aéreos. A fundação em cavidades preexistentes já foi descrita para *E. cordata* (GARÓFALO, 1985; AUGUSTO; GARÓFALO, 2011), *E. townsendi* (GARÓFALO et al., 1993; AUGUSTO; GARÓFALO, 2004), *E. melanotricha* (AUGUSTO; GARÓFALO, 2007; ANDRADE-SILVA; NASCIMENTO, 2012), *E. fimbriata* (AUGUSTO; GARÓFALO, 2009), *E. viridissima* (VÁZQUES; AGUILAR, 1990; COCOM PECH et al., 2008; ZIMMERMANN et al., 2009), *E. nigropilosa* (OTERO et al., 2008), *E. pleosticta*, *E. truncata* (GARÓFALO et al., 1993), *E. imperialis* (ROBERTS; DODSON, 1967), *E. intersecta* (DODSON, 1966), *E. piliventris* (JANVIER, 1955), *E. hemichlora* (DODSON, 1966; ZIMMERMANN et al., 2009), *E. erythrochlora* (DRESSLER, 1982), *E. dilemma* (ZIMMERMANN et al., 2009), *E. analis* (BODKIN et al., 1918 *apud* GARÓFALO, 1994), entre outras espécies. Por outro lado, os ninhos aéreos foram descritos apenas para *E. hyacinthina* (EBERHARD, 1988; SOUCY et al., 2003), *E. championi* (EBERHARD, 1988), *E. turbiniflex* (DRESSLER, 1982; YOUNG, 1985) e para *E. dodsoni* (DODSON, 1966).

Com relação aos tipos de armadilha utilizados pelas fêmeas nidificantes, houve uma distinção entre os tipos preferidos por elas, enquanto as

fêmeas de *E. cordata* preferiram as caixas de dimensões menores (7 x 7 x 5 cm), as fêmeas de *E. townsendi*, utilizaram exclusivamente os bambus. Além disso, comparando os diâmetros dos bambus utilizados por ambas as espécies é possível perceber que as fêmeas de *E. townsendi* preferiram os de menor diâmetro. No estudo realizado por Garófalo et al. (1993), todos os ninhos de *E. townsendi* foram construídos em gomos de bambu e as fêmeas desta espécie também preferiram os de menor diâmetro. Este resultado mostra a importância da combinação de diferentes tipos de armadilhas para a captura de ninhos de *Euglossa*, pois, de acordo com a espécie, pode haver uma preferência por determinado tipo ou tamanho de cavidade.

O comportamento de vedar frestas dos ninhos com resina e diminuir a entrada do ninho-armadilha com uma parede de resina, formando o que se torna de fato a entrada, também já foi descrito tanto para as espécies de *Euglossa* coletadas neste estudo como para outras espécies do gênero (GARÓFALO, 1985; GARÓFALO, 1992; GARÓFALO et al., 1993; AUGUSTO; GARÓFALO, 2004, 2011; ANDRADE-SILVA, 2012).

A construção de células em uma disposição do tipo favo, quando as fêmeas utilizam caixas de madeira e um padrão linear quando constroem o ninho em bambu, observada neste estudo para *E. cordata*, foi observada para *E. truncata* por Garófalo et al. (1993). De acordo com estes autores, isto reflete a plasticidade para utilizar cavidades de diferentes tamanhos e formatos. Do mesmo modo, a construção de mais de uma fileira de células, nos ninhos de *E. townsendi* estabelecidos em cavidades maiores, também refletiria esta plasticidade.

Durante os processos de fundação ou reativação do ninho, após interromperem suas atividades reprodutivas, as fêmeas passaram por um período de

inatividade. Elas dificilmente saiam do ninho, passando a maior parte do tempo dentro dele. O número de células construídas e o comportamento de inatividade, aqui observados, são similares ao relatado por outros autores não só para as mesmas espécies aqui estudadas como para outras espécies de *Euglossa* (GARÓFALO, 1985; RAMÍREZ-ARRIAGA et al., 1996; COCOM PECH et al., 2008; AUGUSTO; GARÓFALO, 2004; 2009; 2011; ANDRADE-SILVA; NASCIMENTO, 2012).

Dos 44 ninhos coletados, em 27 deles as fêmeas fundadoras foram encontradas no ninho e, em 24 situações, estas fêmeas estavam vivas. Tanto nos ninhos de *E. townsendi* como de *E. cordata* e no único ninho de *E. truncata*, fêmeas fundadoras foram encontradas vivas no ninho. Isto sugere que a maioria das fêmeas fundadoras nos ninhos destas espécies possui grande chance de participar de um primeiro processo de reativação do ninho. Deste modo, é provável que grande parte dos primeiros processos de reativação de ninhos nestas espécies ocorreu na presença das mães.

Conforme mencionado, nos processos de fundação que foram acompanhados desde o início, foi possível determinar o tempo de desenvolvimento dos imaturos, o qual foi significativamente maior na estação fria e seca. A influência das condições climáticas no período de desenvolvimento também foi reportada em estudos anteriores para *E. cordata* (GARÓFALO, 1985), *E. pleosticata* e *E. truncata* (GARÓFALO et al., 1993), *E. atroveneta* (RAMÍREZ-ARRIAGA et al., 1996) e *E. fimbriata* (AUGUSTO; GARÓFALO, 2009).

Em relação aos parasitoides ou cleptoparasitas encontrados, existem alguns relatos na literatura de abelhas do gênero *Coelioxys* parasitando os imaturos de *E. pleosticta*, *E. truncata*, *E. townsendi*, *E. melanotricha* (GARÓFALO et al., 1993)

e *E. annectans* (GARÓFALO et al., 1998). Ramírez-Arriaga et al. (1996) relatam o parasitismo de imaturos de *E. atroveneta* por *Coelioxys costaricensis*. Também há relatos de moscas do gênero *Anthrax* parasitando ninhos de *E. cordata* (GARÓFALO, 1992) e *E. annectans* (GARÓFALO et al., 1998). Os relatos de parasitismo em ninhos de *Euglossa* por espécies do gênero *Polistomorpha* são mais esparsos. Até o momento, existem apenas três registros: *P. fasciata* parasitando ninhos de *E. ignita* e *Euglossa* sp. (BOUCEK, 1974 *apud* MENEZES-JUNIOR, 1992), o registro de *P. conura* parasitando *Euglossa* sp. (BOUCEK, 1974 *apud* MENEZES-JUNIOR, 1992) e de *P. surinamenses* parasitando *E. ignita* (ROBERTS e DODSON, 1967). Para o parasitoide *Aximopsis masneri*, há apenas um relato, de parasitismo em ninho de *E. townsendi* (WERNECK; CAMPOS, 2010) e algumas informações retiradas de etiquetas entomológicas desta espécie parasitando *E. variabilis* e *E. cybelia* (GATES, 2009). Sendo assim, essas informações são muito importantes para uma melhor compreensão das associações entre as espécies de Euglossini e seus inimigos naturais.

Conforme descrito, de uma única célula emergem muitos indivíduos de *Aximopsis masneri*, provavelmente porque as fêmeas deste parasitoide colocam muitos ovos em uma mesma célula. Uma observação interessante é a razão sexual, muito desviada para fêmeas nesta espécie. De acordo com um fenômeno conhecido como competição local por acasalamento, descrito por Hamilton (1967), a prole de insetos que depositam seus ovos em frutos ou em outros insetos, geralmente eclode, desenvolve-se e cruza entre si, dentro dos próprios hospedeiros. Nestes casos, o hospedeiro é frequentemente parasitado por uma única fêmea. Hamilton (1967) constatou que nestas situações, a seleção pode favorecer as fêmeas que produzam apenas o número suficiente de machos para garantir a fecundação de

suas filhas, resultando em um forte viés para a produção de fêmeas. Este fenômeno tem sido observado em vários insetos parasitas e pode estar relacionado com a razão sexual muito deslocada para fêmeas aqui encontrada (FREEMAN; HERRON, 2009). No entanto, fêmeas de *Aximopsis masneri* não foram verificadas parasitando os ninhos, o que dificulta algum tipo de comparação neste sentido.

O parasitismo por *Hoplostelis nigrítula* já foi reportado para ninhos de *E. cordata* por Augusto e Garófalo (1998). Estes autores descrevem uma série de comportamentos deste cleptoparasita, sendo que alguns também foram observados no presente estudo. Segundo estes autores, o cleptoparasita tem um comportamento agressivo em relação às fêmeas ao chegar ao ninho; frequentemente, ele as expulsa do ninho, chegando a matá-las durante as interações. Após expulsá-las, o cleptoparasita fecha a entrada do ninho. Os autores descrevem que ele tem um mecanismo para reconhecer células que possuem pupas, larvas em estágio inicial ou mais avançado de desenvolvimento, ou ovos. A fêmea cleptoparasita começa abrindo as células com larvas em estágio mais inicial de desenvolvimento. Ela retira estas larvas das células e coloca os seus ovos e opercula novamente as células. Em seguida, ela parte para as células com ovos, come-os e os substitui por ovos seus. As células que possuem pupas ou larvas em estágio mais avançado são esmagadas pelo parasita, de forma que o conteúdo da célula é destruído. Ainda de acordo com estes autores, a fêmea de *H. nigrítula* pode passar vários dias no ninho; mesmo quando ela sai eventualmente do ninho, ela tem o comportamento de deixar a entrada fechada, o que pode ser mais um mecanismo para prevenir que as fêmeas de *Euglossa* retornem aos seus ninhos.

Os comportamentos de parasitismo das demais espécies parecem ser diferentes do comportamento de *H. nigrítula*, a qual expulsa as fêmeas hospedeiras

do ninho, antes de realizar o parasitismo das células. As fêmeas parasitoides do gênero *Coelioxys* colocam seus ovos nas células de abelhas hospedeiras e quando as larvas eclodem, elas matam os ovos ou as larvas das abelhas hospedeiras e consomem o alimento larval (VINSON et al., 2011). Algumas espécies de *Coelioxys* colocam seus ovos em células parcialmente provisionadas e ainda abertas (DANFORTH; VISSHER, 1993; VINSON et al., 2011). Com relação ao comportamento de ataque aos ninhos, os estudos descrevem que as fêmeas de *Coelioxys* esperam até que as fêmeas hospedeiras saiam do ninho, quando entram e depositam seus ovos (CANE, 1983; DANFORTH; VISSCHER, 1993; MICHENER, 2007; SCOTT et al., 2000). As descrições dos comportamentos de parasitismo das vespas do gênero *Polistomorpha* são esparsas. Roberts e Dodson (1967) observaram o parasitismo de ninhos de *E. ignita* por *Polistomorpha surinamensis* (Westwood, 1839). Os autores descrevem duas tentativas de invasão de um ninho pela fêmea parasitoide, que culminam na expulsão do parasitoide pela fêmea residente. No entanto, no mesmo ninho, ocorreram emergências de indivíduos de *Polistomorpha surinamensis* (ROBERTS; DODSON, 1967). Isto indica que as fêmeas parasitoides entram nos ninhos para atacarem as células e, quando a fêmea residente não está presente, a chance delas terem sucesso aumenta. Roberts e Dodson (1967) descrevem também ovos de *P. surinamensis* depositados nas larvas de *E. ignita*. Já as moscas do gênero *Anthrax* não precisam entrar nos ninhos para realizar o parasitismo. O parasitismo pelas espécies de *Anthrax* requer que as larvas, após a eclosão, encontrem sozinhas as células hospedeiras, pois as fêmeas parasitoides geralmente ovipositam nas proximidades da entrada do ninho (GERLING; HERMANN, 1976).

Em relação aos ataques do parasitoide *A. masneri*, não existem relatos dos comportamentos destes indivíduos nos ninhos das espécies hospedeiras, além das informações obtidas neste estudo. O fato de uma única fêmea ter sido encontrada em um dos ninhos e terem sido verificadas emergências de parasitoides desta espécie neste ninho, indica que as fêmeas de *A. masneri* entram no ninho para atacar as células. Além disso, a diferença de um mês entre as emergências nas duas células parasitadas por *A. masneri* sugere que estas células foram parasitadas em momentos distintos. Outro ponto a ser considerado é que o ninho estava desabitado no momento em que o parasitoide foi encontrado, o que pode sugerir que a ausência de uma fêmea no ninho aumente as chances de sucesso desse parasitoide. No entanto, como as informações são limitadas a um único registro, qualquer afirmação neste sentido não seria suficientemente embasada.

No caso do parasitoide *Melaloncha ronnai*, o primeiro relato de parasitismo em abelhas Euglossini foi recentemente publicado (AMENT et. al., 2014) e inclui os dados apresentados neste estudo (Anexo). O gênero *Melaloncha* agrupa cerca de 167 espécies e a maioria delas é encontrada na região neotropical (BROWN, 2009). A maioria destes forídeos é parasitoide de abelhas corbiculadas eussociais, das tribos Apini, Bombini e Meliponini (RAMÍREZ, 1982; BROWN, 2006). Existe apenas um registro destes forídeos atacando abelhas não corbiculadas e facultativamente sociais da família Halictidae (WCISLO et al., 2004). Desta forma, estes são os primeiros registros destes forídeos atacando abelhas da tribo Euglossini.

Este estudo contribui para uma melhoria do cenário atual de escassez de informações, ao fornecer novos relatos sobre aspectos da biologia de nidificação no gênero *Euglossa* e informações inéditas, principalmente no que diz respeito aos

inimigos naturais dos ninhos. Conforme mencionado, alguns relatos de parasitismo descritos no presente estudo ainda não haviam sido reportados e outros apresentam poucas informações. Além disso, este estudo reforça a reconhecida eficiência da estratégia de ninhos-armadilha como metodologia alternativa para uma melhor compreensão da biologia de nidificação das espécies de Euglossini e também para que o comportamento das fêmeas no interior dos ninhos possa ser estudado.

CAPÍTULO II: O processo de reativação de ninhos e o desvio reprodutivo em *Euglossa cordata* (Hymenoptera, Apidae, Euglossini)

Resumo

Este estudo investigou a correlação entre parentesco genético e desvio reprodutivo em *Euglossa cordata*. Esta espécie está incluída em uma tribo considerada promissora para estudos sobre a evolução do comportamento social e, conseqüentemente, de divisão de trabalho reprodutivo – a tribo Euglossini. Nesta tribo, o gênero *Euglossa* é o mais interessante para esses estudos, pois ele agrupa espécies solitárias, comunais e primitivamente eussociais. Embora o processo de fundação de ninhos em *E. cordata* seja solitário, a reativação ocorre frequentemente na presença de mais de uma fêmea, com elas estabelecendo diferentes tipos de associações, nas quais o parentesco é diferente. Durante as reativações, ocorre uma nítida divisão de trabalho reprodutivo, com uma das fêmeas assumindo uma postura dominante. A fêmea dominante deixa mais descendentes do que as demais, acarretando em desvio reprodutivo. O desvio ocorre porque as dominantes apresentam o comportamento de realizar oofagia, seguida de oviposição, em células operculadas pelas outras fêmeas. As observações de comportamento e análises de parentesco entre a prole e as fêmeas reativadoras, realizadas mediante o uso de marcadores microssatélites, em doze ninhos de *E. cordata*, indicam que apenas as fêmeas dominantes deixam descendentes. Nos diferentes tipos de associações observadas, entre mãe e filhas, irmãs, primas e fêmeas não aparentadas, o desvio reprodutivo foi completo, não sendo observada correlação entre parentesco genético e desvio reprodutivo.

Palavras-chave: Euglossini, *Euglossa cordata*, divisão de trabalho reprodutivo, desvio reprodutivo.

