OLGA INÉS CEPEDA APONTE

**Poliginia e monoginia em *Melipona bicolor*
(Apidae, Meliponini): do coletivo para o
individual**

São Paulo

2003

OLGA INÉS CEPEDA APONTE

**Poliginia e monoginia em *Melipona bicolor*
(Apidae, Meliponini): do coletivo para o
individual**

Tese apresentada ao Instituto de
Biociências da Universidade de
São Paulo, para a obtenção de
Título de Doutor em Ciências, na
Área de Ecologia.

Orientadora:
Vera Lúcia Imperatriz-Fonseca

São Paulo

2003

Cepeda Aponte, Olga Inés
**Poliginia e monoginia em
Melipona bicolor (Apidae,
Meliponini): do coletivo para o
individual** 211 páginas

Tese (Doutorado) - Instituto de
Biociências da Universidade de São
Paulo. Departamento de Ecologia.

1. Poliginia 2. Especialização 3.
Meliponini I. Universidade de São
Paulo. Instituto de Biociências.
Departamento de Ecologia.

Comissão Julgadora:

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a). VERA LÚCIA IMPERATRIZ-FONSECA
Orientador(a)

À criança que há
dentro de cada ser humano.
A seu esforço por compreender
ordem e caos na natureza.

Cantares

Yo amo los mundos sutiles,
ingrávidos y gentiles
como pompas de jabón.
Me gusta verlos pintarse
de sol y grana, volar,
bajo el cielo azul, temblar
súbitamente, y quebrarse...

Joan Manuel Serrat — España

"Let's go look at those bees across the road." (The contemplation
in natural science of the actual often leads to a far better
understanding of the theoretical).

**Michener, 1976,
em Mary Jane West-Eberhard, 1978**

GRACIAS A LA VIDA QUE ME HA DADO TANTO...

Violeta Parra – Chile

Este trabalho teve a colaboração de professores, funcionários, colegas, instituições, amigos e família e aos quais manifesto sinceros agradecimentos:

PROFESSORES: Dra. Vera Lucia Imperatriz Fonseca, Dr. Pérsio Souza Santos Filho, Dr. Hayo H.W. Velthuis, Dr. Jacobus Beismejier, Dra. Judith Slaa, Dr. Klaus Hartfelder e Dra. Isabel Alves dos Santos;

COLEGAS: MSc. Felipe Contrera, Dra. Eda Flávia L.R.A Patrício, Bióloga Fabiana Pioker, Dra. Márcia F. Ribeiro, Bióloga Denise de Araujo Alves, MSc. Sergio Dias Hilário, Dra. Marilda Cortopassi-Laurino, Dr. Dirk Koedam e Dra. Adriana O. Fidalgo;

TÉCNICOS: Sra. Inês Maria Moraes Imperatriz, Mariana Imperatriz Fonseca; Cristina Gianninni; Raimunda Santos de Sousa Mattos, Eduardo Tadeu de Mattos, Henrique Duarte Magalliães Landulfo e Mauricio Perine;

SECRETÁRIAS: Vanessa Oliani, Sandra Camerata, Dalva Molnár e Bernardete Aparecida Poli Preto;

INSTITUÇÕES: Universidade de São Paulo, S.P., e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP.

AMIGOS: Nancy, Marcela, Cristina, Jairton, Yumi, Gustavo, Verónica, Pablo, Gladys, Patricia e Wilfrido;

FAMÍLIA: Gladys, Corina, Hugo, Juan Camilo, Eric, Victor, Felix e Frans.

Índice

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO.

<i>MONOGINIA E POLIGINIA EM Melipona bicolor</i> . DO COLETIVO AO INDIVIDUAL	1
--	---

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	8
----------------------------	---

CAPÍTULO 2

COMPARAÇÃO DO PROCESSO DE APROVISIONAMENTO E POSTURA EM COLÔNIAS MONOGÍNICAS E POLIGÍNICAS DE *Melipona bicolor*

ABSTRACT	14
----------	----

RESUMO	15
--------	----

INTRODUÇÃO	16
------------	----

MATERIAIS E MÉTODOS	18
---------------------	----

RESULTADOS

Considerações gerais	20
----------------------	----

Produção de ovos	21
------------------	----

Duração do POP	22
----------------	----

Duração da fase de provisionamento	24
------------------------------------	----

Duração da fase de pós-provisionamento	24
--	----

Número de ovos tróficos	25
-------------------------	----

Influência dos ovos tróficos na duração do POP	27
--	----

Duração do tempo gasto para ovipositar	28
--	----

Operárias atraídas ao POP	29
---------------------------	----

Duração do fechamento de uma célula de cria	33
---	----

DISCUSSÃO	35
-----------	----

AGRADECIMENTOS	41
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41
FIGURAS E TABELAS	
FIGURA 01: PROPORÇÃO DE OVIPOSIÇÕES EM COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DE <i>M. BICOLOR</i> .	21
FIGURA 02: COMPARAÇÃO ENTRE A DURAÇÃO DO POP EM COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DE <i>M. BICOLOR</i> .	22
FIGURA 03: COMPARAÇÃO DAS DURAÇÕES MÉDIAS DO POP E SUAS FASES EM COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DE <i>M. BICOLOR</i> ..	23
FIGURA 04: DURAÇÕES DE POP CONTÍNUOS EM COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DE <i>M. BICOLOR</i> .	23
FIGURA 05: COMPARAÇÃO ENTRE A DURAÇÃO DA FASE DE APROVISIONAMENTO EM COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DE <i>M. BICOLOR</i> .	24
FIGURA 06: COMPARAÇÃO ENTRE A DURAÇÃO DA FASE DE PÓS-APROVISIONAMENTO EM COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DE <i>M. BICOLOR</i> .	25
FIGURA 07: INFLUÊNCIA DO NÚMERO DE RAINHAS NA LIBERAÇÃO DE OVOS TRÓFICOS PELAS OPERÁRIAS DE <i>M. BICOLOR</i> .	26
FIGURA 08: PROPORÇÃO DE OVOS TRÓFICOS POR CADA POP EM COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DE <i>M. BICOLOR</i> .	26
FIGURA 09: COMPARANDO A MÉDIA E INTEVALO DE CONFIANÇA DE DURAÇÃO DOS POP AGRUPADOS POR RANKS DEPENDENDO NA PRESENÇA DE OVOS TRÓFICOS NOS POP PRECEDENTES EM <i>M. BICOLOR</i> .	28
FIGURA 10: COMPARAÇÃO DO TEMPO NECESSÁRIO PARA A RAINHA OVIPOSITAR EM COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DE <i>M. BICOLOR</i>	29
FIGURA 11: COMPARAÇÃO DO NÚMERO TOTAL DE OPERÁRIAS ATRAÍDAS AO POP EM COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DE <i>M. BICOLOR</i> .	30
FIGURA 12: CORRELAÇÃO ENTRE A DURAÇÃO DO POP E O NÚMERO TOTAL DE OPERÁRIAS ATRAÍDAS PELO POP EM COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DE <i>M. BICOLOR</i> .	31
FIGURA 13: COMPARAÇÃO DO NÚMERO DE APROVISIONADORAS DE ALIMENTO LARVAL EM COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DE <i>M. BICOLOR</i> .	32
FIGURA 14: COMPARAÇÃO DO NÚMERO DE OPERÁRIAS OPERCULADORAS EM COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DE <i>M. BICOLOR</i>	33
FIGURA 15: COMPARAÇÃO DA DURAÇÃO DO TEMPO GASTO PARA FECHAR UMA CÉLULA POR UMA OU MAIS OPERCULADORAS EM COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DE <i>M. BICOLOR</i> .	33
TABELA I: RESULTADOS GERAIS DA ANÁLISE ENTRE COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DE <i>M. BICOLOR</i> .	34

CAPÍTULO 3

DA POLIGINIA À MONOGINIA: FATORES RELACIONADOS À INTERRUPÇÃO DA POSTURA EM RAINHAS DE *Melipona bicolor*.

ABSTRACT	46
RESUMO	47
INTRODUÇÃO	48
MATERIAL E MÉTODOS	52
RESULTADOS	
Considerações gerais	54
Duração dos processos de aprovisionamento e postura (POP)	55
Participação no POP	56
Consumo de ovos tróficos	57
Quantidade de ovos postos	58
Duração do tempo de permanência sobre a célula no ato de botar um ovo	58
Lapso de tempo de exposição do ovo	59
Relação entre a duração da postura propriamente dita e o lapso de tempo de exposição do ovo	61
DISCUSSÃO	64
AGRADECIMENTOS	69
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70
FIGURAS E TABELAS	
FIGURA 01: DURAÇÃO DO PROCESSO DE POSTURA E APROVISIONAMENTO (POP) EM <i>M. BICOLOR</i> , NOS DOIS PERÍODOS DE OBSERVAÇÃO.	56
FIGURA 02: PRESENÇA DAS RAINHAS A, B E C DE <i>M. BICOLOR</i> NOS POP:	57

FIGURA 03: PORCENTAGEM DE OVOS TRÓFICOS CONSUMIDOS PELAS RAINHAS A, B E C DE <i>M. BICOLOR</i> , NOS DOIS PERÍODOS DE OBSERVAÇÃO.	57
FIGURA 04: PORCENTAGEM DE OVOS POSTOS PELAS RAINHAS A, B E C DE <i>M. BICOLOR</i> , NOS DOIS PERÍODOS DE OBSERVAÇÃO.	58
FIGURA 05: MÉDIAS (CÍRCULOS) E DESVIOS PADRÕES (BARRAS) PARA A DURAÇÃO DO TEMPO DE POSTURA NAS RAINHAS A, B E C DE <i>M. BICOLOR</i> .	59
FIGURA 06: MÉDIAS (CÍRCULOS) E DESVIOS PADRÕES (BARRAS) PARA A DURAÇÃO DO TEMPO DE EXPOSIÇÃO DOS OVOS COLOCADOS PELAS RAINHAS A, B E C DE <i>M. BICOLOR</i> .	60
FIGURA 07: CORRELAÇÃO ENTRE O TEMPO GASTO PARA A POSTURADOS OVOS DAS RAINHAS DE <i>M. BICOLOR</i> , E O INTERVALO DE TEMPO DE EXPOSIÇÃO DO OVO, ANTES DA CÉLULA SER OPERCULADA.	61
FIGURA 08: COMPARAÇÃO ENTRE O TEMPO GASTO PELA RAINHA PARA OVIPOSITAR E O INTERVALO DE TEMPO EM QUE O OVO FICOU EXPOSTO EM <i>M. BICOLOR</i> .	62
TABELA I: DURAÇÃO MÉDIA (MIN) DO POP E SIGNIFICÂNCIA COM A PRESENÇA DE DIFERENTES COMBINAÇÕES DE RAINHAS EM <i>M. BICOLOR</i> .	55
TABELA II: COMPARAÇÕES DO DESEMPENHO DAS DIFERENTES DAS RAINHAS DE <i>M. BICOLOR</i> . NOS POP	63

CAPÍTULO 4

PARTICIPAÇÃO INDIVIDUAL DAS OPERÁRIAS DE *Melipona bicolor* NO PROCESSO DE APROVISIONAMENTO E POSTURA EM COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA

ABSTRACT	73
RESUMO	74
INTRODUÇÃO	75
MATERIAIS E MÉTODOS	
Método geral	78
Informação sobre os componentes comportamentais	80
RESULTADOS	
Recaptura de operárias	81
Considerações gerais	
Colônia monogínica	82
Colônia poligínica	83

Comparações entre a colônia monogínica e a colônia poligínica	84
Participação etária das operárias	
Colônia monogínica	84
Colônia poligínica	87
Comparação geral da participação etária das operárias nas colônias monogínica e poligínica	92
Heterogeneidade do comportamento individual	
Colônia monogínica	93
Colônia poligínica	95
Comparação geral da heterogeneidade do comportamento individual entre a colônia monogínica e da poligínica	97
Operárias especiais	
A primeira aprovisionadora	98
Aprovisionadoras	101
Operculadoras de células	102
Operárias poedeiras de ovos	105
Inserir o corpo na célula	109
Comparação geral das operárias especializadas das colônias monogínica e poligínica	111
DISCUSSÃO	113
AGRADECIMENTOS	119
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	119
FIGURAS E TABELAS	
FIGURA 01: PERCENTAGEM DE OPERÁRIAS RECAPTURADAS PARA CADA GRUPO DE IDADE EM COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DE <i>M. BICOLOR</i> .	81
FIGURA 02: DISTRIBUIÇÃO DE IDADES PARA CADA COMPORTAMENTO BÁSICO DO POP PARA A COLÔNIA MONOGÍNICA DE <i>M. BICOLOR</i> . AS FLECHAS VERMELHAS INDICAM O PICO DE MÁXIMA ATIVIDADE.	85
FIGURA 03: CORRELAÇÃO DOS COMPORTAMENTOS BÁSICOS DE INSERIR O CORPO, APROVISIONAR ALIMENTO E OPERCULAR A CÉLULA PARA CADA IDADE NA COLÔNIA MONOGÍNICA DE <i>M. BICOLOR</i> . N=22 DIAS.	86

FIGURA 04: CORRELAÇÃO DOS COMPORTAMENTOS BÁSICOS EM OPERÁRIAS POEDEIRAS E NÃO POEDEIRAS DE INSERIR O CORPO, APROVISIONAR ALIMENTO E OPERCULAR A CÉLULA PARA CADA IDADE NA COLÔNIA MONOGÍNICA DE <i>M. BICOLOR</i> . N=22 DIAS.	87
FIGURA 05: DISTRIBUIÇÃO DE IDADES PARA CADA COMPORTAMENTO BÁSICO DO POP NA COLÔNIA POLIGÍNICA DE <i>M. BICOLOR</i> . AS FLECHAS VERMELHAS INDICAM O PICO DE MÁXIMA ATIVIDADE.	88
FIGURA 06: CORRELAÇÃO DOS COMPORTAMENTOS BÁSICOS DE INSERIR O CORPO, APROVISIONAR ALIMENTO, OPERCULAR A CÉLULA E BOTAR OVOS TRÓFICOS OU REPRODUTIVOS PARA CADA IDADE NA COLÔNIA POLIGÍNICA DE <i>M. BICOLOR</i> . N=28 DIAS.	90
FIGURA 07: DISTRIBUIÇÃO DE IDADES PARA CADA COMPORTAMENTO BÁSICO DO POP NA COLÔNIA POLIGÍNICA PARA CADA TIPO DE OPERÁRIA DE <i>M. BICOLOR</i> . AS FLECHAS INDICAM OS PICOS DE MÁXIMA ATIVIDADE.	91
FIGURA 08: COLÔNIA MONOGÍNICA DE <i>M. BICOLOR</i> : OPERÁRIAS NASCIDAS EM 18 DE ABRIL 2002 - SEQUÊNCIA DE COMPORTAMENTOS.	91 ^a
FIGURA 09: CORRELAÇÃO ENTRE O COEFICIENTE DE VARIAÇÃO COM A IDADE PARA AS COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DE <i>M. BICOLOR</i> .	94
FIGURA 10: COMPARAÇÃO DAS VARIÁVEIS COMPORTAMENTAIS ASSIDUIDADE, CONSTÂNCIA E TEMPO INVESTIDO PARA CADA COMPORTAMENTO BÁSICO DE INSERIR O CORPO NA CÉLULA, APROVISIONAR E OPERCULAR A CÉLULA NA COLÔNIA MONOGÍNICA ENTRE OPERÁRIAS POEDEIRAS E NÃO POEDEIRAS DE <i>M. BICOLOR</i> .	95
FIGURA 11: COLÔNIA POLIGÍNICA DE <i>M. BICOLOR</i> : OPERÁRIAS NASCIDAS NO 14 DE OUTUBRO 2000 - SEQUÊNCIA DE COMPORTAMENTOS.	95 ^a
FIGURA 12: COMPARAÇÃO ENTRE A DURAÇÃO DA PRIMEIRA E AS DEMAIS REGURGITAÇÕES EM COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DE <i>M. BICOLOR</i> .	99
FIGURA 13: COMPARAÇÃO ENTRE A IDADE DA PRIMEIRA E AS DEMAIS REGURGITAÇÕES DE ALIMENTO LARVAL, EM COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DE <i>M. BICOLOR</i> .	99
FIGURA 14: FREQUÊNCIA COM QUE UM MESMO INDIVÍDUO FAZ A PRIMEIRA REGURGITAÇÃO NAS COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DE <i>M. BICOLOR</i> .	100
FIGURA 15: COMPARAÇÃO ENTRE COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DE <i>M. BICOLOR</i> , DA PERCENTAGEM DE POP COMEÇADOS POR ESPECIALISTAS, VERSUS INDIVÍDUOS QUE OCASIONALMENTE FAZEM A PRIMEIRA REGURGITAÇÃO.	101
FIGURA 16: FREQUÊNCIA COM QUE UM MESMO INDIVÍDUO REGURGITA NAS COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DE <i>M. BICOLOR</i> .	102
FIGURA 17: COMPARAÇÃO ENTRE AS COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA PARA AS IDADES DAS OPERCULADORAS, E O TEMPO NECESSÁRIO PARA OPERCULAR CELULAS EM <i>M. BICOLOR</i> .	103
FIGURA 18: FREQUÊNCIA COM QUE UM MESMO INDIVÍDUO OPERCULA UMA CÉLULA EM COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DE <i>M. BICOLOR</i> .	104
FIGURA 19: COMPARAÇÃO ENTRE COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DE <i>M. BICOLOR</i> DA PERCENTAGEM DE POPs FINALIZADOS POR ESPECIALISTAS, VERSUS INDIVÍDUOS QUE OCASIONALMENTE OPERCULAM UMA CÉLULA.	104

FIGURA 20: COMPARAÇÃO ENTRE COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DE <i>M. BICOLOR</i> , DA PERCENTAGEM DOS TRES TIPOS DE OPERÁRIAS: POEDEIRAS DE OVOS REPRODUTIVOS, POEDEIRAS DE OVOS TRÓFICOS, E OPERÁRIAS NÃO POEDEIRAS.	105
FIGURA 21: COMPARAÇÃO ENTRE O TEMPO GASTO PARA COLOCAR OS OVOS PELA RAINHA E POR OPERÁRIAS QUE BOTAM TRÓFICOS E REPRODUTIVOS EM <i>M. BICOLOR</i> .	107
FIGURA 22: COMPARAÇÃO ENTRE AS COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DE <i>M. BICOLOR</i> , PARA AS IDADES DAS OPERÁRIAS POEDEIRAS E O INTERVALO DE TEMPO TRANSCORRIDO ENTRE DUAS POSTURAS NA MESMA OPERÁRIA.	108
FIGURA 23: COMPARAÇÃO ENTRE AS COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DE <i>M. BICOLOR</i> , DA FREQUÊNCIA COM QUE UM MESMO INDIVÍDUO COLOCA UM OVO TRÓFICO.	108
FIGURA 24: COMPARAÇÃO ENTRE COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DE <i>M. BICOLOR</i> , DA PERCENTAGEM INVESTIDA EM CADA UM DOS COMPORTAMENTOS BASICOS.	109
FIGURA 25: CORRELAÇÕES DO COMPORTAMENTO DE INSERIR O CORPO NA CÉLULA COM OS DEMAIS COMPORTAMENTOS EM COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DE <i>M. BICOLOR</i> .	110
TABELA I: DADOS GERAIS SOBRE A PARTICIPAÇÃO DAS OPERÁRIAS DA COLÔNIA MONOGÍNICA DE <i>M. BICOLOR</i> , NOS COMPORTAMENTOS BÁSICOS DO POP.	86
TABELA II: DADOS GERAIS SOBRE A PARTICIPAÇÃO DAS OPERÁRIAS DA COLÔNIA POLIGÍNICA DE <i>M. BICOLOR</i> , NOS COMPORTAMENTOS BÁSICOS DO POP.	89
TABELA III: PICOS DE ATIVIDADE GERAIS E DOS DIVERSOS TIPOS DE OPERÁRIAS DAS COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DE <i>M. BICOLOR</i> , NOS COMPORTAMENTOS BÁSICOS DO POP (N=28).	92
TABELA IV: COMPARAÇÃO ENTRE OS TRÊS TIPOS DE OPERÁRIAS PARA ASIDUIDADE E CONSTÂNCIA DAS VARIÁVEIS COMPORTAMENTAIS EM <i>M. BICOLOR</i> .	97
TABELA V: MÉDIA E DESVIO PADRÃO PARA OS COMPORTAMENTOS BÁSICOS DO POP EM COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DE <i>M. BICOLOR</i> .	98
TABELA VI: COMPARAÇÃO ENTRE OS COMPORTAMENTOS BÁSICOS DO POP NAS COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA EDE <i>M. BICOLOR</i> .	112
TABELA VII: SELEÇÃO DE OPERÁRIAS ESPECIALISTAS NOS COMPORTAMENTO OBSERVADOS NO POP NAS COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DE <i>M. BICOLOR</i> .	112 ^a

CAPÍTULO 5

ESPECIALIZAÇÃO EM OPERÁRIAS DE *Melipona bicolor* LEPELETIER 1836: AS PRIMEIRAS APROVISIONADORAS DE ALIMENTO LARVAL NO PROCESSO DE APROVISIONAMENTO E POSTURA (POP)

ABSTRACT	123
RESUMO	124
INTRODUÇÃO	124

MATERIAIS E MÉTODOS

Observação do comportamento das operárias	127
Categorias de comportamentos observados	127
Análise de dados	128

RESULTADOS

Análise dos intervalos de início do POP	131
A primeira aprovisionadora	131
A segunda aprovisionadora	132
Primeiras vs. segundas aprovisionadoras	133
Especialistas das primeiras aprovisionadoras vs. especialistas das segundas	134

DISCUSSÃO

137

AGRADECIMENTOS

142

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

143

FIGURAS E TABELAS

FIGURA 01A ATÉ 01F INTERAÇÕES ENTRE RAINHA E UMA OPERÁRIA ESPECIALISTA NA 1ª REGURGITAÇÃO DE ALIMENTO EM <i>M. BICOLOR</i> .	130
--	-----

FIGURA 02. COMPARAÇÃO PARA:

A. INTERVALO ENTRE A CHEGADA DA RAINHA E A CHEGADA DA OPERÁRIA (SEG);	
B. INTERVALO ENTRE A CHEGADA DA RAINHA E A PRIMEIRA REGURGITAÇÃO DE ALIMENTO (SEG);	
C. IDADE DAS OPERÁRIAS (DIAS);	
D. D. NÚMERO DE RAINHAS PRESENTES EM <i>M. BICOLOR</i> .	131

FIGURA 03: COMPARAÇÃO ENTRE AS PRIMEIRAS APROVISIONADORAS EM <i>M. BICOLOR</i> .	132
--	-----

FIGURA 04: COMPARAÇÃO ENTRE AS SEGUNDAS APROVISIONADORAS EM <i>M. BICOLOR</i> .	133
---	-----

FIGURA 05: COMPARAÇÃO ENTRE TODAS AS PRIMEIRAS E SEGUNDAS APROVISIONADORAS EM <i>M. BICOLOR</i> .	134
---	-----

FIGURA 06: COMPARAÇÃO ENTRE AS ESPECIALISTAS DAS PRIMEIRAS E SEGUNDAS APROVISIONADORAS EM <i>M. BICOLOR</i> .	135
---	-----

TABELA I: DESCRIÇÃO DOS COMPORTAMENTOS OBSERVADOS NAS 1 ^{AS} REGURGITADORAS DE ALIMENTO DE <i>M. BICOLOR</i> .	129
---	-----

TABELA II. VALORES SIGNIFICATIVOS (P, MÉDIA E DESVIO PADRÃO) PARA OS COMPORTAMENTOS OBSERVADOS EM *M. BICOLOR*:

- A. PRIMEIRAS APROVISIONADORAS;
- B. SEGUNDAS APROVISIONADORAS;
- C. PRIMEIRAS APROVISIONADORAS VS. SEGUNDAS APROVISIONADORAS;
- D. ESPECIALISTAS DAS PRIMEIRAS APROVISIONADORAS VS. ESPECIALISTAS DAS SEGUNDAS.