1 Introdução

As abelhas da tribo Euglossini sempre foram consideradas promissoras para estudos sobre a evolução do comportamento social (ZUCCHI et al., 1969; DRESSLER, 1982; GARÓFALO, 1994; RAMÍREZ et al., 2002; CAMERON; RAMÍREZ, 2001; SOUCY et al., 2003; CAMERON, 2004; GARÓFALO, 2006; AUGUSTO; GARÓFALO, 2004, 2009 e 2011). Isto é devido ao fato de serem as únicas espécies não claramente eussociais do grupo monofilético conhecido como “Apidae corbiculados”, as abelhas corbiculadas. Este grupo é formado pelas tribos Apini, Meliponi e Bombini, além da tribo Euglossini. Todos os Apini e Meliponini são altamente eussociais e os Bombini são primitivamente eussociais (MICHENER, 2007).

A tribo Euglossini é composta por cinco gêneros, sendo três de vida livre, *Euglossa*, *Eulaema* e *Eufriesea*, e dois cleptoparasitas, *Aglae* e *Exaerete* (MICHENER, 2007). Dentre as espécies dos gêneros de vida livre, as do gênero *Euglossa* são as mais interessantes para estudos sobre a evolução do comportamento social (GARÓFALO, 2006), porque este gênero agrupa espécies solitárias, comunais e espécies com ninhos compartilhados por mais de uma fêmea, ocorrendo ali divisão de trabalho reprodutivo e sobreposição de gerações (AUGUSTO; GARÓFALO, 2011).

O gênero *Euglossa* tem cerca de 110 espécies descritas (RAMÍREZ et al., 2010) e uma parcela muito pequena destas espécies possui sua organização intranidal relatada. Estudos de comportamento foram realizados em ninhos de *E.*

atroveneta (RAMÍREZ-ARRIAGA et al., 1996), *E. annectans* (GARÓFALO et al., 1998), *E. cordata* (GARÓFALO, 1985; AUGUSTO; GARÓFALO, 2011), *E. fimbriata* (AUGUSTO; GARÓFALO, 2009), *E. hyacinthina* (SOUCY et al., 2003), *E. melanotricha* (ANDRADE-SILVA; NASCIMENTO, 2012), *E. nigropilosa* (OTERO et al., 2008), *E. townsendi* (AUGUSTO; GARÓFALO, 2004), *E. truncata* (BRAGA; GARÓFALO, 1998), *E. viridissima* (COCOM PECH et al, 2008), *E. imperialis* e *E. ignita* (ROBERTS; DODSON, 1967).

Dentre essas espécies, *E. cordata* é com certeza a espécie mais extensivamente estudada no que diz respeito à organização social (GARÓFALO, 1985; GARÓFALO, 1992; AUGUSTO; GARÓFALO, 2011). Os estudos realizados com esta espécie indicam que a fundação do ninho é um processo solitário, o que parece ser uma regra em Euglossini. A fêmea fundadora, após construir um número variável de células permanece no ninho até a emergência da prole. Algumas fêmeas da prole tendem a retornar ao ninho materno, reativando-o. Durante o processo de reativação, a mãe pode ou não estar presente. Portanto, pequenas colônias podem ser formadas por fêmeas de diferentes gerações (mãe e filhas), da mesma geração e, em raras ocasiões, por fêmeas não aparentadas (GARÓFALO, 1985; GARÓFALO, 1992; AUGUSTO; GARÓFALO, 2011).

Durante as reativações dos ninhos, uma das fêmeas reativadoras exibe o comportamento de dominância (Fêmeas Dominantes - FD) e as outras o de subordinação (Fêmeas Subordinadas - FS). As fêmeas com comportamento de subordinação realizam as atividades de reuso/construção de células e provisionamento, enquanto as fêmeas dominantes raramente saem do ninho. As fêmeas dominantes possuem o comportamento de ovipositar em células anteriormente ovipositadas pelas subordinadas; elas comem os ovos presentes nas

células ovipositadas pelas subordinadas (oofagia) e os substituem pelos seus. A idade da fêmea parece estar relacionada com a exibição dos comportamentos de dominância e subordinação, pois nos ninhos dessa espécie, as fêmeas mais velhas são as dominantes. Outra característica é a presença de comportamentos agonísticos, as fêmeas dominantes são agressivas em relação às subordinadas (GARÓFALO, 1985; GARÓFALO, 1992; AUGUSTO; GARÓFALO, 2011).

Os estudos realizados até o momento indicam que as fêmeas com comportamento dominante em *E. cordata* parecem realizar oofagia seguida de oviposição em todas as células operculadas pelas fêmeas subordinadas (GARÓFALO, 1985; GARÓFALO, 1992; AUGUSTO; GARÓFALO, 2011), resultando em um desvio reprodutivo completo. No entanto, os estudos restritos a análises de comportamento trazem dificuldades em estabelecer estimativas consistentes de desvio reprodutivo. Os ninhos teriam que ser monitorados 24 horas por dia para que a maternidade de todos os indivíduos da prole fosse atribuída com certeza à fêmea dominante. Deste modo, as análises de parentesco entre as fêmeas reativadoras e a prole, mediante o uso de marcadores moleculares, associadas a observações de comportamentos, podem fornecer estimativas consistentes sobre as taxas de desvio reprodutivo em *E. cordata*, assim como para outras espécies de *Euglossa*.

Uma vez obtidas taxas consistentes de desvio reprodutivo, elas poderiam ser analisadas levando-se em consideração os diferentes tipos de associações formadas entre as fêmeas reativadoras, em que o parentesco entre elas é diferente, fornecendo informações importantes para um melhor entendimento da evolução da divisão de trabalho reprodutivo em *E. cordata*.

De acordo com a teoria da seleção de parentesco de Hamilton (1964), a evolução de comportamentos altruístas, como a divisão de trabalho reprodutivo,

está intimamente associada ao parentesco genético entre os membros do grupo. Ao conceder oportunidades reprodutivas para indivíduos aparentados é possível obter sucesso reprodutivo. Como os indivíduos aparentados compartilham alelos por descendência, quando um indivíduo ajuda o seu parente a se reproduzir, ele está passando seus próprios genes indiretamente para as próximas gerações, o que Hamilton (1964) denominou de fitness inclusivo. No entanto, Hamilton (1964) não exclui a possibilidade de conflitos dentro dos grupos. Embora os indivíduos sejam aparentados, os membros do grupo podem estar interessados em passar seus genes diretamente para as próximas gerações (KELLER; CHAPUISAT, 1999). Neste sentido, alguns modelos teóricos foram propostos para explicar como estes conflitos poderiam ser resolvidos. Estes modelos são conhecidos como os modelos do desvio reprodutivo, os quais incluem previsões ecológicas e genéticas para explicar as diferentes taxas de desvio reprodutivo encontradas nas sociedades animais (REEVE; KELLER, 2001).

Neste estudo, as taxas de desvio reprodutivo em *E. cordata* foram estimadas por meio da associação de observações de comportamento e estimativas de parentesco entre a prole e as fêmeas reativadoras, mediante o uso de marcadores microssatélites. É importante ressaltar que as taxas de desvio foram estimadas para reativações que ocorreram com o estabelecimento de diferentes tipos de associações entre as fêmeas reativadoras; ou seja, situações em que o parentesco entre elas era diferente. Deste modo, este estudo investigou a existência de correlação entre parentesco genético entre as fêmeas reativadoras e o desvio reprodutivo.

Este trabalho buscou ainda obter novas informações sobre a evolução da divisão do trabalho reprodutivo no gênero *Euglossa* ao comparar os resultados

encontrados para *E. cordata* com outras espécies do gênero, considerando as predições da teoria da seleção de parentesco e dos modelos do desvio reprodutivo.

2 Material e Métodos

Considerando-se o objetivo do presente estudo, 13 ninhos de *Euglossa cordata* tiveram um ou mais dos seus processos de reativação acompanhados até que fossem obtidas situações que permitissem estimar a existência de desvio na produção de descendentes por parte de uma das fêmeas reativadoras; ou seja, estimar o desvio reprodutivo nos ninhos. Estas situações consistem em reativações que tenham ocorrido na presença de mais de uma fêmea, com estas estabelecendo mais de um tipo de associação. Além disso, o número de células produzidas durante a reativação necessariamente deve ser suficiente para que as estimativas de desvio reprodutivo sejam consistentes. Um número de células suficiente deve ser um número que tenha alta probabilidade da prole ser constituída por mais de um macho e mais de uma fêmea, além disso, deve ser um número que seja frequentemente construído pelas fêmeas. Deste modo, o número de seis células foi adotado como adequado.

Os 13 ninhos de *E. cordata* (API3, API4, BOT12, CINT1, CINT2, FFCL1, FFCL2, FFCL5, FFCL7, FFCL8, FFCL9, GEN3, GEN6) foram obtidos por meio da estratégia de ninhos-armadilha, de acordo com a metodologia descrita no Capítulo I. Informações sobre as localidades em que os ninhos foram coletados, bem como sobre as armadilhas e o conteúdo deles ninhos no momento da coleta encontram-se registradas no capítulo mencionado.

2.1 Observações das reativações de ninhos de *Euglossa cordata*

As observações dos processos de reativação dos 13 ninhos de *Euglossa cordata* foram realizadas na Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto - FFCL-RP (21°09' 46.0" S 47°51' 39.4" W) no "Laboratório de Ecologia e Evolução de Abelhas e Vespas" e no meliponário da FFCL-RP e suas imediações.

2.1.1 Ninhos acompanhados fora do laboratório

Optou-se por não fazer a transferência de nove ninhos estabelecidos em caixas de madeira para a sala de observação. Sendo assim, o desenvolvimento destes ninhos foi acompanhado fora do laboratório. Uma placa de vidro foi colocada sobre as caixas, para que as emergências e atividades das fêmeas fossem mais facilmente acompanhadas. Foram feitas, no mínimo, três inspeções diárias nestes ninhos, no começo da manhã, à tarde e ao entardecer. Como durante as inspeções as situações encontradas eram diversas, o tempo despendido nelas foi variável; poderia ser o tempo suficiente para uma simples checagem, como poderia se estender por alguns minutos, por exemplo, durante a observação de uma oviposição e operculação de célula. As observações consistiam em verificar as atividades de reuso/construção de células, provisionamento e oviposição. Quando as reativações foram realizadas na presença de mais de uma fêmea, as atividades e comportamentos exibidos por elas foram observados. O foco principal era verificar o tipo de associação estabelecido entre as fêmeas e quais delas exibiam as atividades e comportamentos de fêmeas FS e FD.

2.1.2 Ninhos acompanhados no laboratório

Quatro ninhos foram transferidos para o laboratório. Os que haviam sido estabelecidos em bambu foram acondicionados em uma caixa de observação, após o bambu ser aberto longitudinalmente, deixando as células expostas. Já no caso dos ninhos estabelecidos em caixa de madeira, a própria caixa foi utilizada. Todas as caixas foram conectadas com o meio externo por uma mangueira de polietileno e cobertas com uma placa de vidro (Figura 1).

Para este conjunto de ninhos, além das observações descritas anteriormente, foram realizadas, com o auxílio de um cronômetro, as seguintes estimativas: 1) duração dos voos para coleta de alimento larval e resina; 2) tempo gasto para a deposição de resina e do alimento larval nas células; 3) tempo gasto na oviposição e operculação de células.

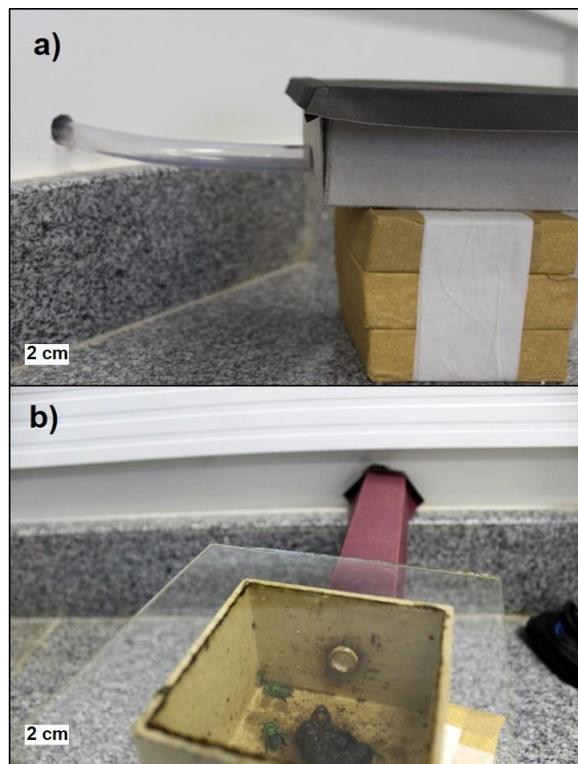


Figura 1. Caixa de observação conectada com a parede. Destaque para a mangueira que conecta a caixa com o meio externo (a) e para a conexão entre a mangueira e a caixa de observação (b). No interior da caixa, a presença de duas fêmeas de *Euglossa cordata*.

2.1.3 Marcação das fêmeas

Para facilitar a identificação das fêmeas, elas foram marcadas na região do tórax com diferentes cores (Figura 2), utilizando caneta de coloração permanente da marca Magic® do tipo “Opaque Color”. As fêmeas foram marcadas ao final da tarde, quando já haviam cessado suas atividades. O procedimento para marcá-las consistiu em transferir a caixa contendo o ninho para um ambiente escuro, levantar a tampa e tocar levemente o tórax da fêmea com a caneta.



Figura 2. Fêmea de *Euglossa cordata*, marcada no tórax.

2.1.4 Análise estatística dos dados

O teste- t de Student foi realizado para comparar possíveis diferenças no tempo de desenvolvimento dos indivíduos da prole. Estas análises foram realizadas no programa *BioStat 5.3* (AYRES; AYRES, 2007).

2.2 Análises de desvio reprodutivo durante as reativações de ninhos

Em 11 dos 13 ninhos que tiveram um ou mais processos de reativação acompanhados, foram obtidas situações de interesse para que as estimativas de desvio reprodutivo fossem realizadas. Deste modo, a prole e as fêmeas reativadoras da última ou única reativação desses ninhos foram sacrificadas para que o

parentesco entre elas e a prole fosse estimado por meio de marcadores microssatélites.

Após a coleta das fêmeas reativadoras, as entradas dos ninhos foram fechadas e aguardou-se a emergência da prole. Os indivíduos da prole foram imediatamente capturados após sua emergência. Tanto as fêmeas reativadoras como os indivíduos da prole foram acondicionados em etanol 100% ou estocados a -20°C, após terem sido sacrificados por resfriamento.

2.2.1 Estimativas de parentesco por meio de marcadores microssatélites

A maternidade dos indivíduos da prole foi atribuída às diferentes fêmeas reativadoras por meio de análises de segregação mendeliana em 12 locos microssatélites. Atribuiu-se a maternidade de um macho a uma das fêmeas reativadoras quando ele compartilhava alelos exclusivos com uma delas. Já no caso das fêmeas da prole, a maternidade foi atribuída a uma das supostas mães após a identificação do alelo paterno e posterior observação dos alelos exclusivos compartilhados.

Além de analisar a prole e as fêmeas reativadoras dos ninhos que tiveram seus processos de reativação observados, fora ou dentro do laboratório, também foram realizadas análises de parentesco entre as fêmeas reativadoras e a prole de um ninho com histórico desconhecido, o GEN1. Quando ele foi visto pela primeira vez, havia duas fêmeas no ninho, seis células fechadas e uma aberta, da qual já havia emergido um indivíduo (ver Capítulo I).

Para a amplificação dos locos de microssatélites, primeiramente o DNA total dos indivíduos foi extraído. A extração foi realizada a partir das três pernas

direitas dos adultos maceradas em nitrogênio líquido, utilizando o protocolo de Chelex 100 (WALSH et al., 1991).