CAPÍTULO 6

PAPEL DAS OPERÁRIAS NA DETERMINAÇÃO DAS CASTAS EM *Melipona bicolor*: UMA NOVA ABORDAGEM DO PROBLEMA

ABSTRACT	145
RESUMO	146
INTRODUÇÃO	147
MATERIAIS E MÉTODOS	151
Tipos de regurgitações	152
Mortalidade da cria	152
Especialização	152
RESULTADOS E DISCUSSÃO	153
AGRADECIMENTOS	157
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	158
FIGURAS E TABELAS	
FIGURA 01: DOIS TIPOS DE REGURGITAÇÃO NO MESMO POP EM <i>M. BICOLOR</i> .	151
FIGURA 02: CRIA MORTA DE <i>M. BICOLOR</i> .	153
FIGURA 03: DISTRIBUIÇÃO DA POSTURA POR FAVO EM <i>M. BICOLOR</i> .	154
FIGURA 04: COMPARAÇÃO DOS TIPOS DE REGURGITAÇÕES DE ALIMENTO EM <i>M. BICOLOR</i> .	155
TABELA I: QUANTIDADE DE INDIVÍDUOS RESULTANTES EM CADA FAVO DE <i>M. BICOLOR</i>	153

CAPÍTULO 7

DESENVOLVIMENTO DOS OVÁRIOS E SUA RELAÇÃO COM OS NÍVEIS DE ATIVIDADE DAS OPERÁRIAS DURANTE O PROCESSO DE APROVISIONAMENTO E POSTURA EM *Melipona bicolor*: SIGNIFICADO EVOLUTIVO.

ABSTRACT	160
RESUMO	161
INTRODUÇÃO	162
MATERIAIS E MÉTODOS	
Método geral	165
Informação sobre os componentes comportamentais	166
Informação sobre os componentes físicos	167
RESULTADOS	
Considerações gerais	170
Operárias que não participaram do POP	172
Resultados gerais das operárias que participaram do POP	173
Operárias poedeiras versus não poedeiras	175
Correlações entre as variáveis morfológicas e as variáveis comportamentais	
Poedeiras “sensu strictu”	177
Não poedeiras “sensu strictu”	179
Não poedeiras jovens “sensu strictu”	181
DISCUSSÃO	190
AGRADECIMENTOS	195
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	195
FIGURAS E TABELAS	
FIGURA 01A. OVÁRIOS DEGENERADOS DE UMA ABELHA “VELHA”.	168
FIGURA 01B. OVÁRIOS DESENVOLVIDOS DE UMA ABELHA “JOVEM”.	168
FIGURA 01C. DETALHE DE UM OVÁRIO DEGENERADO.	168

FIGURA 01D. REMANESCENTES DAS CÉLULAS NUTRIDORAS LOGO DO OVO SER COLOCADO (CORPORA LUTEA).	168
FIGURA 01E. TRÊS OVARIOLOS. NA PARTE SUPERIOR SE VÊEM AS CÂMARAS DE TROFOCITOS (A) COM OVOS INCIPIENTES (B).	168
FIGURA 01F. DOIS OVARIOLOS. OBSERVE UM OOCITO QUASE COMPLETO.	168
FIGURA 01H. CORPORA LUTEA NA BASE OVARIOLO.	168
FIGURA 01G. CORPORA LUTEA E DO OVIDUCTO COMUM.	168
FIGURA 02: OVÁRIOS DE CINCO OPERÁRIAS NASCIDAS EM 19 DE ABRIL/02 DE <i>M. BICOLOR</i> .	169
FIGURA 03: FOTO DE REFERÊNCIA DAS ÁREAS, E CURVA DE REGRESSÃO PARA O PROGRAMA DE MEDIÇÃO DE ÁREA.	170
FIGURA 04: COMPARAÇÃO DAS VARIÁVEIS MORFOLÓGICAS ENTRE OPERÁRIAS QUE NÃO PARTICIPARAM E AS QUE PARTICIPARAM DO POP EM <i>M. BICOLOR</i> .	173
FIGURA 05: DISTRIBUIÇÃO DA ÁREA DOS OVÁRIOS (A) E DO PESO CORPORAL (B) PARA AS OPERÁRIAS QUE PARTICIPARAM DO POP EM <i>M. BICOLOR</i> .	173
FIGURA 06: CORRELAÇÃO ENTRE OS GRUPOS DE IDADES E AS VARIÁVEIS MORFOLÓGICAS E AS VARIÁVEIS COMPORTAMENTAIS EM <i>M. BICOLOR</i> .	174
FIGURA 07: CORRELAÇÃO ENTRE A ÁREA DOS OVÁRIOS E PESO CORPORAL DAS OPERÁRIAS DE <i>M. BICOLOR</i> .	175
FIGURA 08: COMPARAÇÃO ENTRE OPERÁRIAS POEDEIRAS E NÃO POEDEIRAS COM RELAÇÃO À VARIÁVEIS MORFOLÓGICAS E VARIÁVEIS COMPORTAMENTAIS EM <i>M. BICOLOR</i> .	177
FIGURA 09: CORRELAÇÃO ENTRE O PESO CORPORAL DAS OPERÁRIAS POEDEIRAS COM AS VARIÁVEIS COMPORTAMENTAIS TOTAIS E OS COMPORTAMENTOS BÁSICOS EM <i>M. BICOLOR</i> .	185
FIGURA 10: CORRELAÇÃO ENTRE A IDADE DAS OPERÁRIAS POEDEIRAS COM AS VARIÁVEIS COMPORTAMENTAIS TOTAIS E OS COMPORTAMENTOS BÁSICOS EM <i>M. BICOLOR</i> .	186
FIGURA 11: CORRELAÇÃO ENTRE A IDADE DAS OPERÁRIAS NÃO POEDEIRAS COM AS VARIÁVEIS COMPORTAMENTAIS TOTAIS E OS COMPORTAMENTOS BÁSICOS EM <i>M. BICOLOR</i> .	187
FIGURA 12: CORRELAÇÃO ENTRE ÁREA DOS OVÁRIOS DAS OPERÁRIAS NÃO POEDEIRAS COM AS VARIÁVEIS COMPORTAMENTAIS TOTAIS E OS COMPORTAMENTOS BÁSICOS EM <i>M. BICOLOR</i> .	188-9
TABELA I: COMPARAÇÃO ENTRE OS QUATRO GRUPOS DE OPERÁRIAS PARA AS VARIÁVEIS COMPORTAMENTAIS (ASSIDUIDADE, CONSTÂNCIA E TEMPO INVESTIDO) E AS VARIÁVEIS MORFOLÓGICAS (ÁREA DOS OVÁRIOS E PESO CORPORAL) EM <i>M. BICOLOR</i> .	176
TABELA II: CORRELAÇÃO DA IDADE E O PESO CORPORAL DAS OPERÁRIAS POEDEIRAS “SENSU STRICTU” COM AS VARIÁVEIS COMPORTAMENTAIS E MORFOLÓGICAS EM <i>M. BICOLOR</i> .	179
TABELA III: CORRELAÇÃO DA IDADE E O DESENVOLVIMENTO OVARIANO DAS OPERÁRIAS NÃO POEDEIRAS “SENSU STRICTU” COM AS VARIÁVEIS COMPORTAMENTAIS E MORFOLÓGICAS EM <i>M. BICOLOR</i> .	181

TABELA IV: CORRELAÇÃO DA IDADE, DO PESO CORPORAL E O DESENVOLVIMENTO OVARIANO DAS OPERÁRIAS NÃO POEDEIRAS JOVENS “SENSU STRICTU” COM AS VARIÁVEIS COMPORTAMENTAIS E MORFOLÓGICAS EM <i>M. BICOLOR</i> .	182
TABELA V: PERCENTAGEM DE PONTOS REPRESENTADOS PELAS CORRELAÇÕES SIGNIFICATIVAS PARA TRÊS GRUPOS DE OPERÁRIAS COM AS VARIÁVEIS MORFOLÓGICAS E COMPORTAMENTAIS EM <i>M. BICOLOR</i> .	184
<hr/>	
CAPITULO 8	
CONCLUSÕES GERAIS	200
<i>Melipona bicolor</i> : DO COLETIVO AO INDIVIDUAL	
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	206
DIAGRAMA DE FLUXO 01: MECANISMOS DE REGULAÇÃO DO NÚMERO DE RAINHAS E SUAS CONSEQUÊNCIAS DEMOGRÁFICAS	203

Denise de
Araujo Alves

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO.

MONOGINIA E POLIGINIA EM *Melipona bicolor*: DO COLETIVO AO
INDIVIDUAL

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

Monoginia e poliginia em *Melipona bicolor*: do coletivo ao individual

Melipona bicolor Lepeletier 1836 (já identificada como *Melipona nigra schencki* Gribodo) é uma espécie de abelhas nativa da Mata Atlântica do sudeste brasileiro, conhecida popularmente como abelha Guarupú ou Guirupú (Nogueira-Neto, 1997). Foi uma das espécies utilizada por Kerr (1948) em seu estudo pioneiro sobre a determinação de castas em *Melipona*; Kerr também estudou sua espermatogênese e determinou seu número cromossômico. Estudaram-se as mudas ontogênicas de suas larvas (Oliveira, 1960); a rainha foi inseminada artificialmente (Silva, *et al.*, 1972). Moure (1975), em sua nota sobre as abelhas descritas por Lepeletier, reconhece *Melipona bicolor* entre elas, invalidando o nome *Melipona nigra*. Mas os estudos continuaram em múltiplos aspectos: sobre a população forrageira há estudos do pólen coletado na Mata Atlântica, na Estação Biológica de Boracéia (Wilms & Wiechers, 1997), identificando as fontes de alimento para esta espécie, abundantes naquela área; sobre a visita a flores, usando-se o método de coleta nas flores (Wilms *et al.*, 1996); sobre a influência dos fatores climáticos (Hilário *et al.*, 2000); e sobre a comunicação pelas operárias da localização das fontes de alimento (Nieh *et al.*, 2003). Há também informações sobre os diferentes aspectos intracoloniais: estudos sobre reconhecimento de parentesco (Alonso *et al.* 1998), sobre a relação do microclima com a oviposição da rainha, (Velthuis, *et al.* 1999), da produção de cera pelas rainhas virgens (Koedam *et al.* 2002), e sobre pragas (Cepeda *et al.*, 2002).

M. bicolor foi objeto principal de um importante projeto temático, que avaliou a organização social e os padrões de reprodução em abelhas indígenas. Neste projeto, composto de várias partes, foram determinados os microssatélites

para *M. bicolor*, os primeiros a serem identificados nos meliponíneos (Peters *et al.*, 1998) e a fecundação da rainha por um único macho (Peters *et al.*, 1999) foi confirmada com as ferramentas moleculares. O rearranjo da ordem dos genes no DNA mit foi estudado por Silvestre e col., 2002.

Cruz-Landim e col. estudaram diversos aspectos da morfologia e ecologia química de *Melipona bicolor* (Abdalla, 2003; Abdalla *et al.*, 2003; Abdalla & Cruz-Landim, 2002; Cruz-Landim, 2002; Cruz-Landim & Dallacqua, 2002). Há vários outros estudos em andamento ou em redação para publicação, apresentados em reuniões científicas.

Entre os aspectos comportamentais estudados, a poliginia e os conflitos sociais decorrentes dos diversos tipos de ovos produzidos pelas operárias e pelas rainhas foram abordados. Com relação aos ovos, estudou-se a biofísica e química que explicam sua sustentação no alimento líquido (Velthuis & Velthuis, 1998; Jungnickel *et al.* 2001), mas principalmente, e com o objetivo de definir as funções e origem, a relação das diferenças, tanto morfológicas dos ovos, com os comportamentais das operárias que os produzem (Koedam *et al.* 2001; Velthuis *et al.* 2002; Velthuis *et al.* 2003a, 2003b).

A grande importância deste meliponíneo é o fato de ser a única espécie de abelha eussocial conhecida que apresenta colônias em condições de poliginia natural e duradoura (Kerr, 1949; Silva *et al.*, 1972; Nogueira Neto, 1997; Velthuis *et al.*, 2001) sendo portanto importante o estudo das interações comportamentais (Bego, 1989a) e a repartição da reprodução entre rainhas (Roeling, 2000; Velthuis *et al.*, 2001). A primeira publicação onde se faz menção a poliginia facultativa, mas persistente em *M. bicolor*, foi feita por Kerr, em 1949. Em outras espécies de meliponíneos há menções esparsas de ocorrência da poliginia: a primeira em uma colônia de *M. rufiventris flavolineata* com cinco rainhas (Portugal-Araujo, 1976), e estudos em colônias experimentais poligínicas, com duas rainhas, em *M. marginata* (Kleinert-Giovannini, 1989); nesta espécie há ocorrência natural de poliginia, embora rara. Houve ensaios para produzir poliginia artificial em *M. pseudocentris* (Buschinelli e Stort 1965) e em *M. compressipes* (Monteiro & Kerr, 1990).

Porém estes ensaios não produziram poliginias estáveis, sendo evidente o antagonismo entre as rainhas e as operárias. Contudo, em alguns ensaios obtiveram convivências curtas onde se estabeleciam “skews” reprodutivos onde a rainha dominante exercia canibalismo e comia um número maior de ovos tróficos (Monteiro & Kerr, 1990). Kleinert-Giovannini, (1989), procurando mecanismos de controle reprodutivo, realizou ensaios com introdução de rainhas de diversas idades e subespécies em colônias comumente reconhecidas como monogínicas. Concluiu que há uma ação feromonal que é refletida na postura, sem importar a idade nem a mistura de subespécies de rainhas.

Outros casos de poliginia mencionados na literatura referem-se a Trigonini. Vitter & Wittmann (1997) descreveram a poliginia em *Plebeia wittmanni*, onde, durante o processo de substituição natural de rainha, a rainha filha foi fecundada enquanto a rainha mãe ainda estava viva e ovipositando; em *Plebeia droryana*, por Silva (1972), também durante um processo de substituição de rainha; em *Schwarziana quadripunctata* (Imperatriz-Fonseca, 1973), onde foi mencionada a presença de uma segunda rainha fisogástrica que não participava do POP; e em *Frieseomelitta varia* (Cortopassi-Laurino & Imperatriz-Fonseca, 1998, aqui comunicação em congresso) onde foi observada uma poliginia temporária, onde as duas rainhas dividiam os POPs.

As primeiras observações no processo de postura nas abelhas *Apis mellifera* datam de 1855 (Donhoff *apud* Ceccato, 1970) e no POP das abelhas sem ferrão desde 1872 em *Melipona scutellaris* (Drory *apud* Darakjan, 1991). Até hoje, investigaram-se mais de 34 espécies de meliponíneos com os objetivos de: estudar comparativamente o processo em varias espécies (e.g. Sakagami & Zucchi, 1966) e relacioná-lo com padrões evolutivos do grupo (e.g. Zucchi, 1970; Zucchi *et al.*, 1999), fornecer novos subsídios à sistemática (Drumond *et al.*, 2000), conhecer padrões comportamentais e relacioná-los com as condições ambientais (Almeida, 1974) e da colônia para o entendimento da sua organização (Darakjan, 1991). Sabe-se que as características de um POP mudam dependendo de muitos fatores tais como: a idade da rainha (Nogueira-Ferreira, 1991), as condições populacionais da colônia (Camillo-Atique, 1974; Morais, 2003) e a estação do ano

(Yamashita, 1970). Em *M. bicolor*, com relação à dinâmica da colônia, conhece-se quanto tempo pode permanecer órfã (30 dias Nogueira-Neto, 1997; em vários casos até 60 dias, observações não publicadas de Vera Lucia Imperatriz-Fonseca e Denise A. Alves) e seu POP foi estudado por vários investigadores focalizando aspectos relacionados com a poliginia (Velthuis *et al.*, 2001), com o comportamento das operárias e os tipos de ovos (Koedam *et al.*, 2001; Velthuis *et al.*, 2002; Velthuis *et al.*, 2003a, 2003b). Bego (1983) estudou em duas colônias poligínicas, a curva de sobrevivência, o polietismo etário. Relacionando-o com o desenvolvimento das glândulas hipofaríngeas e o desenvolvimento ovariano. Com relação à duração do POP em colônias poligínicas, Bego (1989b) menciona que o processo pode ser muito lento, embora tenha observado um número reduzido de POPs. Este fato já tinha sido comentado pelo Kerr desde 1949, que concluiu que a poliginia poderia ser populacionalmente vantajosa:

“Na hora da postura há uma certa irritação ou nervosismo por parte delas (das rainhas), pois, cada uma queria ser a poedeira. Parece que o fato de haver mais de uma rainha estimula as operárias para trabalharem mais rapidamente, pois essa colônia desenvolveu-se mais rapidamente que as outras”.

Darakjian e Imperatriz-Fonseca (1992) observando *M. quadrifasciata*, procuraram verificar se a ocorrência de posturas de operárias influi na duração das diversas fases do POP. Elas concluíram que a fase de descarga e de pós-aprovisionamento tende a ser mais curta quando ocorre postura de operária, pois as operárias têm urgência para botar seu próprio ovo.

A divisão de tarefas foi estudada em algumas espécies de *Melipona*; em *M. bicolor* (Bego, 1983) e em *M. compressipes fasciculata* (Mendonça & Schlichting, 1983) grupos de abelhas da mesma idade foram marcados e acompanhados. Entretanto, um trabalho pioneiro de acompanhamento de indivíduos de *M. rufiventris*, foi feito em 1970 por Ceccato (1970), e posteriormente em *M. favosa* (e.g. Sommeijer *et al.*, 1983; Kolmes & Sommeijer, 1993) e em *M. subnitida* (Koedam, *et al.*, 1999).

Mas foram os trabalhos de Velthuis e cols. em *M. bicolor*, os que apresentam uma base importante sobre a qual foi construído este projeto. Nos

trabalhos mencionados, há uma ênfase no estudo das oviposições de operárias em *M. bicolor*, a nível tanto morfológico como químico integrado com a análise comportamental das abelhas poedeiras. Alguns dos resultados são que há diferenças morfológicas consideráveis entre os ovos reprodutivos (que produzem machos), e os ovos tróficos, assim como diferenças comportamentais das operárias que os botaram (Koedam, *et al.*, 2001). Também foram estudados os ovos das rainhas. Acreditava-se que a dominância reprodutiva das rainhas em colônias poligínicas estava ligada aos feromônios da glândula de Dufour. Tais substâncias são consideradas como os marcadores da qualidade dos ovos como havia sido encontrado em *Apis* e em *Bombus* (Hefetz, 1987; Katzav-Gozansky *et al.*, 2000), mas esta hipótese não foi confirmada para *M. bicolor*, embora investigada por Abdalla (2003b).

Koedam e col. (2001) puseram em evidência a competição de rainhas e operárias com relação à produção de machos. As operárias reprodutivas, após produzirem seu ovo, fecham a célula, demorando neste processo uma quantidade de tempo significativamente maior que durante a operculação do ovo da rainha (situação de conflito; ver Velthuis *et al.*, 2003a). Algumas operárias reprodutoras colocaram seus ovos nas células onde a rainha já havia ovipositado, e de cerca de 50% destas células nascem fêmeas (Koedam *et al.*, in prep). Isso significa que há possibilidades de competição entre os dois ovos, e nem sempre o ovo de operária produz macho filho de operária, como encontrado por Beig (1972) para *Scaptotrigona postica*.

Com relação à diferença reprodutiva das rainhas em colônias poligínicas Roeling (2000) e Vethuis e col. (2001) apresentaram um modelo de dominância baseado na ingestão de ovos tróficos, modulado indiretamente pela taxa de construção de células pelas operárias. Velthuis e col (2003) concluem que os ovos tróficos contêm o dobro de proteínas que os ovos reprodutivos, o que evidencia a riqueza nutricional dos ovos tróficos.

A presente pesquisa tem como objetivo fundamental estudar a participação de operárias e rainhas de *M. bicolor* nos conflitos coloniais, cujo

palco principal é o POP (do inglês *Provisioning and Oviposition Process*, POP, processo de aprovisionamento e oviposição nas células de cria). Assim, a comparação entre a divisão de trabalho no POP de colônias monogínicas e poligínicas foi o foco de nossos estudos. Com uma análise criteriosa do comportamento de operárias marcadas, comentamos modelos de mecanismos proximais da divisão de trabalhos nos insetos sociais; também discutimos a importância, a nível evolutivo, da retenção da capacidade de botar ovos das operárias.

As operárias de *M. bicolor* mostraram diferenças na alocação de tarefas que podem estar relacionadas com uma “predisposição individual”. Análise apoiada em indivíduos marcados pode conduzir a identificar especializações no POP. Porém é importante esclarecer se o número de rainhas afeta às operárias participando do POP.

Com uma base de dados construída tanto em colônias monogínica como poligínica, uma comparação geral e uma análise a nível individual, tanto de rainhas como de operárias, pode revelar padrões gerais de comportamento, assim como as diferenças associadas à sua condição particular com relação ao número de rainhas.

Com a informação em condições monogínica e poligínica, sobre as características do POP, tais como duração do POP e de suas subfases, o número de operárias atraídas, a oferta de ovos tróficos, os comportamentos das rainhas ao ovipositar, e a produção de ovos por cada rainha, pudemos discutir a função da poliginia e a influência direta ou indireta das operárias nela (Capítulos 2 e 3).

Com as informações básicas como idade e participação das operárias no POP, pudemos verificar qual é a atividade média esperada para os comportamentos que formam o POP: inserir o corpo na célula, aprovisionar com alimento larval, opercular a célula e botar ovos. Este conhecimento nos permitiu aprofundar nas diferenças individuais relacionadas com especialização e grau

de interesse no processo, e discutir as possíveis causas proximais do comportamento das operárias (Capítulo 4).