Foram utilizados 12 locos microssatélites, sete (Egc 17, Egc 18, Egc 24, Egc 26, Egc 30a, Egc 35, Egc 37 e Egc 51) descritos para *E. cordata* (SOUZA et al. 2007) e quatro (ann 3, ann 4, ann 8 e ann 24) para *E. annectans* (PAXTON et al. 2009). As condições das reações de PCR foram baseadas nos protocolos descritos por Souza et al. (2007) e Paxton et al. (2010). A mistura da reação de PCR era constituída de 0,5 µM de cada *primer* (*forward* e *reverse*), 1x tampão, 1U de Platinum Taq DNA polimerase (Invitrogen), 0,125 ou 0,25mM de dNTPs e 1,75 – 1,5 mM de MgCl₂. As amplificações ocorreram nas seguintes condições: desnaturação inicial a 94°C por 3 minutos, seguida de 40 ciclos de 30s a 94°C, 30s a 60 (ann 03, ann 04 e ann 08), 58 (Egc 18, ann 37 e ann 24), 56 (Egc 24, Egc 26 e Egc 37) ou 54°C (Egc 17, Egc 51 e Egc 35) e 48s a 70°C, com uma extensão final de 10 min a 70°C.

A genotipagem dos locos foi realizada após a corrida das amostras em sequenciador automático Mega BACE 1000 (GE). A leitura dos eletroferogramas foi realizada no programa Mega BACE Fragment Profiler versão 1.2.

2.2.2 Associação dos dados comportamentais e genéticos

Para estimar o desvio reprodutivo, as informações obtidas durante as observações foram associadas às estimativas de parentesco. Os comportamentos observados durante as reativações forneceram informações como: o tipo de associação estabelecido entre as fêmeas reativadoras; comportamentos assumidos por elas - de FS ou FD; identificação das células em que as fêmeas trabalharam. Já as análises de parentesco, buscaram responder às seguintes perguntas: uma

determinada fêmea FS, que trabalhou em determinadas células, construindo-as, provisionando-as e nelas ovipositando é a mãe dos indivíduos que emergiram destas células? Nos casos em que a maternidade dos indivíduos não possa ser atribuída às FS que trabalharam nas células das quais os indivíduos emergiram, ela pode ser atribuída à FD presente no ninho? Ao permitir responder a estas perguntas, as análises de parentesco nos forneceram estimativas indiretas do número de oofagias que ocorreram nos ninhos.

3 Resultados

3.1 Características dos processos de reativação em ninhos de *Euglossa cordata*

No total foram observados 19 processos de reativação de ninhos em *E. cordata* (Tabela 1). O processo de reativação se assemelhou ao de fundação (descrito no Capítulo I), com a coleta de resina, construção da entrada (quando ausente) e vedação das frestas com resina. No entanto, nas reativações houve o reuso das células. Durante este processo, as fêmeas iniciaram o trabalho retirando a parte superior das células, que ficou rompida devido à emergência de um indivíduo. Posteriormente, revestiram a célula por dentro com resina e iniciaram o provisionamento. Além de reutilizar células, as fêmeas construíram novas células. O fato de existir células disponíveis para o reuso não impediu que as fêmeas construíssem novas células.

Uma diferença importante entre os processos de fundação e reativação é que este último processo acontece muitas vezes na presença de mais de uma fêmea. As reativações iniciaram-se sempre após a emergência de uma fêmea da prole, na presença ou ausência da mãe. Nos casos em que a mãe estava presente,

quando do regresso de uma ou mais fêmeas da prole, foram estabelecidas associações matrilineais. Em alguns ninhos, nos quais a mãe não estava mais presente, houveram situações em que apenas uma das fêmeas filhas voltou após o voo pós-emergência, reativando o ninho sozinha. No entanto, em outras situações, duas fêmeas filhas voltaram ao ninho materno para reativá-lo, estabelecendo uma associação do tipo sororal (Tabela 1).

Além dessas associações, em um dos ninhos foi observada uma associação entre fêmeas não aparentadas, resultante de uma tentativa bem sucedida de usurpação de ninho. O ninho usurpado foi o CINT2 e a invasão ocorreu durante a segunda reativação, que estava sendo feita por duas fêmeas irmãs (Tabela 1). Durante esta reativação, uma fêmea não pertencente ao ninho e, portanto, não aparentada com as fêmeas irmãs, invadiu o ninho. Quando a fêmea usurpadora entrou no ninho, uma das irmãs, a mais velha, reagiu de forma muito agressiva e a fêmea invasora correspondeu às agressões. Durante a briga, a fêmea do ninho, a irmã mais velha, acabou morrendo. A usurpadora também foi agressiva com a irmã mais nova, mas esta fêmea não respondeu às agressões; ela saía de perto e se escondia nos cantos da caixa. Após a irmã mais velha ter morrido, a mais nova continuou trabalhando no ninho na presença da usurpadora, estabelecendo-se, portanto, a associação entre fêmeas não aparentadas.

Nos ninhos em que mais de um processo de reativação foi observado, o tipo de associação estabelecido entre as fêmeas, nas diferentes reativações, foi determinado sempre que a reativação anterior tivesse ocorrido na presença de apenas uma fêmea. Isto porque era certo que nestas situações só haveria uma mãe responsável pela prole. Apenas em duas reativações não foi possível determinar o

tipo de associação entre as fêmeas, pois as reativações anteriores a elas aconteceram na presença de mais de uma fêmea (Tabela 1).

Tabela 1. Reativações acompanhadas em ninhos de *Euglossa cordata* e tipos de associações estabelecidas entre fêmeas compartilhando os ninhos durante as reativações. Localização do ninho, fora do laboratório (F) e dentro do laboratório (D).

| Código do ninho | Reativações | Tipo de associações entre fêmeas |
|------------------------|--------------------|---|
| CINT1 ^F | R1 | sororal |
| CINT2 ^D | R1 | nenhuma (fêmea filha sozinha) |
| | R2 | sororal e entre fêmeas não aparentadas |
| GEN 3 ^D | R1 | sororal |
| FFCL1 ^F | R1 | matrifilial |
| FFCL2 ^F | R1 | matrifilial |
| | R2 | nenhuma (fêmea filha sozinha) |
| | R3 | matrifilial |
| FFCL5 ^F | R1 | matrifilial |
| FFCL7 ^F | R1 | matrifilial |
| | R2 | ? |
| FFCL8 ^F | R1 | sororal |
| BOT12 ^D | R1 | nenhuma (fêmea filha sozinha) |
| | R2 | matrifilial |
| API4 ^F | R1 | matrifilial |
| GEN6 ^F | R1 | matrifilial |
| API3 ^D | R1 | sororal |
| | R2 | ? |
| FFCL9 ^F | R1 | matrifilial |

Como esperado, durante as associações entre fêmeas, foi observado que uma ou mais delas realizavam as atividades de reuso ou construção de células, coleta de alimento larval e de resina, além de ovipositar e opercular células que elas haviam reutilizado ou construído (Fêmeas Subordinadas - FS). Enquanto uma ou mais fêmeas realizavam estas atividades, uma única fêmea permanecia no ninho durante a maior parte do tempo, sendo dificilmente encontrada fora do ninho (Fêmeas Dominantes – FD). Além disso, as fêmeas FD podiam abrir células anteriormente ovipositadas e operculadas pelas FS, realizar oofagia e substituir os ovos destas fêmeas pelos seus. Nas associações matrifiliais foi sempre a mãe quem

assumiu o comportamento de FD e a filha ou filhas, o de FS. Já no caso das associações entre irmãs, a mais velha foi quem assumiu o comportamento de FD e a mais nova de FS. No caso do ninho CINT2, durante a associação entre fêmeas não aparentadas, a irmã mais nova continuou exibindo os comportamentos de fêmea FS, enquanto a fêmea usurpadora passou a exercer o comportamento de FD, antes realizado pela irmã mais velha. Com relação às duas reativações em que a associação entre as fêmeas não foi determinada, foi a fêmea mais velha quem assumiu o comportamento de FD e a mais nova de FS.

O número de células reutilizadas ou construídas pelas fêmeas FS foi variável nos diferentes processos de reativação acompanhados, bem como o período de atividade das fêmeas na reativação (Tabela 2). O período de atividade foi considerado como o intervalo de tempo desde o nascimento da fêmea da prole que deu início à reativação do ninho, até o dia em que a última célula construída durante a respectiva reativação foi operculada.

Tabela 2. Duração (dias) de cada reativação nos ninhos de *Euglossa cordata*, número de células operculadas e o de fêmeas trabalhando em cada processo de reativação.

| Código do Ninho | Reativação (número de fêmeas) | Número de células operculadas | Período de atividade (número de dias) |
|-----------------|-------------------------------|-------------------------------|---------------------------------------|
| CINT1 | R1 (2) | 6 | 19 |
| CINT2 | R1 (1) | 6 | 28 |
| | R2 (2) | 13 | 34 |
| GEN3 | R1 (2) | 8 | 34 |
| FFCL1 | R1 (2) | 6 | 28 |
| FFCL2 | R1 (2) | 2 | 12 |
| | R2 (1) | 4 | 24 |
| | R3 (2) | 11 | 25 |
| FFCL5 | R1 (2) | 11 | 39 |
| FFCL7 | R1 (3) | 13 | 38 |
| | R2 (2) | 12 | 71 |
| FFCL8 | R1 (2) | 8 | 30 |
| BOT12 | R1 (1) | 8 | 37 |
| | R2 (3) | 8 | 41 |
| API4 | R1 (2) | 6 | 25 |
| GEN6 | R1 (2) | 7 | 31 |
| API3 | R1 (1) | 4 | 24 |
| | R2 (2) | 9 | 63 |
| | R3 (2) | 15 | 51 |
| FFCL9 | R1 (3) | 9 | 33 |

3.1.1 Comportamentos e atividades observados e/ou quantificados nos ninhos mantidos dentro do laboratório

a) Atividades de coleta e deposição de alimento larval e resina

As fêmeas trazem o alimento larval (pólen + néctar) nas corbículas; esta mistura forma uma massa viscosa (Figura 3). As atividades de coleta do alimento larval podem ocorrer durante o período da manhã e da tarde. Quando as fêmeas chegam ao ninho com alimento larval, elas primeiramente inspecionam a célula, introduzindo a cabeça. Posteriormente, introduzem o abdômen dentro da célula e então depositam o alimento larval, com o auxílio das pernas medianas, enquanto ficam apoiadas na célula com as pernas anteriores. Após terminar de depositar o alimento, retiram o abdômen da célula e voltam a inspecioná-la para, em seguida, saírem do ninho.



Figura 3. Fêmea de *Euglossa cordata*, chegando ao ninho com alimento larval na corbícula.

O tempo gasto para depositar o alimento larval variou de 13 a 53 s (\bar{x} = $29,49 \pm 9,01$; n = 148). Após depositar o alimento larval, a fêmea podia sair do ninho ou nele permanecer, trabalhando nas células por alguns minutos. Com relação à duração das viagens para coleta de alimento larval, elas variaram de 18 a 73 min (\bar{x} = $43,56 \pm 12,22$; n = 95).

Assim como o alimento larval, a resina é trazida nas corbículas. Quando as fêmeas chegam ao ninho, elas descarregam a resina no próprio chão do ninho, perto da entrada, próximo ou sobre as células, o que é feito com o auxílio das pernas medianas. Muitas vezes as fêmeas não descarregam simultaneamente a resina trazida em ambas as corbículas; elas podem trabalhar a resina recém descarregada de uma das pernas e/ou até mesmo caminhar pelo ninho e, posteriormente, depositar o conteúdo da outra perna. Deste modo, o tempo estimado para a deposição da resina foi considerado como o tempo que a fêmea gastou para retirar a resina de ambas as corbículas; o tempo que ela gastou trabalhando a resina recém descarregada de uma das corbículas ou andando pelo ninho não foi contabilizado. O tempo para deposição de resina variou de 4 a 111 s

($\bar{X}=33,35 \pm 27,74$; $n=49$). É possível perceber que existe uma grande variação entre o tempo mínimo e máximo que a fêmea gastou para depositar a resina. Esta diferença é devida ao fato de que, algumas vezes, a resina se desgrudou facilmente da corbícula; no entanto, outras vezes, a resina parecia estar mais aderida, demorando para se desprender. A duração das viagens para coleta de resina variou de 21 a 68 min ($\bar{X}=39,42 \pm 13,25$; $n=38$).

b) Preparo das células para oviposição, operculação de células e oofagias

Após a fêmea realizar a última deposição de alimento larval, ela deu início ao preparo da célula para a oviposição. Este preparo consistia basicamente na construção do colar. Neste processo, a fêmea trabalhava com as mandíbulas, retirando resina do assoalho do ninho ou até mesmo de outras células e adicionando este material à borda da célula, fazendo com que ela ficasse um pouco maior em altura, quando comparada às outras já fechadas. Além de aumentar o tamanho, a fêmea trabalhava na célula diminuindo o diâmetro de sua abertura.

Durante a oviposição, a fêmea introduzia o abdômen dentro da célula, permanecendo praticamente imóvel, exceto pela movimentação das antenas. A partir deste momento, iniciavam-se as contrações abdominais e o ovo começava a ser expelido. Enquanto o ovo ia sendo expelido a fêmea ia abaixando o abdômen até que o ovo entrasse em contato com o alimento larval; neste momento, era possível perceber que o ferrão estava exposto. Terminado este processo, ela iniciava a operculação da célula. O processo de operculação pode ser dividido em duas fases, levando-se em consideração as atividades da fêmea. Na primeira fase (fase I), a fêmea, ainda com a porção final do abdômen dentro da célula, comprime a resina contra o seu corpo, com o auxílio das mandíbulas e das pernas, diminuindo o

diâmetro do orifício. Na segunda fase (fase II), ela retira o abdômen da célula e começa a terminar de fechar a célula, também com o auxílio das mandíbulas e pernas. Após a célula estar fechada, a fêmea pode continuar trabalhando a resina da superfície apical da célula recém operculada. Durante esta fase (após a célula já estar operculada), a fêmea pode sair da célula várias vezes, coletar mais resina pelo ninho e voltar a trabalhar nela. Em três processos de operculação de células, a fêmea FD não deixou que a FS terminasse a fase II. Nestas ocasiões, a fêmea FD foi subindo na célula que estava sendo operculada pela FS, tocando-a com as antenas e com cabeça. À medida que a FD se aproximava, a FS ia recuando até sair completamente da célula, com a FD tomando seu lugar. Quando a FS tentava voltar, a FD repetia os comportamentos descritos e ela, novamente, recuava. Após ter retirado a FS, a fêmea FD terminou de opercular a célula. É importante ressaltar que nestas situações a FD não realizou oofagia antes de opercular a célula, apenas terminou o processo iniciado pela FS.

O tempo gasto para a construção do colar variou de 481 a 2221 s ($\bar{X}=1152,5 \pm 487,28$; $n=20$). Já a duração do processo de oviposição, desde o momento de introdução do abdômen dentro da célula até o início da operculação variou de 41 a 98 s ($\bar{X}=72,65 \pm 21,23$; $n=20$). Com relação à operculação, a fase I (do início da operculação até a primeira retirada do abdômen da célula) e a fase II levaram de 76 a 155 s ($\bar{X}=146,28 \pm 65,63$; $n=21$) e de 283 a 872 s ($\bar{X}=468,22 \pm 154,53$; $n=18$), respectivamente.