Ao aprofundar nos indivíduos especializados, observamos as operárias que fazem a primeira regurgitação de alimento larval em uma célula, ato importante para desencadear o POP. Queríamos estabelecer se existiriam diferenças comportamentais suficientemente importantes para caracterizar tais indivíduos e separá-los do conjunto de operárias que atuam no POP. Tratamos então de interpretar seu papel e de ponderar sua importância no POP (Capítulo 5).

O alimento larval tem uma grande importância no desenvolvimento do futuro indivíduo, definindo seu papel na colônia. Observações feitas diretamente nas colônias e nas filmagens constataram que as regurgitações das operárias são de diferente consistência: umas grossas, semi-sólidas; outras mais fracas e líquidas. Seriam elas nutricionalmente deferentes? E se fossem, seriam as operárias as encarregadas de selecionar a casta da futura fêmea, e ao fazê-lo, envolver seus interesses egoístas nisso? Conhecendo o histórico de cada célula (operárias, número de regurgitações e a rainha mãe), e determinando a casta produzida em cada célula, tratamos de determinar se houve influência das operárias na determinação de castas (Capítulo 6), usando como critério o tipo de regurgitação de alimento larval.

Para aprofundar o conhecimento das diferenças do grau de atividade individual das operárias, acreditamos que do ponto de vista fisiológico, este envolvimento esteja relacionado com desenvolvimento ovariano. Analisamos então, se existe correlação para cada operária, entre os componentes comportamentais, representados na frequência e tempo investido em cada atividade do POP, com componentes físicos tais como peso corpóreo e área dos ovários. Os resultados nos permitiram não somente discutir os mecanismos proximais internos da diferenciação comportamental, mas também o significado primário do ovo trófico na conservação da capacidade de oviposição das operárias (Capítulo 7).

No oitavo e último capítulo, fazemos a discussão geral integrando os resultados de todos os capítulos, indo desde o funcionamento geral de rainhas e operárias no POP, até chegarmos ao indivíduo e seus interesses particulares.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDALLA, F. C. **Ultra-estrutura e composição química da glândula de Dufour de rainhas de *Melipona bicolor* Lepeletier, 1836 (Hymenoptera, Meliponini) e padrão dos hidrocarbonetos cuticulares da espécie.** Tese Doutorado. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Rio Claro. 2003
- ABDALLA, F. C., CRUZ-LANDIM, C., Jones, G.R., MORGAN, E. D. Comparative study of the cuticular hydrocarbon composition of *Melipona bicolor* Lepeletier, 1836 (Hymenoptera, Meliponini) workers and queens. **Genetics and Molecular Research**, v.2, p.191 - 199, 2003.
- ABDALLA, F. C., CRUZ-LANDIM, C. Mudanças morfo-funcionais e dinâmica do ciclo secretor da glândula de Dufour das abelhas eussociais (*Apis mellifera*, *Bombus terrestris*, *Melipona bicolor*): um exemplo da plasticidade das células glandulares dos insetos **In: Avanços em Biologia Celular**. 1ª ed. Rio Grande do Sul: EDIPUCRS, v.1, p. 45-49. 2002.
- ALMEIDA, M.G. DE **Aspectos bionômicos, ecológicos e genéticos da abelha *Melipona scutellaris scutellaris* Latreille (1811).** Dissertação. Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 1974.
- ALONSO, W.J.; LUCENA, T.; FRACASSO, C.M.; VELTHUIS H.H.W. & IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. Do *Melipona bicolor* (Apidae: Meliponinae) workers distinguish relatedness among different physogastric queens? **Apidologie**, v.29, p.1-11, 1998.
- BEGO, L.R. On some aspects of bionomics in *Melipona bicolor bicolor* Lepeletier (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v.27, n.3/4, p.211-224, 1983.
- BEGO, L.R. Behavioral interactions among queens of the polygynous stingless bee *Melipona bicolor bicolor* Lepeletier (Hymenoptera : Apidae). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.22, p.587-596, 1989a.
- BEGO, L.R. Padrão geral de oviposição em *Melipona bicolor*. **Ciência e Cultura** supl. v.41, n.7, p.920-, 1989b.
- BEIG, D. The production of males in queenright colonies of *Trigona* (*Scaptotrigona*) *postica*. **Journal of Apicultural Research**, v.11, p.33-39, 1972.
- BUSCHINELLI, A. & STORT, A.C. Estudo do comportamento de *Melipona pseudocentris pseudocentris* (Cockerell, 1912). **Revista Brasileira de Biologia**, v.25, p.67-80, 1965.

- CAMILLO-ATIQUE C. **Variabilidade do comportamento de *Melipona rufiventris rufiventris* (Hymenoptera, Apoidea)**. Dissertação. Faculdade de Medicina, Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 1974.
- CECCATO, S. **Divisão de trabalho entre as operárias de *Melipona rufiventris flavolineata* Friese (Hymenoptera, Apoidea)**. Dissertação. Instituto de Biociências, São Paulo, Universidade de São Paulo, 30 pp., 1970.
- CEPEDA APONTE, O.I.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. & VELTHUIS, H.H.W. Lesser wax moth *Achroia grisella*: First report for stingless bees and new capture method. **Journal of Apicultural Research**, v.41,n.3-4, p.107-108, 2002.
- CRUZ-LANDIM, C. Spermiophagy in the spermatheca of *Melipona bicolor* Lepeletier, 1836 (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). **Anatomia Histologia Embryologia - Journal Of Veterinary Medicine Series C.**, v.36, n.6, p.339 - 343, 2002.
- CRUZ-LANDIM, C., SERRÃO, J. E. Ultrastructure of the spermathecal gland of *Melipona bicolor* Lep. (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). **Brazilian Journal of Morphological Sciences**. Campinas/SP, v.19, n.1, p.9 - 16, 2002.
- CRUZ-LANDIM, C., DALLACQUA, R. P. Testicular reabsorption in adult males of *Melipona bicolor bicolor* Lepeletier (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). **Cytologia**, v.67, p.145-151, 2002.
- DARAKJIAN, P. **Aspectos da variabilidade do comportamento de postura nas células em *Melipona quadrifasciata* Lepeletier (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae)**. Dissertação, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, 1991.
- DARAKJIAN P. & IMPERATRIZ-FONSECA V.L. A influência da ocorrência de posturas de operárias na estrutura temporal do processo de postura em colônias de *Melipona quadrifasciata* (Apidae, Meliponinae). **Ciência e Cultura**, supl., v.44, n.7, p.840, 1992.
- DRUMMOND, P.M.; ZUCCHI, R. & OLDROYD, B.P. Description of the cell provisioning and oviposition process of seven species of *Plebeia* Schwarz (Apidae, Meliponini) with notes on their phylogeny and taxonomy. **Insectes Sociaux**, v.47, p.99-112, 2000.
- HEFETZ, A. The role of Dufour's gland secretions in bees. **Physiological Entomology**, v.12, p.243-253, 1987.
- HILÁRIO, S.D.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. & KLEINERT, A.M.P. Flight activity and colony strength in the stingless bee *Melipona bicolor bicolor* (Apidae, Meliponinae). **Revista Brasileira de Biologia**, v.60, n.2, p.299-306, 2000.
- IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. Miscellaneous observations on the behavior of *Schwarziana quadripunctata* (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). **Boletim de Zoologia e Biologia Marítima**, v.30, p.633 - 640, 1973.
- JUNGNICKEL, H.; VELTHUIS, H.H.W.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. & MORGAN, E.D. Chemical properties allow stingless bees to place their eggs upright on liquid larval food. **Physiological Entomology**, v.26, p.300-305, 2001.
- KATZAV-GOZANSKY, T.; SOROKER, V. & HEFETZ, A. Plasticity in caste related exocrine secretion biosynthesis in the honey bee (*Apis mellifera*). **Journal of Insect Physiology**, v.46, p.993-998, 2000.

- KERR, W.E. Estudos sobre o gênero *Melipona*. **Anais da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"** USP, separata 88, v.5, p.181-292, 1948.
- KERR, W.E. Algumas comparações entre a abelha europeia (*Apis mellifera*, L.) e as abelhas nativas brasileiras (Meliponini). **O Solo**, p.39-47, 1949.
- KLEINERT-GIOVANNINI, A. **Mecanismos de controle reprodutivo em *Melipona marginata* Lepeletier (Apidae, Meliponinae)**. Tese, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, 1989.
- KOEDAM, D. CONTRERA F.A.L. & IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. Clustered male production by workers in the stingless bee *Melipona subnitida* Ducke (Apidae, Meliponinae). **Insectes Sociaux**, v.46, p.387-391, 1999.
- KOEDAM, D., VELTHUIS, H.H.W.; DOHMEN, M.R. & IMPERATRIZ-FONSECA V.L. The behavior of laying workers and the morphology and viability of their eggs in *Melipona bicolor bicolor*. **Physiological Entomology**, v.26, p.254-259, 2001.
- KOEDAM, D.; JUNGnickel, H.; Tentschert, J.; Jones, G.R. & Morgan, E.D. Production of wax by virgin queens of the stingless bee *Melipona bicolor* (Apidae, Meliponinae). **Insectes Sociaux**, v.49, p.229-233, 2002.
- KOEDAM, D.; CEPEDA APONTE, O.I.; VELTHUIS, H.H.W. & IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. Inter- and Intra-caste conflict of the production of males in *Melipona bicolor* (Hymenoptera, Meliponinae). In prep.
- KOLMES, S.A. & SOMMEIJER, M.J. A quantitative analysis of behavioral specialization among worker stingless bees (*Melipona favosa* F.) performing hive duties. **Journal of the Kansas Entomological Society**, v.65, n.4, p.421-430, 1992.
- MENDONÇA, M.A. & SCHLICHTING, M.C.R.M. Divisão de trabalho entre operárias de *Melipona compressipes fasciculata*. **Ciência e Cultura**, v.35, n.7, p.774, 1983.
- MONTEIRO, C.A. & KERR W.E. Experimental exchange of queens between colonies of *Melipona compressipes*. **Revista Brasileira de Biologia**, v.50, p.375-381, 1990.
- MORAIS, M.M. **Regulação social em *Melipona compressipes fasciculata* com especial referência à reprodução e produtividade das colônias (Hymenoptera, Apidae)**. Dissertação, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2003.
- MOURE, J.S.- Nota sobre as espécies de *Melipona* descritas por Lepetier em 1836. **Revista Brasileira de Biologia** v.35, n.4, p.615- 623, 1975.
- NIEH, J.; CONTRERA, F.A.L.; RAMIREZ, S & IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. Variation in height communication: testing 3-dimensional location communication in the stingless bees, *Melipona mandacaiá* and *Melipona bicolor*. **Animal Behaviour**, v.64, doi:10.1006/anbe.2002.2289, 2003.
- NOGUEIRA-FERREIRA, F.H. **Ontogenia do processo de tratamento nas células de cria dos Meliponinae (Hymenoptera, Apidae)**. Tese, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 1991.
- NOGUEIRA-NETO, P. **Vida e Criação de Abelhas Indígenas sem Ferrão**. Ed. Nogueirapis, São Paulo, S.P. 1997, 446 p.