As oofagias foram realizadas pelas fêmeas dominantes e os processos observados ocorreram de 49 min a 1533 min ($\bar{X}=373,25 \pm 484,19$; $n=8$) após a operculação da célula pela fêmea subordinada. Antes de iniciar a oofagia, as fêmeas dominantes tocaram as células com as antenas e, em seguida, começaram a mexer

com as mandíbulas a resina da superfície das células, iniciando a abertura. Após abrirem as células e comerem os ovos, elas ovipositaram e opercularam as células.

c) Interações entre as fêmeas

Foram verificadas interações agressivas (comportamentos agonísticos) entre as fêmeas FD e FS. A fêmea FD podia tocar a FS com a cabeça, em diferentes regiões do seu corpo de maneira agressiva e, até mesmo, empurrar ou morder a FS. Estas interações aconteciam principalmente quando a FS ficava em cima do favo de células operculadas ou quando ela chegava do campo com alimento larval, fazia a deposição do alimento, mas demorava para sair do ninho.

Além das interações agressivas, era comum que a FD ficasse extremamente próxima à FS, tocando-a com as antenas ou simplesmente andando ao redor dela.

3.1.2 Parasitismo

Não foram verificados parasitas emergindo nos ninhos que tiveram seus processos de reativação acompanhados. No entanto, o parasita *Hoplostelis nigrítula* foi encontrado no interior de dois ninhos (FFCL1 e CINT1). Em ambos os casos, a fêmea parasita já havia aberto uma célula operculada. Além disso, nos dois casos, as duas fêmeas que participavam das reativações estavam ausentes. Assim como descrito no Capítulo I, a fêmea parasita havia fechado a entrada do ninho para inibir o retorno das fêmeas reativadoras. As fêmeas de *H. nigrítula* foram coletadas e, posteriormente, sacrificadas. Do mesmo modo, as entradas dos ninhos foram abertas com o auxílio de uma pinça, para que as fêmeas de *Euglossa* não encontrassem as entradas fechadas quando tentassem retornar aos ninhos.

3.1.3 Razão sexual, precedência de emergências e duração do período de desenvolvimento de machos e fêmeas nos ninhos sacrificados para análises de desvio reprodutivo

Como todos os machos e fêmeas que emergiram dos ninhos utilizados nas análises de desvio reprodutivo foram coletados, foi possível determinar o tempo de desenvolvimento dos imaturos e a razão sexual nesses ninhos (Tabela 3). Não houve diferença estatística entre o tempo de desenvolvimento de machos e fêmeas ($p = 0,45$; $t = - 0,1197$). No entanto, a comparação das médias mostrou que o tempo de desenvolvimento dos indivíduos foi significativamente maior na estação fria e seca ($p < 0.0001$; $t = 12,43$).

Apesar da primeira emergência ter sido de uma fêmea em todos os ninhos observados, não houve um padrão evidente na ordem de emergência de machos e fêmeas. Considerando-se a prole de cada ninho, a razão sexual não foi estatisticamente diferente de um macho para uma fêmea nos 11 ninhos monitorados (Tabela 3). No entanto, apesar da ausência de diferença significativa acusada pelo teste estatístico, em dois ninhos (FFCL8 e FFCL9), a prole consistiu praticamente no dobro de machos e em um deles (FFCL5), no triplo de fêmeas. A associação entre as fêmeas reativadoras nestes três ninhos era do tipo matrifilial, portanto, não é possível perceber uma relação entre o tipo de associação entre as fêmeas reativadoras e a razão sexual nos ninhos (Tabela 3). Levando em consideração a população total de ninhos, a prole consistiu em 43 fêmeas e 51 machos, proporção esta não estatisticamente diferente da proporção de um macho para uma fêmea ($\chi^2 = 0,68$; $p > 0,05$).

Tabela 3. Razão sexual e duração do desenvolvimento de fêmeas e machos de *Euglossa cordata* provenientes de 11 ninhos de acordo com a estação do ano – quente e chuvosa (de setembro a fevereiro); fria e seca (de março a agosto); Qui-Quadrado (χ^2) entre o número de fêmeas/machos que emergiram nos ninhos e o número de emergências esperado em uma razão sexual de exatamente um macho para uma fêmea; ? = associação entre as fêmeas não determinada pelas observações; F = fêmeas; M= machos.

| Código do ninho | Tipo de associação entre fêmeas | Meses do desenvolvimento dos imaturos | Período (em dias) da duração do desenvolvimento de fêmeas e machos | | | | | | | | Razão sexual F:M | χ^2 |
|-----------------|---------------------------------|---------------------------------------|--|------|------------------|-----|--------|------|-------------------|-----|------------------|----------|
| | | | Fêmeas | | | (N) | Machos | | | (N) | | |
| | | | Min. | Max. | Média \pm dp | | Min. | Max. | Média | | | |
| CINT2 | sororal | Dez a Fev | 52 | 63 | 56,8 \pm 4,2 | 6 | 56 | 60 | 58,33 \pm 2,08 | 4 | 1,5:1 | 0,4 |
| GEN3 | | Jan e Fev | 50 | 55 | 53 \pm 2,16 | 4 | 51 | 55 | 53,5 \pm 1,91 | 4 | 1:1 | 0 |
| API4 | matrifilial | Set a Nov | 51 | 56 | - | 2 | 53 | 57 | 55 \pm 2,82 | 3 | 0,66:1 | 0,2 |
| BOT12 | | Mai a Ago | 82 | 90 | - | 2 | 87 | 92 | 90 \pm 2,64 | 3 | 0,66:1 | 0,2 |
| GEN6 | | Set a Dez | 58 | 62 | 60 \pm 2,8 | 3 | 59 | 64 | 60,75 \pm 2,22 | 4 | 0,75:1 | - |
| FFCL2 | | Jan a Abr | 53 | 56 | 54,75 \pm 1,25 | 4 | 52 | 58 | 54,25 \pm 2,63 | 4 | 1:1 | - |
| FFCL5 | | Nov a Jan | 55 | 60 | 56,67 \pm 2,88 | 6 | 56 | 61 | - | 2 | 3:1 | 2 |
| FFCL8 | | Abr a Ago | 92 | 100 | - | 2 | 98 | 100 | 99 \pm 1 | 5 | 0,4:1 | 1,28 |
| FFCL9 | | Nov a Jan | 51 | 60 | 54,67 \pm 4,72 | 3 | 51 | 58 | 53,83 \pm 2,64 | 7 | 0,43:1 | 1,6 |
| API3 | | Set a Dez | 51 | 55 | 52,6 \pm 1,82 | 6 | 51 | 60 | 54,42 \pm 2,63 | 8 | 0,75:1 | 0,28 |
| FFCL7 | ? | Jul a Out | 58 | 85 | 73 \pm 13,36 | 5 | 50 | 83 | 62,57 \pm 13,34 | 7 | 0,71:1 | 0,32 |

3.2 Análises genéticas de parentesco e estimativas de desvio reprodutivo

Como descrito, do total de 13 ninhos com processos de reativações acompanhados, 11 tiveram a prole e as fêmeas reativadoras da última ou única reativação do ninho sacrificadas para as análises de desvio reprodutivo. Em três ninhos (FFCL7, GEN3 e GEN6), embora as reativações tenham acontecido na presença de duas fêmeas (FD e FS), apenas a fêmea FD foi coletada, devido ao fato da FS não ter sido mais vista no ninho. Além disso, em um dos ninhos analisados (BOT12) foi coletada a fêmea FD e uma das duas fêmeas FSs, também devido ao fato de uma das FS não ter sido mais vista no ninho antes da data de remoção delas (Figura 4).

Conforme descrito na metodologia, também foram realizadas análises de parentesco entre duas fêmeas reativadoras e a prole de um ninho com histórico desconhecido, o GEN1. Foi observado que uma das fêmeas tinha o comportamento de FD e a outra de FS. No entanto, devido à ausência de observações não foi possível estabelecer o tipo de associação entre elas.

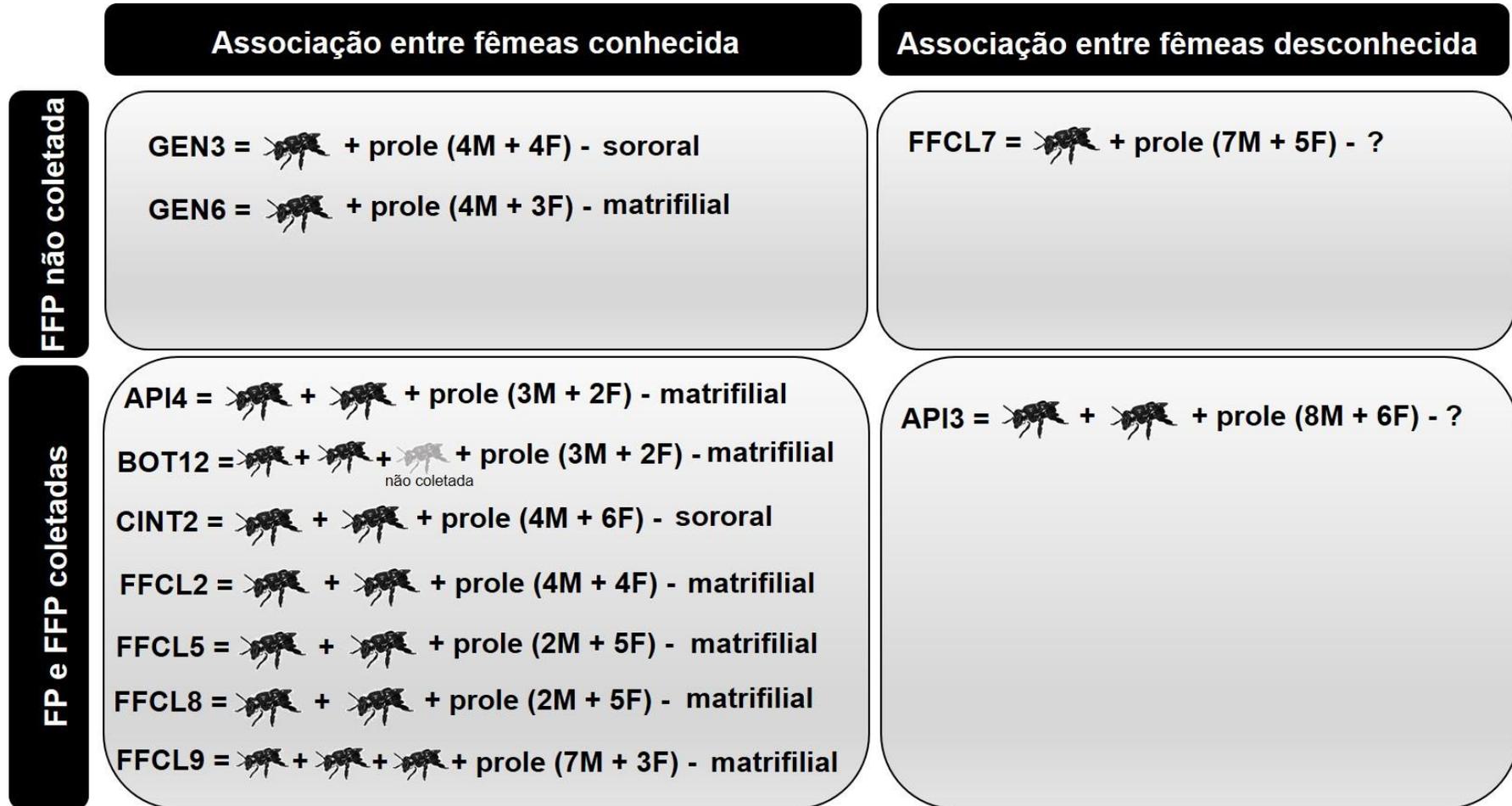


Figura 4. Reativações em ninhos de *Euglossa cordata* que tiveram o parentesco entre a prole e as fêmeas reativadoras estimado por meio de análises de segregação mendeliana em 12 locos microssatélites. Fêmeas reativadoras analisadas, tipo de associação estabelecida entre elas e prole produzida. FD = fêmeas dominantes; FS = fêmeas subordinadas; M = machos; F = fêmeas.

Antes de apresentar as análises de parentesco entre a prole e as fêmeas reativadoras, é importante ressaltar que as análises de segregação mendeliana dos 12 locos analisados indicaram que a fêmea FD, responsável pela prole, havia se acasalado com um único macho; isto é, um sistema monândrico de acasalamento explica a prole encontrada em todos os ninhos. Além disso, nos casos em que a associação estabelecida entre as fêmeas reativadoras era do tipo sororal, as análises de segregação indicaram que as fêmeas eram irmãs completas, ou seja, apontam para o acasalamento monândrico das suas mães.

Nos ninhos API3, API4, CINT2, FFCL2, FFCL5, FFCL8 e FFCL9, a maternidade de todos os indivíduos da prole foi atribuída às fêmeas FDs, com exceção de um macho pertencente ao ninho FFCL5, o qual apresentou alelos compartilhados pelas duas fêmeas nos 12 locos analisados. Como todos estes indivíduos emergiram de células aprovisionadas e operculadas pelas fêmeas FSs, tais resultados mostram que as FDs realizaram oofagia nas células anteriormente ovipositadas pelas FSs, substituindo os ovos destas fêmeas pelos seus. Pode-se dizer também que o desvio reprodutivo nestes ninhos foi completo, com apenas uma das fêmeas deixando descendentes.

Levando em consideração o ninho BOT12, no qual apenas uma das fêmeas FS foi coletada, verificou-se que os três indivíduos que nasceram das células que foram aprovisionadas e ovipositadas pela FS são filhos da FD, indicando que ela realizou oofagia nas células anteriormente ovipositadas por aquela fêmea. Considerando-se as células que foram fechadas pela FS não coletada, não há indícios de que os indivíduos que emergiram destas células não possam ser filhos da FD.

No ninho FFCL9, após a morte da fêmea FD, mãe das fêmeas FSs, a irmã mais velha (FS1) assumiu os comportamentos de FD, enquanto a mais nova (FS2) continuou exibindo os comportamentos de FS. As análises de segregação mendeliana dos doze locos de microssatélites indicaram que os dois indivíduos da prole, produzidos após a morte da mãe são filhos da irmã mais velha (Tabela 4), o que evidencia que ela passou a realizar oofagias nas células ovipositadas pela sua irmã.

Como já mencionado, o ninho CINT2 foi invadido por uma fêmea usurpadora (FU). A prole produzida após a invasão da FU teve a maternidade atribuída a ela. Além disso, as análises de segregação mendeliana mostraram que uma fêmea que emergiu de uma célula operculada dois dias antes da FU invadir o ninho também era sua filha. Isto indica que a FU realizou oofagias nas células operculadas pela FS após a sua invasão e em uma célula que foi fechada quando ela ainda não estava presente no ninho.

No ninho API3, o tipo de associação entre as fêmeas reativadoras era desconhecido, pois a reativação anterior à analisada geneticamente ocorreu na presença de mais de uma fêmea. No entanto, associando as observações às análises de segregação mendeliana foi possível inferir o parentesco existente entre essas fêmeas. A primeira reativação do ninho API3 aconteceu na presença de uma única fêmea, que não participou do segundo processo de reativação. Este processo se deu na presença de duas fêmeas irmãs, com a mais velha assumindo os comportamentos de FD e a mais nova de FS. Após a FS ter aprovisionado e operculado seis células, na presença da FD, ela trabalhou sozinha quando as últimas três células foram operculadas, pois a FD não se encontrava mais no interior do ninho. A terceira reativação do ninho aconteceu na presença de duas fêmeas,

uma delas emergiu de uma célula que foi operculada pela FS em um período que a FD ainda estava presente no ninho e a outra de uma célula operculada quando FS já estava sozinha. Sendo assim, se a fêmea FD realizou oofagia nos ovos da FS, como os resultados apresentados para os demais ninhos suportam, as fêmeas da terceira reativação eram primas. Como é possível observar na Tabela 5, em dois locos essas fêmeas não compartilharam nenhum alelo, o que exclui a possibilidade delas serem irmãs.