- OLIVEIRA, B. L. Mudanças ontogenéticas em larvas de *Melipona nigra schenki* Gribodo (Hymenoptera, Apoidea). **Boletim da Universidade do Paraná, Zoologia**, v.2, p.1-16, 1960.
- PETERS, J. M.; QUELLER, D.C.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; STRASSMANN, J. E. Microsatellite loci from the stingless bee, *Melipona bicolor*. **Molecular Ecology**, v. 7, p. 783-792, 1998
- PETERS, J. M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; QUELLER, D.; ROUBIK, D. W.; STRASSMANN, J. E. Mate number, kin selection and social conflicts in the stingless bees and honeybees. **Proceedings of the Royal Society of London - B** (Biological Sciences), v. 266, p. 379-384, 1999.
- PORTUGAL-ARAUJO, V. Colônias naturais de rainhas múltiplas em *Apis mellifera* Linnaeus. In: **Anais do 4º Congresso Brasileiro de Apicultura**, L. Gonçalves (Ed.), Curitiba PR. 1976, p.173-178.
- ROELING, A. **Reproductive skew in the polygynous stingless bee *Melipona bicolor***. Dissertação, Universidade de Utrecht, Holanda, 2000.
- SAKAGAMI, S. F. & ZUCCHI, R. Estudo comparativo do comportamento de várias espécies de abelhas sem ferrão, com especial referência ao processo de provisionamento e postura das células. **Ciência e Cultura**, v.18, n.3, p.283-296, 1966.
- SILVA, D.L.N. de. Considerações em torno de um caso de substituição de rainha de *Plebeia (Plebeia) droryana* (Friese, 1900) (Hymenoptera, Apidae). In: **Homenagem a W. E. Kerr**. Rio Claro, SP. Brasil. P.267-73, 1972.
- SILVA, D.L.N. de, ZUCCHI, R., KERR, W.E. Biological and behavioral aspects of the reproduction in some species of *Melipona* (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). **Animal Behaviour**, v.20, p.123-132, 1972.
- SILVESTRE, D., FRANCISCO, F. O., WEINLICH, R. & ARIAS, M.C. A scientific note on mtDNA gene order rearrangements among highly eusocial bees (Hymenoptera, Apidae). **Apidologie**, v. 33, p. 355-356, 2002.
- SOMMEIJER, M.J.; ROOY, G.A. de & BRUIJN, L.L.M. de. A comparative study of foraging behavior and pollen resources of various stingless bees (Hymenoptera, Meliponinae) and honeybees (Hymenoptera, Apinae) in Trinidad, West Indies. **Apidologie**, v.14, p.205-224, 1983.
- VELTHUIS, B.J. & VELTHUIS, H.H.W. Columbus surpassed: biophysical aspects of how stingless bees place an egg upright on their liquid food. **Naturwissenschaften**, v.85, n.7, p.330-333, 1998.
- VELTHUIS, H.H.W.; KOEDAM, D. & IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. The rate of brood cell production in the stingless bee *Melipona bicolor* fluctuates with nest box temperature. **Revista de Etologia**, v.2, n.1, p.141-145, 1999.
- VELTHUIS, H.H.W.; ROELING, A. & IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. Repartition of reproduction among queens in the polygynous stingless bee *Melipona bicolor*. **Proceedings of the Section Experimental and Applied Entomology of the Netherlands Entomological Society (NEV)**, v.12, p.45-49, 2001.
- VELTHUIS, H.H.W.; ALVES, D.A.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. & DUCHATEAU, M.J. Worker bees and the fate of their eggs. **Proceedings of the Section**

- Experimental and Applied Entomology of the Netherlands Entomological Society (NEV)**, v.13, p.97-102, 2002.
- VELTHUIS, H.H.W.; PEREBOOM, Z.; KOEDAM, D. & IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. Cooperation and competition in a colony of the polygynous stingless bee *Melipona bicolor*, illustrated by two kinds of worker eggs and the behaviors of the workers laying them. **Proceedings of the Section Experimental and Applied Entomology of the Netherlands Entomological Society (NEV)**, v.14, p.49-523, 2003a.
- VELTHUIS, H.H.W.; CORTOPASSI-LAURINO, M.; PEREBOOM, Z.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. Speciation, development, and the conservative egg of the stingless bee genus *Melipona*. **Proceedings of the Section Experimental and Applied Entomology of the Netherlands Entomological Society (NEV)**, v.14, p.53-57, 2003b.
- YAMASHITA, C. **Sobre o processo de posturas das células de cria de *Melipona marginata marginata* Lepeletier**. Monografia, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 1970.
- WILMS, W. & WIECHERS, B. Floral resources partitioning between native *Melipona* bees and the introduced Africanized honey bee in the Brazilian Atlantic rain forest. **Apidologie**, v.28, p.339-55, 1997.
- WILMS, W.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. & ENGELS, W. Resource partitioning between highly eusocial bees and possible impact of the introduced honeybee on native stingless bees in the Brazilian Atlantic rainforest. **Studies on Neotropical Fauna & Environment**, v.31, p.137-151, 1996.
- WITTER, S., WITTMANN, D. Poliginia temporária em *Plebeia wittmanni* Moure & Camargo, 1989 (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). **Biociências**. Porto Alegre, v.5, n.2, p.61 – 69, 1997.
- ZUCCHI, R. **Aspectos etológico-evolutivos da bionomia dos Meliponinae**. Tese de Livre Docência. Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 1970.
- ZUCCHI, R.; SILVA-MATOS, E.V. DE; NOGUEIRA-FERREIRA, F.H.; AZEVEDO, G.G. On the cell provisioning and oviposition process (POP) of the stingless bees – Nomenclature reappraisal and evolutionary considerations (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae) **Sociobiology**, v.34, n.1, p.65-85, 1999.

CAPÍTULO 2

COMPARAÇÃO DO PROCESSO DE APROVISIONAMENTO E
POSTURA EM COLÔNIAS MONOGÍNICAS E POLIGÍNICAS DE
Melipona bicolor

CAPÍTULO 2

COMPARAÇÃO DO PROCESSO DE APROVISIONAMENTO E POSTURA EM COLÔNIAS MONOGÍNICAS E POLIGÍNICAS DE *Melipona bicolor*

ABSTRACT

In order to detect possible differences in the efficiency of the Provisioning and Oviposition Process (POP), we compared a monogynous from a polygynous colony of *Melipona bicolor*. At the beginning of observations, the polygynous colony had three laying queens, but one of these ceased to lay when observations where just at the middle. We then decided to split in two the database of the polygynous colony depending on the number of queens laying, being these three or two.

We observed great differences between monogynous and polygynous conditions. In the polygynous colony, our investigation permitted us to perceive the strong competition between queens for laying. In this type of colony, queens were in a “rush” for laying their eggs. As a consequence, POP were very short and this diminished the number of trophic eggs laid. The queen of the monogynous colony consumed many more trophic eggs and in order to achieve this, she would increase the duration of the POP, specifically, the post-provisioning phase. In the polygynous colony, the number of workers, both dischargers and sealers were also greater than in the monogynous colony. This fact could be reflecting a more efficient process in polygynous conditions: more workers are attracted and complete the process in less time. However, again we may perceive the competition between the queens of this colony. The queens stimulated POP in cells that were still not ready, increasing the difficulty for its sealing by the workers. The total outcome of the combination of all these facts is that there is significant major production of queen eggs in the polygynous colony, although the number of eggs laid by each queen is smaller. We also detected a type of dominance reflected on the time queens spent laying their eggs.

RESUMO

Com a finalidade de detectar possíveis diferenças na eficiência do processo de provisionamento e postura nas células de cria (POP), comparamos uma colônia monogínica e uma poligínica em *Melipona bicolor*. Ao início das observações na colônia poligínica, esta tinha três rainhas das quais uma deixou de ovipositar na metade do período de observações. Por isso separamos em duas partes a base de dados da colônia poligínica de acordo com o número de rainhas poedeiras, três ou duas.

Observamos grandes diferenças entre as duas condições das colônias, a monogínica e a poligínica. Nosso estudo permitiu perceber como é a competição entre as rainhas em uma colônia poligínica. Neste tipo de colônia, as rainhas se “precipitavam” por ovipositar e como consequência os POPs eram muito mais curtos, diminuindo a postura de ovos tróficos. A rainha da colônia monogínica consumiu mais ovos tróficos e para conseguí-los, aumentava a duração do POP, especificamente a duração do processo de pós-provisionamento. O número de operárias em colônias poligínicas que participam do POP, tanto operculadoras quanto provisionadoras, também é maior. Isto pode refletir na eficiência do POP em colônias poligínicas: atrai um número maior de operárias que conseguem terminar o processo em menor tempo. Mas também reflete a competição entre as rainhas da colônia poligínica. Nesta, as rainhas estimulavam o POP em células que ainda não estavam com o colar pronto, dificultando seu fechamento pelas operárias. Como resultado da combinação de todos estes fatores, a produção total de ovos é maior na colônia poligínica, embora cada rainha individualmente bote menos ovos na colônia poligínica do que a da colônia monogínica. Também detectamos um tipo de dominância, que se refletia no tempo que as rainhas demoravam em colocar seus ovos.

INTRODUÇÃO

O processo de aprovisionamento e postura nas células de cria (POP) é uma característica própria de abelhas sem ferrão (Sakagami, 1982) e foi estudado em pelo menos 34 espécies (e.g. Sakagami & Oniki, 1963; Sakagami & Zucchi, 1963; Sakagami, *et al.*, 1964; Sakagami, *et al.*, 1965; Sakagami & Zucchi, 1966; Sakagami & Zucchi, 1968; Sakagami, *et al.*, 1973; Sakagami, *et al.*, 1977; Sommeijer *et al.*, 1982). Quando Sakagami & Zucchi (1963), estudaram o processo em *Scaptotrigona postica*, dividiram o POP em seis etapas. Esta divisão foi modificada numerosas vezes, a mais recente por Zucchi *et al.* (1999). Para o gênero *Melipona* pode ser definida como segue: 1) Construção de células no favo, 2) Fase de pré-aprovisionamento, quando uma rainha “fixa” na célula onde botará o próximo ovo. 3) Fase de aprovisionamento, caracterizada pela sucessiva regurgitação de alimento larval pelas operárias na célula. A fase de pós-aprovisionamento se divide em: 4) Ingestão de alimento pela rainha, que pode ser de alimento larval diretamente da célula e/ou oofagia de ovos chamados tróficos, botados pelas operárias. 5) Oviposição da rainha, e finalmente 6) Fechamento ou operculação da célula por uma ou mais operárias.

No gênero *Melipona*, o POP foi estudado com grande detalhe (Anexo 01) em 13 espécies:

<i>M. compressipes manaoensis</i>	(Sakagami & Oniki, 1963),
<i>M. pseudocentris</i>	(Buschinelli & Stort, 1965),
<i>M. quadrifasciata</i>	(Darakjian, 1991),
<i>M. quadrifasciata anthidioides</i>	(Sakagami <i>et al.</i> ; 1965),
<i>M. marginata</i>	(Yamashita, 1970),
<i>M. rufiventris rufiventris</i>	(Camillo, 1974),
<i>M. scutellaris</i>	(Almeida, 1974),
<i>M. quinquefasciata</i>	(Zucchi, 1977),
<i>M. subnitida</i>	(Zucchi, 1977),
<i>M. flavolineata</i>	(Maués-Venturieri, 1991),
<i>M. puncticollis</i>	(Venturieri, 1991),
<i>M. compressipes fasciculata</i>	(Giannini & Bego, 1998; Morais, 2003).

Todas estas espécies são tipicamente monogínicas, embora alguns estudos tenham sido feitos sobre poliginia induzida em *M. marginata* (Kleinert-Giovannini, 1989) e *M. rufiventris* (Portugal-Araújo, 1976). Porém, a única espécie caracterizada por possuir uma poliginia persistente, mas facultativa é *M. bicolor* (Kerr, 1949; Silva *et al.*, 1972, Bego, 1983).