Tabela 4. Segregação dos alelos no ninho FFCL9, de *Euglossa cordata*, para 12 locos microssatélites (FD = fêmea dominante; FS = fêmea subordinada; C = célula; M = macho; F = fêmea).

| Indivíduos | Locos | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--------------------------|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|--------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|
| | ann03 | | ann04 | | ann08 | | Egc17 | | Egc35 | | Egc30a | | Egc26 | | Egc37 | | Egc18 | | ann24 | | Egc24 | | Egc51 | |
| FD | 143 | 145 | 128 | 130 | 147 | 157 | 228 | 231 | 167 | 170 | 143 | | 171 | 177 | 183 | 188 | 165 | 180 | 165 | 169 | 203 | 205 | 223 | 223 |
| FS1 | 143 | 145 | 124 | 130 | 147 | 153 | 211 | 228 | 161 | 167 | 143 | 146 | 174 | 177 | 183 | 188 | 177 | 180 | 160 | 169 | 205 | 205 | 223 | 223 |
| FS2 | 143 | 145 | 124 | 130 | 147 | 153 | 211 | 231 | 161 | 170 | 143 | 146 | 171 | 174 | 183 | 188 | 177 | 180 | 160 | 169 | 205 | 205 | 223 | 223 |
| C4-F² | 143 | 145 | 124 | 130 | 153 | 157 | 211 | 228 | 161 | 170 | 143 | 146 | 171 | 174 | 183 | 188 | 177 | 180 | 160 | 165 | 203 | 205 | 223 | 223 |
| C5-M¹ | | 143 | | 130 | | 147 | | 231 | | 167 | | 143 | | 177 | | 183 | | 180 | | 165 | | 205 | | 223 |
| C6-M¹ | | 145 | | 128 | | 157 | | 231 | | 167 | | 143 | | 171 | | 188 | | 165 | | 169 | | 205 | | 223 |
| C7-M¹ | | 145 | | 128 | | 157 | | 228 | | 167 | | 143 | | 177 | | 188 | | 165 | | 165 | | 203 | | 223 |
| C1-F¹ | 143 | 145 | 124 | 130 | 147 | 153 | 211 | 231 | 161 | 170 | 143 | 146 | 171 | 174 | 183 | 188 | 177 | 180 | 160 | 165 | 203 | 205 | 223 | 223 |
| C2-M¹ | | 143 | | 130 | | 147 | | 231 | | 167 | | 143 | | 177 | | 183 | | 180 | | 165 | | 205 | | 223 |
| C8-M¹ | | 143 | | 130 | | 157 | | 228 | | 167 | | 143 | | 177 | | 183 | | 165 | | 169 | | 203 | - | - |
| C9-M² | | 145 | | 128 | | 147 | | 231 | | 170 | | 143 | | 171 | | 188 | | 180 | | 165 | | 205 | | 223 |
| C3-F² | 143 | 145 | 126 | 130 | 145 | 147 | 223 | 228 | 161 | 167 | 143 | 146 | 171 | 177 | 183 | 186 | 165 | 180 | 160 | 169 | 203 | 205 | 223 | 227 |
| C10-M² | | 145 | | 124 | | 153 | | 211 | | 167 | | 146 | | 177 | | 188 | | 177 | | 160 | | 205 | | 223 |

¹células provisionadas e operculadas pela FS1; ²células provisionadas e operculadas pela FS2; ²células provisionadas e operculada pela FS2 após a morte da fêmea FD.

Tabela 5. Segregação dos alelos no ninho API3, de *Euglossa cordata*, para 12 locos microssatélites (FD = fêmea dominante; FS = fêmea subordinada; C = célula; M = macho; F = fêmea).

| Indivíduos | Locos | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--------------------------|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|--------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|
| | ann03 | | ann04 | | ann08 | | Egc17 | | Egc35 | | Egc30a | | Egc26 | | Egc37 | | Egc18 | | ann24 | | Egc24 | | Egc51 | |
| FD | 143 | 145 | 124 | 130 | 149 | 151 | 220 | 223 | 167 | 170 | 146 | 146 | 164 | 177 | 177 | 180 | 165 | 191 | 169 | 173 | 205 | 209 | 217 | 223 |
| FS | 145 | 145 | 124 | 124 | 143 | 151 | 211 | 217 | 167 | 167 | 143 | 146 | 164 | 171 | 177 | 183 | 165 | 180 | 163 | 167 | 205 | 211 | 217 | 223 |
| C9-F¹ | 145 | 145 | 124 | 132 | 149 | 155 | 223 | 223 | 167 | 170 | 143 | 146 | 171 | 177 | 177 | 180 | 174 | 191 | 169 | 173 | 202 | 205 | 217 | 223 |
| C10-M² | | 143 | | 124 | | 149 | | 220 | | 167 | | 146 | | 164 | | 180 | | 191 | | 173 | | 209 | | 217 |
| C15-M¹ | | 145 | | 130 | | 151 | | 223 | | 170 | | 146 | | 164 | | - | | 165 | | 169 | | 205 | | 217 |
| C16-F¹ | 145 | 145 | 130 | 132 | 149 | 155 | 223 | 223 | 167 | 167 | 143 | 146 | 171 | 177 | 180 | 180 | 174 | 191 | 173 | 173 | 202 | 205 | 223 | 223 |
| C17-M¹ | | 143 | | 124 | | 149 | | 220 | | 170 | | 146 | | 164 | | 180 | | 191 | | 173 | | 209 | | 217 |
| C18-F¹ | 145 | 145 | 130 | 132 | 151 | 155 | 223 | 223 | 167 | 170 | 143 | 146 | 164 | 171 | - | - | 165 | 174 | 173 | 173 | 202 | 209 | 223 | 223 |
| C12-F² | 143 | 145 | 124 | 132 | 149 | 155 | 220 | 223 | 167 | 170 | 143 | 146 | 164 | 171 | 177 | 180 | 174 | 191 | 169 | 173 | 202 | 209 | 217 | 223 |
| C13-M² | | 143 | | 124 | | 151 | | 220 | | 170 | | 146 | | 164 | | 180 | | 165 | | 173 | | 209 | | 217 |
| C14-M² | | 145 | | 130 | | 149 | | 220 | | 167 | | 146 | | 164 | | 177 | | 191 | | 173 | | 209 | | 223 |
| C19-F² | 145 | 145 | 130 | 132 | 149 | 155 | 220 | 223 | 167 | 167 | 143 | 146 | 164 | 171 | - | - | 174 | 191 | 173 | 173 | 202 | 209 | 217 | 223 |
| C20-M² | | 143 | | 124 | | 151 | | 220 | | 167 | | 146 | | 164 | | 180 | | 165 | | 173 | | 209 | | 223 |
| C21-M² | | 143 | | 124 | | 149 | | 220 | | 167 | | 146 | | 177 | | 180 | | 191 | | 169 | | 209 | | 217 |
| C22-M² | | 145 | | 130 | | 149 | | 220 | | 167 | | 146 | | 177 | | 177 | | 191 | | 173 | | 209 | | 223 |
| C23-F² | 143 | 145 | 130 | 132 | 149 | 155 | 220 | 223 | 167 | 170 | 143 | 146 | 164 | 171 | - | - | 174 | 191 | 169 | 173 | 202 | 209 | 223 | 223 |

¹células aprovisionadas e operculadas pela FD no período que ela estava sozinha no ninho; ²células aprovisionadas e operculadas pela FS na presença de FD.

Nos ninhos GEN3, GEN6 e FFCL7 nos quais apenas a fêmea FD foi coletada, a esta fêmea pode ser atribuída a maternidade de todos os indivíduos da prole. Todos os machos da prole compartilharam, nos diferentes locos analisados, seus alelos com a fêmea FD. Já as fêmeas da prole compartilharam, pelo menos, um alelo com a FD nos 12 locos analisados.

Uma vez que a associação entre as fêmeas do ninho GEN6 era entre mãe e filha, desconsiderou-se a hipótese de que as duas compartilhassem os mesmos alelos nos doze locos analisados. Já para o ninho GEN3, a probabilidade das fêmeas irmãs compartilharem os mesmos alelos maternos nos 12 locos foi estimada. Visto que a chance de duas irmãs serem iguais em composição alélica para um determinado loco é $1/2$ e foram analisados 12 locos, a probabilidade delas serem iguais é $1/2^{12}$ (0,00024), considerando-se alelos maternos idênticos por origem. Deste modo, devido ao número de locos analisados e a baixa probabilidade das fêmeas serem iguais em composição alélica, infere-se que se um ou mais indivíduos da prole não fossem filho da fêmea coletada (FD), isso teria sido observado nas análises de segregação mendeliana.

O tipo de associação entre as fêmeas do ninho FFCL7 não pode ser inferido, visto que aliado ao fato desta associação não ter sido determinada com base nas observações, a fêmea FS não foi coletada. No entanto, considerando todos os resultados apresentados até aqui, os quais demonstraram que as fêmeas FD realizaram oofagias em todos os ovos das fêmeas FS, supõe-se que a associação entre as fêmeas deste ninho foi do tipo sororal, já que a associação estabelecida anteriormente havia sido matrifilial e a mãe não participou da reativação analisada.

Para o ninho GEN1, os resultados permitem algumas inferências, visto que o histórico do ninho e o tipo de associação entre fêmeas eram desconhecidos. As análises de segregação mendeliana indicaram que apenas uma fêmea da prole era filha da fêmea FD coletada. Esta fêmea nasceu no mesmo dia que um macho da prole cuja maternidade não pode ser atribuída à FD, sendo que estes dois indivíduos foram os últimos a emergir no ninho. Os demais indivíduos não podem ser filhos de nenhuma das fêmeas coletadas. Os alelos observados nos machos, nos diferentes locos analisados (Tabela 6), permitiram inferir o genótipo de uma terceira fêmea reativadora, não capturada, que poderia ser a mãe dos cinco indivíduos da prole e, inclusive, das fêmeas reativadoras coletadas.

Tabela 6. Segregação dos alelos no ninho GEN1, de *Euglossa cordata*, para 12 locos microssatélites (FD-S = genótipos inferidos para uma suposta fêmea poedeira não coletada; FD = fêmea dominante; FS = fêmea subordinada; C = célula; M = macho; F = fêmea); ? = possível alelo da suposta fêmea poedeira não coletada, que não pode ser estabelecido definitivamente, pelo fato de não ter sido observado nos machos da prole.

| Indivíduos | Locos | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------------|-------|-----|-------|------|-------|-----|-------|-----|-------|-----|--------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|
| | ann03 | | ann04 | | ann08 | | Egc17 | | Egc35 | | Egc30a | | Egc26 | | Egc37 | | Egc18 | | ann24 | | Egc24 | | Egc51 | |
| FD-S | 145 | 145 | 124 | 126? | 151 | 149 | 239 | 231 | 167 | 167 | 143 | 146 | 177 | 180 | 174 | 192 | 165 | 188 | 167 | 169 | 205 | 207 | 226 | 226 |
| FD | 145 | 145 | 124 | 124 | 151 | 157 | 228 | 239 | 167 | 170 | 146 | 149 | 177 | 180 | 174 | 183 | 165 | 188 | 169 | 171 | 205 | 207 | 226 | 226 |
| FS | 145 | 145 | 124 | 126 | 149 | 157 | 228 | 239 | 167 | 170 | 146 | 149 | 177 | 180 | 183 | 192 | 165 | 165 | 169 | 171 | 205 | 207 | 226 | 226 |
| C1-F | 145 | 145 | 124 | 126 | 149 | 157 | 228 | 231 | 167 | 170 | 143 | 149 | 180 | 180 | 183 | 192 | 165 | 165 | 167 | 171 | 205 | 205 | 226 | 226 |
| C2-M | | 145 | | 124 | | 149 | | 239 | | 167 | | 146 | | 180 | | 174 | | 165 | | 167 | | 207 | | 226 |
| C3-M | | - | | 124 | | 149 | | - | | 167 | | 143 | | 180 | | 192 | | 165 | | 169 | | 205 | | 226 |
| C5-F¹ | 145 | 145 | 124 | 126 | 149 | 151 | 211 | 228 | 167 | 170 | 146 | 149 | 180 | 183 | 174 | 177 | 168 | 188 | 165 | 169 | 205 | 208 | 223 | 226 |
| C6-M | | 145 | | 124 | | 151 | | 231 | | 167 | | 143 | | 177 | | 174 | | 188 | | 169 | | 205 | | 226 |

¹este indivíduo não pode ter a maternidade atribuída a FD-S, mas a FD.

4 Discussão

Dentre as espécies de *Euglossa*, *E. cordata* é a mais extensivamente estudada no que diz respeito à estrutura social. É evidente que existe uma gama considerável de informações sobre o comportamento social de *E. cordata* (GARÓFALO, 1985; GARÓFALO et al., 1992; AUGUSTO; GARÓFALO, 2011). No entanto, embora muitos comportamentos exibidos no interior dos ninhos de *E. cordata* tenham sido descritos, a associação entre observações de comportamento e análises de parentesco permitem a este trabalho novas perspectivas e possibilidades para o estudo da estrutura social desta espécie.

Os processos de reativação de ninhos

As reativações do ninho por uma ou mais fêmeas das gerações sucessoras foram reportadas tanto para *E. cordata* como para outras espécies que tiveram o desenvolvimento de seus ninhos acompanhados, tais como *E. atrovirens* (RAMÍREZ-ARRIAGA et al., 1996), *E. townsendi* (AUGUSTO; GARÓFALO, 2004); *E. fimbriata* (AUGUSTO; GARÓFALO, 2009), *E. viridissima* (COCOM PECH et al., 2008) e *E. melanotricha* (ANDRADE-SILVA; NASCIMENTO, 2012). O compartilhamento dessa característica pela maioria das espécies estudadas indica que o processo de reativação dos ninhos por fêmeas da geração sucessora, na presença ou ausência da fêmea da geração anterior, faz parte do ciclo biológico dessas espécies.

Com relação aos comportamentos observados durante as associações entre fêmeas, eles estão de acordo com o que foi descrito até o momento para *E. cordata* (GARÓFALO, 1985; GARÓFALO, 1992; AUGUSTO; GARÓFALO, 2011). Nos processos de reativação, apenas uma fêmea assumiu uma postura dominante

no ninho. Esta fêmea passava a maior parte do tempo no interior do ninho, podendo realizar oofagia em células anteriormente operculadas pelas fêmeas subordinadas. Já as subordinadas realizavam atividades de campo, construindo ou reutilizando células, provisionando-as e nelas ovipositando. As reativações se deram na presença de uma única fêmea, de mãe e filhas, irmãs, primas ou fêmeas não aparentadas. Exceto durante a associação entre fêmeas não aparentadas, na qual não foi possível determinar a idade da fêmea de origem desconhecida, nas demais situações foi a fêmea mais velha quem assumiu a dominância. Do mesmo modo, os comportamentos agonísticos, disparados pela fêmea dominante em relação à subordinada, estão de acordo com o que foi descrito anteriormente (GARÓFALO, 1985; GARÓFALO, 1992; AUGUSTO; GARÓFALO, 2011).

Considerando-se a estrutura social já relatada para as demais espécies de *Euglossa* é possível perceber que os comportamentos de *E. cordata* são muito parecidos com os de *E. fimbriata* e *E. atroveneta* (RAMÍREZ-ARRIAGA et. al., 1996; AUGUSTO; GARÓFALO, 2009). Se uma quarta espécie tivesse que ser eleita de acordo com as semelhanças apresentadas com *E. cordata* esta seria *E. melanotricha*. Embora esta espécie apresente divergências do padrão encontrado em *E. cordata*, ela compartilha algumas características com esta espécie, como a presença de comportamentos agonísticos e a presença de uma única fêmea dominante no ninho (ANDRADE-SILVA; NASCIMENTO, 2012). Por outro lado, se *E. townsendi* e *E. truncata* forem consideradas, fica claro que o padrão de comportamentos é bem distinto de *E. cordata*. Nos ninhos de *E. townsendi* não ocorrem interações agonísticas; além disso, nos ninhos desta espécie pode haver mais de uma fêmea com comportamento de dominância. Outro ponto de divergência é a possibilidade de reversão de comportamentos de dominância para de

subordinação, isto é, fêmeas com comportamento de dominância podem passar a apresentar comportamentos de subordinação (AUGUSTO; GARÓFALO, 2004). Em *E. viridissima* não existem interações agonísticas com contato físico entre as fêmeas, mas há comportamentos intimidadores, disparados pela fêmea com comportamento de dominância (COCOM PECH et al., 2008). No entanto, comparar *E. viridissima* com as demais espécies tem a limitação dos estudos de comportamento se restringirem à associações matrilineais.