Em espécies de himenópteros com um alto grau de eussocialidade, ninhos com mais de uma rainha podem ocorrer. Algumas vespas polisténeas enxameiam com várias rainhas e parte das operárias para fundar seu ninho, e por meio de interações de dominância produzem uma hierarquia (West-Eberhard, 1978). Em formigas, várias rainhas não aparentadas podem participar da fundação de um ninho (pleometrosis ou poliginia primária). Em muitas outras espécies, a poliginia primária passa a ser uma monoginia secundária, pois depois que emergem as primeiras operárias, estas expulsam as rainhas menos uma, ou as rainhas combatem entre si (e.g. Bartz & Holldobler, 1982; Heinze, 1993). Em *Acromyrmex versicolor* e outras espécies com poliginia primária, o principal perigo que as colônias incipientes enfrentam é o roubo da cria por outras colônias da mesma espécie. Portanto, nestes casos existe uma forte pressão para produzir o maior número possível de operárias (Rissing *et al.*, 1986). Algumas formigas com monoginia ou poliginia primária podem recrutar mais rainhas e permanecer poligínicas.

O primeiro pesquisador que tentou dar uma explicação ecológica para a poliginia foi Wilson (1963); ele concluía que para espécies “raras” de formigas, as operárias passariam por uma “modificação social” para a aceitação da poliginia, para aumentar o tamanho efetivo da população (Wilson, 1963). Elmes & Keller (1993), encontraram em seis espécies de formigas do gênero *Myrmica*, uma correlação positiva entre o número de rainhas e o número de operárias.

Em contraste às interações agressivas das formigas, em *M. bicolor* não existe agressão direta entre rainhas (Bego, 1989a), porém têm sido identificados comportamentos que poderiam ser reconhecidos como rituais de agressão (Velthuis *et al.*, 2001). Mas podem aparecer outras ritualizações que, ao invés de agressão, indiquem dominância.

Nas abelhas sem ferrão, as operárias são capazes de botar dois tipos de ovos: os ovos reprodutivos que se desenvolvem em machos e os ovos tróficos que são botados na presença da rainha. A operária abandona a célula após botar o ovo trófico, que é comido a seguir pela rainha. Os ovos tróficos são muito ricos em proteínas (Velthuis *et al.*, 2003) e devem influir na formação dos ovos das rainhas (Wheeler, 1996).

Para estabelecer se há diferenças entre as colônias monogínica e a poligínica, analisamos não somente o número de ovos que cada tipo de colônia produz, mas também consideramos se o número de rainhas, que são o “*marca-passo*” neste processo, poderia influenciar as operárias e então, as características do POP.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para filmar o comportamento, os ninhos foram transferidos para caixas de observação e colocados dentro de caixas incubadoras que mantinham a temperatura a 27 ± 3 °C. As operárias tinham livre acesso ao exterior via um tubo plástico. Também foram alimentadas diariamente com uma mistura de pólen e mel de *Apis*, oferecida em pequena quantidade.

Três meses antes de começar as observações, introduziram-se numa colônia duas rainhas (B e C) marcadas, tornando-a poligínica. A rainha original (A) manteve-se sem marca. Um estudo prévio demonstrou que as operárias não se comportam de modo diverso com relação a rainhas aparentadas e não aparentadas (Alonso *et al.*, 1998). Durante os três meses prévios, as rainhas introduzidas B e C realizaram suas posturas, e assim, quando começaram as gravações, havia operárias descendentes de todas as rainhas.

Ao começar a observação, a idade das rainhas eram de 176 dias para A, 165 dias para B e 222 dias para rainha C. As diferenças de idades somente variaram entre 11-55 dias. As colônias selecionadas tinham

características demográficas semelhantes: 581 operárias para a colônia monogínica e 534 para a poligínica.

As observações do processo de aprovisionamento e postura (POP, do inglês *Provisioning and Oviposition Process*) foram feitas de 14 de outubro até 3 de novembro de 2000 para a colônia poligínica, e de 21 de abril até 11 de maio de 2002 para a monogínica. Para registrar a atividade de oviposição, filmaram-se continuamente todos os POP ocorridos no favo. As filmagens eram feitas dentro de uma câmara escura, iluminada apenas com lâmpada vermelha fria que aparentemente não perturba a atividade das abelhas.

Na colônia poligínica, a rainha C desapareceu do favo 260 horas depois de iniciadas as filmagens. Foi encontrada viva, entretanto, ao final das observações. Devido ao exílio desta rainha das atividades do favo, os dados foram divididos e analisados em duas partes, dependendo no número de rainhas poedeiras, sendo primeiro três e o segundo, dois.

As fases em que dividimos o POP são: aprovisionamento, delimitado pela primeira e a última regurgitação de alimento larval, e a fase de pós-aprovisionamento, que estaria limitada pela última regurgitação até o momento em que a rainha oviposita. É durante esta última fase que as operárias colocam os ovos tróficos. A fase de pré-aprovisionamento não foi considerada devido à dificuldade que existe para objetivamente marcar seu começo. Analisamos a duração destas duas fases do POP, o número de ovos tróficos que as rainhas recebiam, a produção de ovos, e finalmente, o tempo que demoravam em ovipositar.

Para conhecer a identidade das operárias, colocou-se um favo amadurecido em uma caixa conectada ao ninho principal que permite às operárias auxiliar nos nascimentos. Três vezes por dia recoletávamos as abelhas recém-nascidas. Estas eram marcadas com uma etiqueta colada ao tórax de cada uma, permitindo assim a identificação individual. Analisamos o número total de operárias que eram atraídas ao POP, e principalmente aquelas que descarregavam alimento ou fechavam as células de cria. Também anotamos o tempo que as operárias demoravam em botar ovos tróficos e em fechar cada célula. Na colônia poligínica se fez uma marcação

intensiva, mas na monogínica permitimos que 1/3 das operárias ficassem sem marcar. A razão para esta diferença na metodologia, foi o fato de que as abelhas marcadas seriam sacrificadas ao final da filmagem, e não queríamos deixar a colônia muito debilitada. Para a análise do número de operárias atraídas, para a colônia monogínica utilizamos somente os POPs (n=149) onde mas de 90% das operárias participantes estivessem marcadas.

A análise estatística incluiu o teste do Kruskall Wallis, o teste U de médias do Mann Whitney, o chi quadrado (χ^2) e a correlação do Spearman. Quando o teste do Kruskall Wallis dava diferença significativa, utilizava-se o teste U como *Pós Hoc*, mudando o nível de significância de acordo com o número de variáveis examinadas. (Sokal & Rohlf, 1997; Green, *et al.*, 2000).

RESULTADOS

Considerações gerais

Para a colônia monogínica, filmamos 495 horas consecutivas (20 dias 15 horas) com 393 processos de aprovisionamento e postura (POP). Para a colônia poligínica, filmamos um total de 496 horas consecutivas (20 dias 16 horas) observando 508 POP. Os dados adquiridos para esta colônia foram divididos em dois períodos: o primeiro com 241 POP e três rainhas poedeiras, e um segundo período com 267 POP e duas rainhas poedeiras.

A filmagem era feita em períodos consecutivos de 24 horas. Entre as 0:00h e as 8:00h a câmara permanecia no automático, de modo que quando o favo cresceu muito, a distância necessária para a filmagem causou a perda de nitidez na identificação da abelha. Às vezes foi impossível identificar mais de cinco indivíduos, causando a eliminação desse POP da análise. Quando analisamos a participação das operárias no POP, eliminamos o POP se apareciam mais de cinco abelhas sem etiqueta participando ativamente em descarregar alimento ou em opercular as células de cria. Por estas razões, o número da amostra varia nas diversas análises. Um resumo dos resultados se encontra na Tabela I.

Produção de ovos

Analizamos somente ciclos de 24 horas consecutivas. Comparamos a produção de ovos quando a colônia poligínica tinha três rainhas poedeiras ($26 \pm 2,8$ em 10 dias), e duas rainhas poedeiras ($22,6 \pm 6,2$ em 10 dias). Como o teste U não detectou diferenças entre estes dois eventos ($p=0,09$) unificamos estes dados.

Comparamos então a produção diária de ovos entre a colônia monogínica (20 dias, $n=369$ POP, ovos/dia: $18,5 \pm 2,1$), e a produção diária da colônia poligínica (20 dias, $n=486$ POP, ovos/dia: $24,3 \pm 5$). O teste U encontrou diferença significativa ($p<0,005$) e verificamos que, em média, a colônia poligínica produziu 13% mais ovos que a colônia monogínica em igual período. (Fig. 01).

Para a colônia poligínica, também analisamos a oviposição de cada rainha. Se considerarmos que as rainhas foram eqüipotentes em botar ovos, cada uma deveria ter colocado 162 ovos. O teste χ^2 demonstra que há uma diferença significativa ($p<0,005$) na taxa de postura individual. A rainha mais fértil de nossa colônia ovipositou 51% dos ovos (248 ovos), a segunda rainha botou 38% (185 ovos) enquanto que a terceira botou somente 11% dos ovos (53 ovos). Na colônia monogínica, para poder manter uma população forte, sua rainha colocou 369 ovos em 20 dias, enquanto que a rainha mais fértil da colônia poligínica colocou somente 248 ovos durante o mesmo número de dias.

Duração do processo de provisionamento e postura (POP)

O período medido representa o intervalo de tempo entre a primeira regurgitação de alimento larval e a chegada de uma operária operculadora de célula de cria. Não incluímos o tempo necessário para fechar uma célula porque as rainhas botam e abandonam a célula, às vezes começando um novo POP imediatamente. As rainhas rara vez estão presentes durante o fechamento da célula, e não influenciam este ato.

Os POPs na colônia monogínica demoraram em média $20 \pm 16,3$ minutos (Fig. 03), e 59% levaram entre 10 e 17 minutos (Fig. 02). A variação é grande devido a 30 POP que demoraram mais de 50 minutos, como se vê na figura 02. Em condições poligínicas, somente três POP demoraram entre 35 e 40 minutos (Fig. 02). Em média, o POP é muito curto (Tabela I).

FIGURA 02: COMPARAÇÃO ENTRE A DURAÇÃO DO POP EM COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DE *M. BICOLOR*.

Na colônia poligínica, foi encontrada uma diferença significativa ($p < 0,05$) entre a duração dos POPs nos períodos com 2 rainhas poedeiras (13 ± 6 min.) e três rainhas poedeiras ($11,4 \pm 5,4$ min.). Quando comparamos estes resultados com os da colônia monogínica, encontramos novamente significância (Kruskal-Wallis $p < 0,005$). Portanto vemos uma tendência ao aumento na duração do POP ao diminuir o número de rainhas. (Fig. 03).

FIGURA 03: COMPARAÇÃO DAS DURAÇÕES MÉDIAS DO POP E SUAS FASES EM COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DE *M. BICOLOR*.

Observando a duração dos POPs ordenados consecutivamente, vemos que na colônia monogínica há uma sinuosidade, onde a duração dos POPs aumenta e decresce, revelando um padrão. Aparece como se a duração de um POP estivesse relacionada com a duração do POP anterior. Na condição poligínica, a sinuosidade adquire uma aparência mais caótica (Fig. 04). Esta observação ganha sua relevância quando analisamos a relação entre a duração do POP e a produção dos ovos tróficos.

FIGURA 04: DURAÇÕES DE POP CONTÍNUOS EM COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DE *M. BICOLOR*.

Duração da fase de provisionamento

Esta fase está delimitada entre a primeira e a última regurgitação de alimento larval das operárias na célula de cria.

Para a colônia monogínica, a fase de provisionamento teve uma duração média de 9 ± 6 min. Analisamos a colônia poligínica durante o período em que tinha três rainhas e o provisionamento teve uma duração média de $7,6 \pm 4,5$ min. (Fig. 03). Infelizmente, não incluímos o período com as duas rainhas devido à falta de informação sobre a última regurgitação. Comprovou-se que, na colônia monogínica, a regurgitação de alimento leva significativamente mais tempo (Teste U $p=0,005$) (Fig. 03). A fase de provisionamento mostra uma tendência a ser mais demorada em condições monogínicas (Fig. 05).