Quando os subgêneros do gênero *Euglossa* são considerados, é possível perceber que não há relação entre os subgêneros e a estrutura social apresentada pelas espécies. No subgênero *Euglossa* estão as espécies *E. (Euglossa) cordata*, *E. (Euglossa) fimbriata*, *E. (Euglossa) atroveneta* e *E. (Euglossa) melanostricha*, mas também se encontram *E. (Euglossa) townsendi*, *E. (Euglossa) viridissima* e *E. (Euglossa) truncata*. No subgênero *Euglossa* também está a espécie *E. (Euglossa) nigropilosa*, uma espécie comunal. Outras três espécies tidas como comunais estão classificadas no subgênero *Glossura*, *E. (Glossura) annectans* e *E. (Glossura) imperialis*, e, no subgênero *Glossurella*, *E. (Glossurella) hyacinthina* (SILVEIRA et al., 2002; HINOJOSA-DÍAZ, 2010).

Período de desenvolvimento e razão sexual

Com relação ao período de desenvolvimento dos imaturos, ele foi afetado pelas condições climáticas, verificando-se que o desenvolvimento foi mais longo durante a estação fria e seca, o que está de acordo com o reportado em outros estudos para *E. cordata* (GARÓFALO, 1985; AUGUSTO; GARÓFALO, 2011). No entanto, fica claro que, embora o período de desenvolvimento seja maior na

estação fria e seca, ele não é grande o suficiente para afetar a probabilidade da geração subsequente ser estabelecida na presença da fêmea da geração anterior.

A razão sexual encontrada na prole não foi significativamente diferente de um macho para uma fêmea, seja na população de ninhos estudada ou em cada ninho. No entanto, apesar da ausência de diferença estatística, o número de machos de dois ninhos amostrados foi praticamente o dobro do número de fêmeas e em outro ninho o número de fêmeas foi o triplo do número de machos. É importante ressaltar que o teste estatístico utilizado é sensível ao tamanho amostral, e, por este motivo, ele pode não estar apontando estas diferenças perceptíveis visualmente. Nesses ninhos a produção de machos e fêmeas de maneira enviesada não teve correlação com o tipo de associação entre as fêmeas e nem com estações específicas do ano. A teoria da razão sexual (HAMILTON, 1967) prediz que a produção da prole enviesada para fêmeas está associada a populações sociais com ninhos compostos por múltiplas fêmeas aparentadas. Além disso, a teoria prediz razão sexual enviesada para fêmeas em populações endogâmicas. Também é predito que em determinados períodos do ano, nessas populações sociais, a razão sexual seja enviesada para a produção de machos, períodos relacionados à produção de indivíduos reprodutivos. Soucy et al. (2003) discutem que a razão sexual de um macho para uma fêmea, encontrada em *E. hyacinthina*, seria compatível com a estrutura comunal encontrada nesta espécie, ao invés de uma estrutura social com divisão de trabalho reprodutivo. No entanto, os resultados encontrados no presente estudo não reforçam a hipótese de que a produção de machos e fêmeas em proporções equivalentes possa ser interpretada como um indicativo de organização do tipo comunal, onde não há divisão de trabalho

reprodutivo, uma vez que *E. cordata* não é uma espécie comunal e nesta espécie a razão sexual encontrada foi de um macho para uma fêmea.

A presença de inimigos naturais e as associações entre fêmeas nas reativações

Quando as taxas de parasitismo dos ninhos provenientes de fundações (apresentados no Capítulo I) são comparadas com às incidência dos inimigos naturais dos ninhos reativados, pode-se perceber que tanto as incidências como a diversidade de parasitoides ou cleptoparasitas encontrados são distintas. Nos processos de reativação foi verificado apenas tentativas de ataque pelo *H. nigrítula*, já nos ninhos em processo de fundação foram encontrados: *Coelioxys* sp., *Polistomorpha* sp., *A. masneri*, *A. oedípus*, além de *H. nigrítula* emergindo nos ninhos. Como discutido no Capítulo I, *H. nigrítula* tem uma estratégia de ataque bem diferente dos demais. A fêmea de *H. nigrítula* é agressiva com as fêmeas de *Euglossa*, expulsando-as do ninho, podendo inclusive matá-las. Os comportamentos descritos para *H. nigrítula* indicam que a presença de fêmeas no ninho não influencia no sucesso do parasitismo, pois a fêmea cleptoparasita não se intimida com a presença de fêmeas de *Euglossa*. Por outro lado, as fêmeas parasitoides de *Coelioxys* sp. e *Polistomorpha* sp. têm maiores chances de sucesso no parasitismo quando nenhuma fêmea de *Euglossa* está presente no ninho, pois as fêmeas parasitoides esperam oportunidades em que as fêmeas hospedeiras estão ausentes para entrar nos ninhos e parasitar as células (ROBERTS; DODSON, 1967; CANE, 1983; DANFORTH; VISSCHER, 1993; SCOTT et al., 2000; MICHENER, 2007). No caso de *A. masneri* esta discussão não poderia ser aprofundada, pela falta de informações sobre os comportamentos de parasitismo. Considerando-se o parasitoide *A. oedípus*, a discussão talvez não fosse pertinente, já que as fêmeas

deste parasitoide não entram nos ninhos para realizar o parasitismo, elas colocam seus ovos na entrada ou proximidade dos ninhos hospedeiros; as larvas, após eclodirem, procuram as células hospedeiras no interior dos ninhos (GERLING; HERMANN, 1976).

Considerando-se apenas os comportamentos de parasitismo descritos anteriormente seria esperado que nas reativações, onde frequentemente ocorrem associações de fêmeas, a incidência de parasitoides ou cleptoparasitas fosse menor. Uma menor taxa de parasitismo seria esperada pelo fato de que nas associações uma das fêmeas, a dominante, tem o comportamento de permanecer no ninho, o que intimidaria alguns parasitoides ou cleptoparasitas. No presente estudo, o fato de apenas o cleptoparasita *H. nigrifula* ter sido verificado tentando invadir os ninhos oriundos de processos de reativação sugere que a presença de uma fêmea constantemente no ninho pode reduzir os ataques dos inimigos naturais. De modo semelhante, Soucy et al. (2003) e Otero et al. (2008) relatam uma maior taxa de parasitismo em ninhos sem fêmeas, para as espécies *E. hyacinthina* e *E. nigropilosa*, respectivamente.

A estrutura sociogenética

As análises de segregação mendeliana da prole produzida pelas fêmeas dominantes (FP) indicam que elas se acasalaram com um único macho. Deste modo, os resultados obtidos neste estudo reforçam a monandria das fêmeas na tribo Euglossini, corroborando estudos realizados anteriormente (SOUZA, 2007; ZIMMERMANN et al., 2009; OI, 2010). Este sistema de acasalamento tem sido usualmente reportado para os himenópteros em geral (HUGLES et al., 2008; STRASSMAN, 2001), inclusive, para as abelhas corbiculadas, com exceção dos

Apini (HUGLES et al., 2008). Ao que tudo indica, a monandria é uma característica ancestral dentro do grupo das abelhas corbiculadas (HUGHES et al., 2008). Sistemas de acasalamento único promovem relações genéticas mais próximas entre a prole e podem, assim, promover tolerância entre as irmãs que compartilham o ninho, favorecendo a seleção de parentesco (OTERO et al., 2008).

A monandria das fêmeas das abelhas euglossíneas tem sido associada a um comportamento característico dos machos desta tribo – a coleta de compostos aromáticos em muitas famílias de angiospermas, particularmente a família Orchidaceae, de onde vem a designação de “abelhas das orquídeas” (ZIMMERMANN et al., 2009). Até o momento, não se sabe ao certo porque os machos apresentam este comportamento. Provavelmente, a coleta de fragrâncias tem relação com a atração de fêmeas para o acasalamento. Uma das hipóteses é que os machos transformariam as fragrâncias coletadas em feromônios sexuais para a atração das fêmeas (DRESSLER 1982; WILLIAMS; WHITTEN 1983); outra hipótese é que eles usariam estes compostos para atrair outros machos formando “leks”, para os quais as fêmeas seriam atraídas (DODSON et al., 1969; PERUQUETTI, 2000). Uma proposição alternativa estabelece que a maior capacidade dos machos em coletar compostos aromáticos é um sinal honesto de sua qualidade genética para permitir a escolha pelas fêmeas, razão para a monandria das fêmeas (ZIMMERMANN et al., 2009).

O desvio reprodutivo

Os resultados obtidos neste estudo estão de acordo com estudos preliminares (GARÓFALO, 1985; GARÓFALO, 1992; AUGUSTO; GARÓFALO, 2011) e reforçam a hipótese de que o desvio reprodutivo em *E. cordata* é completo.

Além disso, as análises indicam ausência de correlação entre o parentesco genético e o desvio reprodutivo. O desvio reprodutivo se mostrou completo em diferentes tipos de associações entre as fêmeas reativadoras. Se considerarmos as predições dos modelos da concessão e da restrição, com relação ao parentesco genético e o desvio reprodutivo (REEVE; KELLER, 2001; JOHNSTONE; CANT, 1999a), fica claro que as predições destes modelos são inconsistentes com os resultados encontrados neste estudo, pois o modelo da concessão prevê correlação positiva entre parentesco genético e desvio reprodutivo e o modelo da restrição prevê correlação negativa (REEVE; KELLER, 2001; JOHNSTONE; CANT, 1999a). Por outro lado, os modelos de compromisso preveem ausência de correlação ou correlação negativa entre o parentesco genético e o desvio reprodutivo (REEVE; KELLER, 2001; CANT, 1998; REEVE et al., 1998; JOHNSTONE; CANT, 1999b). A ausência de correlação entre parentesco genético e desvio reprodutivo, observada no presente estudo, estaria de acordo com a predição dos modelos de compromisso. No entanto, estes modelos apresentam outras predições não consistentes com os resultados encontrados. Os modelos de compromisso assumem ausência de hierarquia entre dominantes e subordinados (REEVE et al., 1998), o que não se adequa ao encontrado em *E. cordata*. Neste caso, as predições dos modelos da concessão e restrição se encaixam melhor, pois estes modelos predizem a presença de uma hierarquia entre dominantes e subordinados (REEVE; KELLER, 2001; CANT, 1998; REEVE et al., 1998; JOHNSTONE; CANT, 1999b).

Outro modelo do desvio reprodutivo que prediz ausência de correlação entre o parentesco genético e o desvio reprodutivo é uma extensão dos modelos da concessão conhecido com o jogo da licitação (REEVE; KELLER, 2001). No entanto, este modelo prediz um alto número de associações entre fêmeas não aparentadas

(REEVE; KELLER, 2001), o que está em desacordo com o que foi encontrado, visto que as associações entre fêmeas não aparentadas são muito raras.

De acordo com Augusto e Garófalo (2011) o modelo da concessão seria o mais adequado para explicar o padrão encontrado em *E. cordata*. No entanto, os dados encontrados neste estudo não reforçam esta hipótese. Certamente, em *E. cordata* existe uma preferência por associações entre fêmeas aparentadas, mas as taxas de desvio reprodutivo não parecem ser condicionadas pelo parentesco entre as fêmeas reativadoras. De acordo com Cocom Pech et al. (2008), o parentesco genético pode ter sido importante para a evolução do comportamento social em um primeiro momento; no entanto, em um segundo estágio, fatores coercitivos poderiam surgir, reforçando a cooperação entre fêmeas de *Euglossa*. Deste modo, conforme predito pela seleção de parentesco, o parentesco entre os membros do grupo seria importante, ainda que em um primeiro estágio, para a evolução do comportamento social.

Quando os comportamentos descritos para as demais espécies de *Euglossa* que apresentam algum grau de divisão de trabalho reprodutivo são considerados, uma característica compartilhada por todas as espécies é evidente: nas relações entre mães e filhas, as mães são sempre as fêmeas dominantes. Se o parentesco genético é característica favorável para o surgimento da divisão de trabalho reprodutivo, isto parece ser coerente com esta característica compartilhada. Nestas situações, dada a monandria das fêmeas, a mãe estaria produzindo irmãos ($r=0,75$) e irmãs ($r=0,25$) das fêmeas subordinadas e o fitness inclusivo das subordinadas seria alto.

Nas associações matrifiliais em *E. viridissima* a mãe parece garantir a maternidade de todos os indivíduos da prole quando se associa a apenas uma filha.

No entanto, na presença de duas filhas, a mãe parece não produzir um desvio reprodutivo completo (COCOM PECH et al., 2008). A presença de agressão em *E. cordata* e sua ausência em *E. viridissima* pode apontar para o surgimento da agressão como um mecanismo de coerção em *E. cordata* que garante à fêmea dominante um desvio reprodutivo completo, mesmo em associações com mais de uma filha. Após o surgimento de um componente de coerção, a estrutura social pode se tornar um pouco mais fixa, e um desvio reprodutivo completo passa a ocorrer, mesmo quando o parentesco genético se dilui. Isto não quer dizer que o parentesco genético não possa ter sido importante para o surgimento da divisão de trabalho, antes do surgimento de fatores coercitivos. Com relação à agressão, os modelos do desvio reprodutivo consideram que o parentesco elevado entre os membros do grupo seria uma condição propícia para o surgimento deste comportamento nos modelos transacionais, da concessão e da restrição. De acordo com as previsões, quando a agressão surge é predito um aumento na taxa de desvio reprodutivo (REEVE; KELLER, 2001). De acordo com estas previsões, em *E. cordata* existiriam condições propícias para o surgimento de agressão, dada a alta frequência de associações entre fêmeas com elevado parentesco, que seriam as associações matrifiliais e sororais. Também, de acordo com essas previsões, o desvio reprodutivo completo, observado em *E. cordata*, poderia ter relação com a agressão nos ninhos.

Além da alta frequência das associações entre parentes, outro ponto que não deve ser ignorado é o fato das colônias de *Euglossa* possuírem um ciclo em que o parentesco genético está sempre se restabelecendo. Sempre que o parentesco genético se dilui, ele pode ser restabelecido, a cada reativação realizada por uma única fêmea. Esta característica pode tornar os eventos, onde o parentesco

se dilui, pouco importantes. Se o ciclo das colônias for considerado como um todo, as associações entre fêmeas com baixo grau de parentesco seriam minoria, enquanto que as associações onde elas possuem um alto grau de parentesco e, portanto, situações relacionadas a um alto fitness inclusivo para as fêmeas subordinadas, seriam maioria.

Conforme apresentado, a ausência de correlação entre o desvio reprodutivo e o parentesco entre as fêmeas reativadoras e outras características da estrutura social de *E. cordata*, tais como a presença de uma hierarquia bem definida entre as fêmeas reativadoras e a baixa frequência com que as associações entre fêmeas não aparentadas ocorre, impossibilita que as predições de um único modelo do desvio reprodutivo explique a estrutura encontrada em *E. cordata*. Nesta espécie, podem ser encontradas tanto predições descritas para os modelos transacionais, como para os modelos de compromisso.

A alta frequência com que as associações entre fêmeas aparentadas ocorre, comparada com a rara frequência das associações entre fêmeas não aparentadas, encontradas no presente estudo e reportadas em estudos anteriores (AUGUSTO; GARÓFALO, 2011), indica preferência por associações entre parentes. No entanto, a ausência de correlação entre o desvio reprodutivo e parentesco genético pode indicar a presença de componentes coercitivos, como a agressão, que garantem a dominância reprodutiva de uma das fêmeas, mesmo nas situações que o parentesco se dilui ou é inexistente. À medida que a correlação entre desvio reprodutivo e parentesco seja investigada para mais espécies de *Euglossa*, será possível discutir com mais consistência tanto a estrutura social de *E. cordata*, como a evolução do desvio reprodutivo no gênero *Euglossa*. No entanto, os resultados encontrados neste estudo apontam para um possível caminho. Em *E. cordata*, o

parentesco genético pode ter sido importante em um primeiro estágio, favorecendo a tolerância e a cooperação entre as fêmeas. Mas, em um segundo estágio, pode ter ocorrido o surgimento de fatores coercitivos para garantir a divisão de trabalho reprodutivo. Além disso, este estudo reforça a ideia de que os marcadores moleculares podem ser grandes aliados nos estudos de comportamento, fornecendo novas possibilidades e perspectivas para o estudo do comportamento social em espécies de *Euglossa*.

CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

Este estudo contribui com informações relevantes para um melhor conhecimento da biologia de nidificação no gênero *Euglossa*, principalmente no que diz respeito aos inimigos naturais, pois algumas informações apresentadas aqui não haviam sido relatadas. O trabalho também inova ao associar observações diretas de comportamento a análises de parentesco, realizadas mediante o uso de marcadores moleculares, no estudo do comportamento social em *Euglossa* e na tribo Euglossini. Ao abordar o problema do desvio reprodutivo em *E. cordata*, fazendo o uso de duas metodologias combinadas, este trabalho confirma a existência de desvio reprodutivo completo nesta espécie, cuja suspeita havia sido reportada em estudos prévios. Esta constatação permitiu que as predições da teoria de seleção de parentesco e dos modelos do desvio reprodutivo pudessem ser exploradas de maneira mais ampla. Deste modo, ao analisar o padrão existente em *E. cordata* à luz dessas predições e realizando comparações com outras espécies do gênero, foi possível levantar hipóteses sobre o surgimento do padrão encontrado nessa espécie. Estas hipóteses apontam para um caminho até então pouco explorado em suas potencialidades, os comportamentos agonísticos.

Explorar as interações agonísticas quantitativamente e qualitativamente, nos diferentes tipos de associações entre fêmeas, pode fornecer indícios sobre situações e associações mais favoráveis para o surgimento da agressão. Neste sentido, será necessário estudar espécies com desvio reprodutivo completo e espécies onde a fêmea subordinada tem participação na produção da prole. Além disso, será fundamental estimar desvio reprodutivo em espécies nas quais não há interações agonísticas para investigar se estas interações podem ser

consideradas coercitivas, garantindo um desvio reprodutivo maior às fêmeas dominantes.

Tratando-se de interações agressivas, experimentos futuros devem ser muito bem delineados. Talvez o puro e simples número de interações agonísticas não seja uma boa medida de agressividade. Embora este estudo não tenha estimado interações agressivas quantitativamente, foi possível perceber que, independentemente do tipo de associação, a fêmea dominante se torna mais agressiva conforme o número de células construídas aumenta e conforme ela vai ficando mais velha. Para que as estimativas quantitativas de agressão reflitam de fato o tipo de associação entre as fêmeas e não sejam enviesadas pelo estado de desenvolvimento do ninho, será muito importante quantificar as agressões em ninhos que tenham estados de desenvolvimento semelhantes (número de células semelhantes) e que além disso, as fêmeas dominantes não tenham uma diferença muito grande de idade. No entanto, dada a dificuldade de encontrar ninhos de *Euglossa* na natureza e dificuldades de mantê-los em laboratório, um delineamento experimental deste tipo será pouco viável. Contudo, uma alternativa será quantificar o número de interações agressivas apenas em momentos específicos que parecem ser menos influenciados pelo estágio de desenvolvimento dos ninhos e idade das fêmeas, o momento da construção do colar, que parece ser menos susceptível a estas variáveis.

De acordo com o que foi apresentado, este estudo reforça o uso de marcadores moleculares associados às observações diretas de comportamento em *Euglossa*, os quais podem ampliar as perspectivas das investigações sobre a estrutura social de diferentes espécies do gênero. Por fim, este estudo sugere um

esforço em investigações mais detalhadas sobre interações agonísticas para uma melhor compreensão da evolução da divisão de trabalho reprodutivo em *Euglossa*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMENT, D. C.; FREIRIA, G. A.; ROCHA-FILHO, L. C.; DEL LAMA, M. A.; GARÓFALO, C. A. A scientific note on the first records of *Melaloncha* Brues, 1904 (Diptera: Phoridae) parasitizing Euglossini and Centridini bees. **Apidologie**, v. 45, n. 2, p. 266-268, 2014.
- ANDRADE-SILVA, A.; NASCIMENTO, F. Multifemale nests and social behavior in *Euglossa melanotricha* (Hymenoptera, Apidae, Euglossini). **Journal of Hymenoptera Research**, v. 26, p. 1 – 16, 2012.
- AUGUSTO, S. C.; GARÓFALO, C. A. Behavioral aspects of *Hoplostelis bilineolata* (Spinola) (Hymenoptera, Megachilidae), a cleptoparasite of *Euglossa cordata* (Linnaeus) (Hymenoptera, Apidae), and behavior of the host in parasitized nests. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 41, p. 507-515, 1998.
- AUGUSTO, S. C.; GARÓFALO, C. A. Nesting biology and social structure of *Euglossa (Euglossa) townsendi* Cockerell (Hymenoptera, Apidae, Euglossini). **Insectes Sociaux**, v.51, p. 400- 409, 2004.
- AUGUSTO, S. C.; GARÓFALO, C. A. Bionomics and sociological aspects of *Euglossa fimbriata* (Apidae, Euglossini). **Genetics and Molecular Research**, v. 8, n. 2, p. 525–538, 2009.
- AUGUSTO, S. C.; GARÓFALO, C. A. Nidificação de *Euglossa (Euglossa) melanotricha* Moure (Hymenoptera: Apidae) no Solo do Cerrado. **Neotropical Entomology**, v.36, p. 153-156, 2007.
- AUGUSTO, S. C.; GARÓFALO, C. A. Task allocation and interactions among females in *Euglossa carolina* nests (Hymenoptera, Apidae, Euglossini). **Apidologie**, v. 42, n. 2, p. 162–173, 2011.
- BOFF, S; FORFERT, N.; PAXTON, R. J.; MONTEJO, E.; QUEZADA-EUAN, J. J. G. A behavioral guard caste in a primitive eusocial orchid bee, *Euglossa viridissima*, helps defend the nest against resin theft by conspecifics. **Insectes Souciaux**, v. 62, p. 247-249, 2015.
- BRAGA, A. K.; GARÓFALO, C. A. Aspectos da estrutura social de *Euglossa truncata* (Hymenoptera, Apidae, Euglossini). In: III ENCONTRO SOBRE ABELHAS, v. 3, 1998, Ribeirão Preto. **Anais do III Encontro Sobre Abelhas**. Ribeirão Preto: 1998. p. 253.
- BROWN, B. V. Revision of the untreated taxa of *Melaloncha* s.s. bee-killing flies (Diptera: Phoridae). **Zootaxa**, v. 1280, p.1-68, 2006.
- BROWN, B. V. Three new species of parasitoid Phoridae (Diptera) from the Neotropical Region. **Sociobiology**, v. 54, n.3, p.715-722, 2009.

CAMERON, S. A.; RAMÍREZ, S. Nest architecture and nesting ecology of the orchid bee *Eulaema meriana* (Hymenoptera: Apinae: Euglossini). **Journal of the Kansas Entomological Society**, v. 74, p. 142–165, 2001.

CAMERON, S. A. Phylogeny and biology of Neotropical orchid bees (Euglossini). **Annual Review of Entomology**, v.49, p.377-404, 2004.

CANE, J. H. Olfactory evaluation of *Andrena* host nest suitability by kleptoparasitic *Nomada* bees (Hymenoptera: Apoidea), **Animal Behaviour**. v. 31, p. 138-144, 1983.

CANT, M. A. A model for the evolution of reproductive skew without reproductive suppression. **Animal Behavior**, v. 55, p.163-169, 1998.

CAPALDI, E. A.; FLYNN, C. J.; WCISLO, W. T. Sex ratio and nest observation of *E. hyacinthina* (Hymenoptera: Apidae: Euglossini). **Journal of the Kansas Entomological Society**, v. 40, n. 4, p. 395-399, 2007.

CARDINAL, S.; DANFORTH, B. N. The Antiquity and Evolutionary History of Social Behaviour in Bees. **PLoS ONE**, v. 6, n. 6, p. e21086.

COCOM PECH, M. E.; MAY-ITZÁ, W. D. J.; MEDINA MEDINA, L. A.; QUEZADA-EUÁN, J. J. G. Sociality in *Euglossa* (*Euglossa*) *viridissima* Friese (Hymenoptera, Apidae, Euglossini). **Insectes Sociaux**, v. 55, n. 4, p. 428–433, 2008.

DANFORTH, B. N.; VISSCHER, P. K. Dynamics of a host - cleptoparasite relationship: *Holcopasites ruthae* as a parasite of *Calliopsis pugionis* (Hymenoptera: Anthophoridae), **Annals of the Entomological Society of America**, v. 86, p. 833-840, 1993.

DANFORTH, B. N.; CARDINAL, S.; PRAZ, C.; ALMEIDA, E.A.B.; MICHEZ, D. The impact of molecular data on our understanding of bee phylogeny and evolution. **Annual Review of Entomology**, v. 58, p. 57-78, 2011.

DODSON, C. H. Ethology of some bees of the tribe Euglossini (Hymenoptera: Apidae). **Journal of the Kansas Entomological Society**, v. 39, p.607-629, 1966.

DODSON, C. H.; DRESSLER, R. L.; HILLS, H. G.; ADAMS, R. M.; WILLIAMS, N. H. Biologically active compounds in orchid fragrances. **Science**, v.164, p.1243-1249, 1969.

DRESSLER, R. L. Biology of orchid bees (Euglossini). **Annual Review of Ecology and Systematics**, v.13, p.373-394, 1982.

EBERHARD, W. G. Group nesting in two species of *Euglossa* bees (Hymenoptera: Apidae). **Journal of the Kansas Entomological Society**, v. 61, p. 406-411, 1988.

FREEMAN, S.; HERRON, J. C. **Análise Evolutiva**. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 848 p.

GARÓFALO, C. A. Social structure of *Euglossa cordata* nests (Hymenoptera: Apidae: Euglossini). **Entomologia Generalis**, v.11, p.77-83, 1985.

GARÓFALO, G. A. Comportamento de nidificação e estrutura de ninhos de *Euglossa cordata* (Hymenoptera: Apidae: Euglossini). **Revista Brasileira de Biologia**, v. 52, n. 1, p. 187-198, 1992.

GARÓFALO, C. A.; CAMILLO E.; SERRANO, J. C.; RÊBELO, J. M. M. Utilization of trap nests by Euglossini species (Hymenoptera: Apidae). **Revista Brasileira de Biologia**, v. 53, p. 177-187, 1993.

GARÓFALO, C. A. Biologia de Nidificação dos Euglossinae (Hymenoptera, Apidae). In: In: I ENCONTRO SOBRE ABELHAS, n. 1, 1994, Ribeirão Preto. **Anais do I Encontro Sobre Abelhas**. Ribeirão Preto: 1994. p. 17-26.

GARÓFALO, C. A.; CAMILLO, E.; AUGUSTO, S. C.; JESUS, B. M. V.; SERRANO, J. C. Nest structure and communal nesting in *Euglossa (Glossura) annectans* Dressler (Hymenoptera: Apidae: Euglossini). **Revista Brasileira de Zoologia**, v.15, p. 589-596, 1998.

GARÓFALO, C. A.; ROZEN, J. G. Parasitic behaviour of *Exaerete smaragdina* with descriptions of its mature oocyte and larval instars (Hymenoptera: Apidae: Euglossini). **American Museum Novitates**, v. 3349, p. 1-26, 2001.

GARÓFALO, C. A. Comportamento social nos Euglossini (Hymenoptera, Apidae). In: VII ENCONTRO SOBRE ABELHAS, n. 7, 2006, Ribeirão Preto. **Anais do VII Encontro Sobre Abelhas**. Ribeirão Preto: 2006. p. 24-27.

GATES, M. A new species of *Axymopsis sensu lato* Ashmead (Hymenoptera, Chalcidoidea, Eurytomidae) parasitic on *Euglossa spp.* (Hymenoptera, Apidae). **ZooKeys**, v. 20, p. 165-174, 2009.

GERLING, D.; HERMANN, H. The oviposition and life cycle of *Anthrax tigrinus* (Diptera: Bombyliidae) a parasite of carpenter bees (Hymenoptera: Xylocopidae). **Entomophaga**, v. 21, p. 227-233, 1976.

HAMILTON, W. D. The Genetical Evolution of Social Behaviour. **Journal of Theoretical Biology**, v. 7, p. 17-52, 1964.

HAMILTON, W. D. Extraordinary Sex Ratios. **Science**, v. 159, p. 477-488, 1967.

HINOJOSA-DÍAZ, I. A. **Comparative Genital Morphology, Phylogeny, and Classification of the Orchid Bee Genus *Euglossa* Latreille (Hymenoptera: Apidae), with Distributional Modeling of Adventive Euglossines**. 2010. 211f. Tese (Doutorado em "Ecology and Evolutionary Biology"). University of the Kansas, Kansas, 2010.

HUGHES, W. H. O; Oldroyd, B. P.; Beekman, M.; Ratnieks, F. L. W. Ancestral monogamy shows kin selection is key to evolution of eusociality. **Science**, v. 320, p. 1213-1216, 2008.

JANVIER, H. Le nid et la nidification chez quelques abeilles des Andes tropicales. **Annales des Sciences Naturelles, Zoologie Series**, v. 17, n. 11. p. 311-349. 1955.

JOHNSTONE, R. A.; CANT, M. A. Reproductive skew and the threat of eviction: a new perspective. **Proceedings of the Royal Society of London, Series B**, v. 266, p. 275–279, 1999a.

JOHNSTONE, R. A.; CANT, M. A. Reproductive skew and indiscriminate infanticide. **Animal Behaviour**, v. 57, p. 243–249, 1999b.

JOHNSTONE, R. A.; CANT, M. A. Modes of reproductive skew: outside options and the resolutions of reproductive conflict. In: HAGER, R.; JONES, C.B. **Reproductive Skew in Vertebrates: Proximate and Ultimate Causes**. London: Cambridge University Press, 2009. p. 3-23.

KELLER, L.; CHAPUISAT, M. Cooperation among selfish Individuals in insect societies. **BioScience**, v.49, n. 11, p. 899-909, 1999.

LIAO, X.; RONG, S.; QUELLER, D. C. Relatedness , conflict , and the evolution of eusociality. **PLoS Biology**, v. 13, n. 2, p. 1–14, 2015.

MENEZES JUNIOR, A. O. **Estudo taxonômico das espécies brasileiras de Leucospidae (Hymenoptera:Chalcidoidea)**. 1992. 177f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas, Entomologia). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1992.

MICHENER, C. D. **The Bees of the World**. 2 ed. Baltimore: The Johns Hopkins University Press, 2007. 953 p.

NEMÉSIO, N.; SILVEIRA, F. A. Orchid bee fauna (Hymenoptera: Apidae: Euglossina) of Atlantic Forest fragments inside an urban area in Southeastern Brazil. **Neotropical Entomology**, v.36, p.186-191, 2007.

NEMÉSIO, A.; RASMUSSEN, C. Nomenclatural issues in the orchid bees (Hymenoptera: Apidae: Euglossini) and update catalogue. **Zootaxa**, n. 3006, p. 1-42, 2011.

O'TOOLE, C.; RAW, A. **Bees of the world**. London: Facts On File Inc., 2004.192p.

OI, C. A. **Estrutura Sociogenética de ninhos de Euglossini (Hymenoptera: Apidae) e estrutura genética das populações urbanas de *Euglossa cordata* do Estado de São Paulo**. 2010. 115f. Dissertação (Mestrado em Genética e Evolução). Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2010.

OTERO, J. T.; ULLOA-CHACÓN, P.; SILVERSTONE-SOPKIN, P.; GIRAY, T. Group nesting and individual variation in behavior and physiology in the orchid bee *Euglossa nigropilosa* Moure (Hymenoptera, Apidae). **Insectes Sociaux**, v. 55, n. 3, p. 320–328, 2008.

PAXTON, R. J.; ZOBEL, M. U.; STEINER, J.; ZILLIKENS, A. Microsatellite loci for *Euglossa annectans* (Hymenoptera: Apidae) and their variability in other orchid bees. **Permanent Genetic Resources note**, p. 1221–1223, 2009.

PEARSON, D. L.; DRESSLER, R. L. Two-year study of male orchid bee (Hymenoptera: Apidae: Euglossini) attraction to chemical baits in lowland south-eastern Peru. **Journal of Tropical Ecology**, v. 1, p. 37-54, 1985.

PEMBERTON, R. W.; WHEELER, G. S. Orchid bees don't need orchids: evidence from the naturalization of an orchid bee in Florida. **Ecology**, v.87, p.1995-2001, 2006.

PERUQUETTI, R. C. Functional of fragrances collected by Euglossini males (Hymenoptera: Apidae). **Entomologia Generalis**, v. 25, p. 33-37, 2000.

QUELLER, D. C.; STRASSMAN, J. E. Kin selection and social insects. **BioScience**, v.48, p. 165-175, 1998.

RAMÍREZ, W. *Bombus mexicanus* Cresson, un hospedante de *Melaloncha*, moscas parásitas de la abeja de miel en el nuevomundo. **Revista de Biología Tropical**, v. 30, p. 177, 1982.

RAMÍREZ, S.; DRESSLER, R. L.; OSPINA, M. Abejas Euglossinas (Hymenoptera: Apidae) de la Region Neotropical; Listado de especies com nota sobre su biología. **Biota Colombiana**, v.3, p.7-118, 2002.

RAMÍREZ, S.; ROUBIK, D.W.; SKOV, C.; PIERCE, N. E. Phylogeny, diversification patterns and historical biogeography of euglossine orchid bees (Hymenoptera: Apidae). **Biological Journal of the Linnean Society**, v.100, p.552-572, 2010.

RAMÍREZ-ARRIAGA E.; CUADRIELLO-AGUILAR J. I.; HERNÁNDEZ E. M. Nest structure and parasite of *Euglossa atroveneta* Dressler (Apidae: Bombinae: Euglossini) at Unión Juárez, Chiapas, México, **Journal of the Kansas Entomological Society**, v. 69, p.144–152, 1996.

REEVE, H. K.; KELLER, L. Tests of reproductive skew models in social insects. **Annual Review of Entomology**, v.46. p.347-385, 2001.

REEVE, H. K.; EMLÉN, S. T.; KELLER, L. Reproductive sharing in animal societies: reproductive incentives or incomplete control by dominant breeders? **Behavioral Ecology**, v. 9, p. 267–278, 1998.

RIVEROS, A. J.; HERNÁNDEZ, E. J., WCISLO, W. T. Nesting biology of *Euglossa dodsoni* Moure (Hymenoptera: Euglossinae) in Panama. **Journal of the Kansas Entomological Society**, v. 82, n. 2, p. 210-214, 2009.

ROBERTS R. B.; DODSON C. H. Nesting biology of two communal bees, *Euglossa imperialis* e *Euglossa ignita* (Hymenoptera: Apidae) including description of larvae, **Annals of the Entomological Society of America**, v. 60, p. 1007–1014, 1967.

ROUBIK, D. W.; HANSON, P. H. **Abejas de orquídeas de la América tropical. Biología y guía de campo (Orchid bees of Tropical América) Biology and field guide.** Costa Rica: Heredia, INBio Press, 2004. 370 p.

SCOTT, V. L.; KELLEY, S. T.; STRICKLER, K. Reproductive biology of two *Coelioxys* cleptoparasites in relation to their Megachile hosts (Hymenoptera: Megachilidae). **Annals of Entomological Society of America**, v. 93, p. 941–948, 2000.

SILVEIRA, F. A.; MELO, G. A.; ALMEIDA, E. A. B. **Abelhas Brasileiras – sistemática e identificação.** Belo Horizonte: MMA e Fundação Araucária, 2002. 253p.

SKOV, C.; WILEY, J. Establishment of the Neotropical orchid bee *Euglossa viridissima* (Hymenoptera: Apidae) in Florida. **Florida Entomologist**, v.88, p.225-227, 2005.

SOUCY, S. L.; GIRAY, T.; ROUBIK, D. W. Solitary and group nesting in orchid bee *Euglossa hyacinthina* (Hymenoptera, Apidae). **Insectes Sociaux**, v.50, p. 248-255, 2003.

SOUZA R. O.; CERVINI, M.; DEL LAMA, M. A.; PAXTON, R. J. Microsatellite loci for euglossine bees (Hymenoptera, Apidae). **Molecular Ecology Notes**, v. 7, p.1-5, 2007.

SOUZA, R. O. **Estrutura genética e sociogenética das populações e ninhos de Euglossini (Hymenoptera: Apidae) determinadas por meio de marcadores microsatélites.** 2007. 78f. Tese (Doutorado em Genética e Evolução). Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2007.

STRASSMANN, J. E. The rarity of multiple mating by females in the social Hymenoptera. **Insectes Sociaux**, v. 48, p. 1-13, 2001.

STRASSMANN, J. E.; PAGE, R. E.; ROBINSON, G. E.; SEELEY, T. D. Kin selection and eusociality. **Nature**, v.471, p. E5-E6, 2011.

VÁZQUES, A. A.; AGUILAR, J. I. C. Um nido de *Euglossa viridissima* Friese 1899 (Hymenoptera: Apidae: Euglossini). In: XXV Congresso Nacional de Entomologia, 1990, Oaxaca, Mexico. **Anais do XXV Congresso Nacional de Entomologia.** Oaxaca: 1990. p.117-118.

VINSON, S. B.; FRANKIE, G.; RAO, A. Field behavior of parasitic *Coelioxys chichimeca* (Hymenoptera: Megachilidae) towards the host bee *Centris bicornuta* (Hymenoptera: Apidae). **Apidologie**. v. 42, p. 117-127, 2011.

WALSH, P. S.; METZGER, D. A.; HIGUCHI, R. Chelex® 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. **BioTechniques**, v.10, p.506-513, 1991.

WCISLO, W. T.; ARNESON, L.; ROESCH, K.; GONZALEZ, V.; SMITH, A., FERNÁNDEZ, H. The evolution of nocturnal behavior in sweat bees, *Megalopta genalis* and *M. ecuadoria* (Hymenoptera: Halictidae): an escape from competitors and enemies? **Biological Journal of Linnean Society**, v. 83, p. 377-387, 2004.

WERNECK, H. A.; CAMPOS, L. A. O. Aspectos da Biologia de *Aximopsis masneri* Gates, 2009 (Hymenoptera, Chalcidoidea, Eurytomidae) um parasitoide de *Euglossa* spp. (Hymenoptera, Apidae, Euglossini). In: II SIMPÓSIO DE ENTOMOLOGIA, 2010, Viçosa. **Anais do II Simpósio de Entomologia**. Viçosa: 2010. p.58.

WILLIAMS, N. H.; WHITTEN, W. M. Orchid floral fragrances and male euglossine bees: methods and advances in the last sesquidecade. **Biological Bulletin**, v. 164, p. 355-395, 1983.

YOUNG, A. M. Notes on the nests structure and emergence of *Euglossa turbiniflex* Dressler (Hymenoptera: Apidae: Euglossini) in Costa Rica. **Journal of the Kansas Entomological Society**, v. 58, p. 538-543, 1985.

ZUCCHI, R.; SAKAGAMI, S. F.; CAMARGO, J. M. F. Biological observation on a tropical parasocial bee, *Eulaema nigrita* with a review on the biology of Euglossinae (Hymenoptera, Apidae). A comparative study. **Journal of the Faculty of Science Hokkaido University**, Series IV, v. 17, p. 271-380, 1969.

ZIMMERMANN, Y.; ROUBIK, D. W.; QUEZADA-EUAN, J. J. G.; PAXTON, R. J.; ELTZ, T. Single mating in orchid bees (*Euglossa*, Apinae): implications for mate choice and social evolution. **Insectes Sociaux**, v. 56, p. 241-249, 2009.

ANEXO

Apidologie (2014) 45:266–268
 * INRA, DIB and Springer-Verlag France, 2013
 DOI: 10.1007/s13592-013-0246-1

Scientific note

A scientific note on the first records of *Melaloncha* Brues, 1904 (Diptera: Phoridae) parasitizing Euglossini and Centridini bees

Danilo César AMENT¹, Gabriele Antico FREIRIA², Léo Correia da ROCHA-FILHO¹, Marco Antonio del LAMA², Carlos Alberto GARÓFALO¹

¹Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Departamento de Biologia, Universidade de São Paulo, Av. Bandeirantes 3900, 14040-901, Ribeirão Preto, SP, Brazil

²Departamento de Genética e Evolução, Universidade Federal de São Carlos, Rod. Washington Luís Km 235, SP 310, 13565-905, São Carlos, SP, Brazil

Received 5 July 2013 – Revised 6 September 2013 – Accepted 23 September 2013

parasitism / phorid / immature

The phorid genus *Melaloncha* Brues, 1904, also known as bee-killing flies, actually comprises 167 species and can be found mostly in the Neotropical region (Brown 2009). Most of the *Melaloncha* are endoparasitoids of corbiculate, eusocial bees, as stingless bees (Meliponini), bumble bees (*Bombus* Latreille), and honey bees (*Apis mellifera* (Linnaeus)) (Ramírez 1982; Brown 2006). Additionally, there are records of species of the genus *Melaloncha* attacking a noncorbiculate bee of the family Halictidae and a social wasp of the genus *Polybia* (Lutz and Brown 2013; Wcislo et al. 2004). This note comprises the first records of *Melaloncha* parasitizing Euglossini and Centridini bees. *Melaloncha* specimens were collected in southeastern Brazil parasitizing *Euglossa cordata* (Linnaeus), *Euglossa townsendi* Cockerell, and *Centris analis* (Fabricius).

The *Euglossa* parasitoids were identified as *Melaloncha ronnai* Borgmeier while the *Melaloncha* attacking *C. analis* could not be identified to species as only its pupa was collected. *M. ronnai* is one of the best studied species of the genus, with its life cycle thoroughly described from specimens attacking *A. mellifera* (Ronna 1936). Considering that *A. mellifera*

was introduced in the Neotropical region, the original host of *M. ronnai* was still considered doubtful (Brown 2004). All the examined specimens are deposited in the Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, Brazil (MZSP).

M. ronnai Borgmeier (Figure 1a–c, puparium)

New examined material. 1f# with puparium, Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil, 21.16°S, 47.85°W, 03.ix.2010, adult emerged from a founder female of *E. cordata*, Garófalo C.A. col.; 1f# with puparium, São Carlos, São Paulo, Brazil, 22.01°S, 47.89°W, 27.v.2013, adult emerged from a forager female of *E. cordata*, Freiria G.A. col.; 1 m# with puparium, São Carlos, São Paulo, Brazil, 21.59°S, 47.52°W, 26.iv.2013, adult emerged from a founder female of *E. townsendi*, Freiria G.A. col.

The three puparia were found occupying almost completely the internal area of the mesosoma of the bee, upside down. *M. ronnai* puparium is very similar to the one of a *Melaloncha* species described by Lucia et al. (2013), a *Bombus* parasitoid, differing only by its shorter length (3.5 mm in comparison with the 5 mm puparium of the *Bombus* parasitoid).

Melaloncha sp. (Figure 1d–h, puparium and pupa)

Examined material. One pupa from Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil, 21.16°S, 47.85°W, 03.ix.2010, Rocha-Filho L.C. col.

Corresponding author: D.C. Ament,
 danament@gmail.com
 Manuscript editor: Klaus Hartfelder



Figure 1. *Melaloncha* puparium and pupa. a–c *Melaloncha ronnai*. a Puparium basal part in ventral view, b puparium basal part in dorsal view, c detachable cap and anterodorsal plates. d–h *Melaloncha* sp., d puparium in ventral view, e puparium in dorsal view, f puparium dorsal with anterodorsal plates removed, g pupa in left lateral view, h pupa in dorsal view. adp Anterodorsal plate, bp branched projections, ps posterior spiracle, rh respiratory horn.

The puparium was removed from the interior of the mesosoma of a *C. analis*, which constitutes the first record of a *Melaloncha* attacking a Centridini bee. It is very similar to the *M. ronnai* puparium, but with slightly shorter branched projections.

ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to thank Diego Sasso Porto by finding the parasitoid inside the *C. analis* during his studies. This study benefited from FAPESP grants:

2011/03563-0 (first author), 2011/13363-9 (second author) and 2010/52531-1 (third author).

Note scientifique: première observation de *Melaloncha* Brues, 1904 (Diptera: Phoridae) parasitant des abeilles Euglossines et Centridines

Eine wissenschaftliche Notiz über eine Erstbeschreibung von *Melaloncha* Brues, 1904 (Diptera: Phoridae) als Parasit von Bienenarten de Euglossini und Centridini

REFERENCES

- Brown, B.V. (2004) Revision of the subgenus *Udamochiras* of *Melaloncha* bee-killing flies (Diptera: Phoridae: Metopininae). *J. Linn. Soc. London Zool.* 140, 1–42
- Brown, B.V. (2006) Revision of the untreated taxa of *Melaloncha* s. bee-killing flies (Diptera: Phoridae). *Zootaxa* 1280, 1–68
- Brown, B.V. (2009) Three new species of parasitoid Phoridae (Diptera) from the Neotropical Region. *Sociobiology* 54(3), 715–722
- Lucia, M., Alvarez, L.J., Abrahamovich, A.H. (2013) First record of *Melaloncha* (Diptera: Phoridae) parasitoid associated with *Bombus* (Apidae: Bombini) in Argentina. *J. Apic. Res.* 52(2), 72–73
- Lutz, M.A., Brown, B.V. (2013) New host association: *Polybia scutellaris* (Hymenoptera, Vespidae) parasitized by *Melaloncha* (Diptera, Phoridae). *Rev. Bras. Entomol.* 57(2), 238–239
- Ramírez, W. (1982) *Bombus mexicanus* Cresson, un hospedante de *Melaloncha*, moscas parásitas de la abeja de miel en el nuevo mundo. *Rev. Biol. Trop.* 30, 177
- Ronna, A. (1936) Observações biológicas sobre dois dípteros parasitas de *Apis mellifica* [sic] L. (Dipt. Phoridae, Sarcophagidae). *Rev. Bras. Entomol.* 6, 1–9
- Weislo, W.T., Arneson, L., Roesch, K., Gonzalez, V., Smith, A., Fernández, H. (2004) The evolution of nocturnal behaviour in sweat bees, *Megalopta genalis* and *M. ecuadoria* (Hymenoptera: Halictidae): an escape from competitors and enemies? *Biol. J. Linn. Soc.* 83, 377–387