FIGURA 05: COMPARAÇÃO ENTRE A DURAÇÃO DA FASE DE PROVISIONAMENTO EM COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DE *M. BICOLOR*.

Duração da fase de pós-provisionamento

A fase de pós-provisionamento abrange o intervalo de tempo entre a última regurgitação de alimento larval até o momento em que uma rainha senta-se para ovipositar.

Na colônia monogínica, esta fase apresentou uma duração média de 9 ± 13 min., enquanto que na colônia poligínica a duração média foi de 3 ± 3

min. (Fig. 03). Esta fase também é significativamente mais demorada na colônia monogínica (Teste U $p < 0,005$) (Fig. 03).

Na colônia monogínica, a variância é muito grande e os “outliers” são comuns. Os valores extremos podem durar até mais de uma hora. Estes resultados contrastam enormemente com a fase de pós-aprovisionamento da colônia poligínica, onde a duração máxima é de 18 minutos. (Fig. 06).

FIGURA 06: COMPARAÇÃO ENTRE A DURAÇÃO DA FASE DE PÓS-APROVISIONAMENTO EM COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DE *M. BICOLOR*.

Número de ovos tróficos

Na colônia monogínica, 58% dos POP apresentaram um ou mais ovos tróficos (OT). Para a colônia poligínica temos 41% (no período com três rainhas), e 43% (no período com duas rainhas) de células com ovos tróficos (Fig. 07). A quantidade de células com ovos tróficos não difere estatisticamente entre os dois períodos com duas ou três rainhas (Teste U $p = 0,7$) na colônia poligínica. Mas, comparada com a colônia monogínica, a diferença foi significativa (Teste U $p < 0,005$).

FIGURA 07: INFLUÊNCIA DO NÚMERO DE RAINHAS NA LIBERAÇÃO DE OVOS TRÓFICOS PELAS OPERÁRIAS DE *M. BICOLOR*.

Se considerarmos o número de ovos tróficos consumidos por cada rainha, na colônia monogínica a rainha consumiu 267 ovos tróficos em 20 dias. Quanto ao número máximo que uma rainha da colônia poligínica conseguiu consumir foi apenas de 142.

Embora não seja um evento muito comum, uma célula pode receber mais de um ovo trófico (Fig. 08). Este aspecto também variou entre as condições monogínicas e poligínicas. Na figura 08 vemos que com três rainhas não foram observados mais de 2 ovos tróficos num POP.

FIGURA 08: PROPORÇÃO DE OVOS TRÓFICOS POR CADA POP EM COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DE *M. BICOLOR*.

Influência dos ovos tróficos na duração do POP

Durante as sessões de filmagem na colônia monogínica, alguns dos POPs eram extremamente demorados, se nos POPs recentes a rainha não havia recebido ovos tróficos. Também percebemos a existência de um padrão na duração dos POPs como se observa na figura 04. Será que a rainha regula a duração dos POPs dependendo da quantidade e frequência de ovos tróficos consumidos? Em outras palavras, será que a rainha espera até que as operárias ovipositem seus ovos tróficos, aumentando a fase de pós-aprovisionamento? Para poder responder a esta pergunta, cada POP recebeu um *rank* dependendo do último POP no qual a rainha recebeu um ovo trófico. *Rank* 0 seria quando o POP imediatamente anterior teve ovo trófico, *rank* 1 se houve só um POP anterior sem ovo trófico, etc. Também consideramos um efeito aditivo quando uma célula apresentava mais de uma postura de ovo trófico.

As durações dos POPs foram separadas por *ranks* e comparadas entre si para a colônia monogínica e para os dois períodos da poligínica. Encontramos diferenças significativas somente na colônia monogínica (Teste U, significância $p < 0,017$; monogínica $p < 0,005$; 2 rainhas $p = 0,053$; 3 rainhas $p = 0,41$).

Na figura 09, para a colônia monogínica, vemos como aumenta a média de duração de um POP ao aumentar o número de POPs consecutivos sem terem recebido ovos tróficos. Quando a colônia poligínica tinha somente duas rainhas, podemos perceber uma tendência para um padrão. Por outro lado, quando a colônia tinha três rainhas se perde totalmente o padrão (Fig. 09). Isto era o que se intuía ao observar a figura 04.

FIGURA 09: COMPARANDO A MÉDIA E INTERVALO DE CONFIANÇA DE DURAÇÃO DOS POPs AGRUPADOS POR RANKS DEPENDENDO NA PRESENÇA DE OVOS TRÓFICOS NOS POPs PRECEDENTES EM *M. BICOLOR*.

(N: AMOSTRA PARA:

MONOG.: COLÔNIA MONOGÍNICA;

COLÔNIA POLIGÍNICA, PERÍODO COM 2 RAINHAS;

COLÔNIA POLIGÍNICA, PERÍODO COM 3 RAINHAS).

Na figura 09 também podemos verificar que, na colônia monogínica, a rainha poucas vezes ($n=10$) esperou mais de três POPs para receber ovo trófico; na colônia poligínica, pode haver até 11 POPs sem liberação de ovos tróficos.

Utilizando o teste U com um nível de significância de $p<0,01$, encontramos diferença significativa ($p<0,005$) nas durações dos POPs. Aqueles POPs que foram precedidos por POP com ovo trófico eram significativamente mais curtos que aqueles POPs onde não havia ovos tróficos (exceto para um POP de *rank* 4), e a diferença aumentava ao aumentar o intervalo de POPs sem receber ovo trófico.

Concluindo, conseguimos comprovar que a duração de um determinado POP aumenta conforme ao número de POP precedentes, sem postura de ovo trófico.

Duração do tempo gasto para ovipositar

O teste do Kruskal Wallis também revelou que o tempo gasto para as rainhas botarem seus ovos varia (Teste U significância $p<0,017$; $p<0,005$ para as três

condições). Na colônia monogínica, a rainha gasta em média $23,7 \pm 3$ seg. (Fig. 10a) colocando seus ovos, e 86% de todos os ovos demoram entre 20 e 30 seg. para serem botados, com um mínimo de 13 e um máximo de 37 seg. (Fig. 10b). Nas duas condições poligínicas, a média é bem mais alta e os dados apresentam maior variância (duas rainhas, $43,6 \pm 33,1$ seg.; três rainhas $35,9 \pm 23,7$ seg. Fig. 10ab). Concluindo, em condições de poliginia, as rainhas demoram mais tempo para botar seus ovos. Também medimos o tempo que as operárias gastam para botar ovos tróficos; neste caso, não houve diferença significativa ($p=0,9$) entre o tempo gasto para botar o ovo pelas operárias de nenhuma das colônias. Assim, podemos dizer que as operárias levam $8,4 \pm 2,4$ seg. ($n=372$) para colocar os ovos tróficos. Com relação aos ovos reprodutivos falaremos no capítulo quatro.

FIGURA 10: COMPARAÇÃO DO TEMPO NECESSÁRIO PARA A RAINHA OVIPOSITAR EM COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DE *M. BICOLOR*.

Operárias atraídas ao POP

Analizamos o número total de operárias atraídas ao POP, considerando tanto aquelas que participam ativamente do processo, seja descarregando alimento larval, ou fechando as células de cria, como também

aquelas operárias que simplesmente inspecionam células no POP. Não encontramos diferença significativa entre as duas condições da colônia poligínica, assim que unificamos estes dados. Na colônia monogínica, o número médio de operárias é de $16,1 \pm 6,8$, enquanto na colônia poligínica é de $16,6 \pm 4,3$ (Fig. 11a). O teste U revela que há uma diferença significativa ($p=0,005$ Fig. 11b), assim podemos concluir que a colônia poligínica apresenta em média, mais operárias no POP que a colônia monogínica.

FIGURA 11: COMPARAÇÃO DO NÚMERO TOTAL DE OPERÁRIAS ATRAÍDAS AO POP EM COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DE *M. BICOLOR*.

O número total de operárias atraídas ao POP está correlacionado com a duração do POP (Spearman rho $p < 0,005$ para condições mono e poligínicas) como se vê na figura 12. O coeficiente de correlação é de 0,51 para a colônia monogínica, e de 0,46 para a colônia poligínica.

FIGURA 12: CORRELAÇÃO ENTRE A DURAÇÃO DO POP E O NÚMERO TOTAL DE OPERÁRIAS ATRAÍDAS PELO POP EM COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DE *M. BICOLOR*.

Do número total de operárias atraídas ao POP, há abelhas que descarregam alimento ou fecham as células contribuindo efetivamente ao processo em questão. Há outras abelhas que só inspecionam brevemente as células. Estas foram em média $6 \pm 4,6$ operárias, nas três condições estudadas.

As diferenças aparecem quando analisamos o número de aprovisionadoras (Kruskall Wallis $p < 0,005$) e de operculadoras (Kruskall Wallis $p < 0,005$). Para a colônia monogínica o número médio de aprovisionadoras é de $8,8 \pm 2,1$. Esta média aumenta ao aumentar o número de rainhas (duas rainhas 9 ± 8 , três rainhas $9,6 \pm 1,9$; Fig. 13ab). O teste U (com um nível de significância de $p < 0,017$) não apresenta diferenças significativas entre o número de aprovisionadoras da colônia monogínica versus poligínica com duas rainhas ($p = 0,6$), mas esta diferença aparece ao fazer as comparações restantes (monogínica vs. três rainhas, $p < 0,005$; três rainhas vs duas rainhas $p = 0,05$).

FIGURA 13: COMPARAÇÃO DO NÚMERO DE APROVISIONADORAS DE ALIMENTO LARVAL EM COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DE *M. BICOLOR*.

Para a colônia monogínica, o número máximo de operculadoras é de três, com uma média de $1 \pm 0,2$. Na colônia poligínica, os dados de duas rainhas e três rainhas foram unificados por não apresentarem diferença estatística. Temos então que para $n=487$ pode haver até 10 operculadoras em uma célula de cria, mas com uma média de $1,6 \pm 0,9$. Há diferença significativa entre a operculação em colônia monogínica e a poligínica. Na colônia monogínica aparece um número menor de operculadoras (U teste $p < 0,005$). Na colônia monogínica não houve operárias reprodutivas, mas este aspecto será analisado no capítulo quatro.

Na figura 14 podemos ver que na colônia monogínica somente 7% das células são fechadas por um máximo de três operárias. Este resultado contrasta bastante com o que acontece na colônia poligínica, pois 41,4% das células são operculadas por até 10 operárias.

FIGURA 14: COMPARAÇÃO DO NÚMERO DE OPERÁRIAS OPERCULADORAS EM COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DE *M. BICOLOR*.

Duração do fechamento de uma célula de cria

Em geral, quando a célula de cria é fechada por mais de uma operária, maior tempo é gasto nesta atividade. Na colônia monogínica, as células que usaram apenas uma operculadora ($n=357$) foram fechadas em $4,8 \pm 2,7$ min.; mais de uma operculadora ($n=12$) demora $8,7 \pm 5,8$ min. Na colônia poligínica, células com uma operculadora ($n=265$) levaram $3,3 \pm 1,3$ min para executar esta tarefa; as com mais de uma operculadora ($n=187$), $4 \pm 1,8$ min. (Fig. 15).

FIGURA 15: COMPARAÇÃO DA DURAÇÃO DO TEMPO GASTO PARA FECHAR UMA CÉLULA POR UMA OU MAIS OPERCULADORAS EM COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DE *M. BICOLOR*.

Mas novamente encontramos diferenças significativas entre o tempo empregado para fechar as células (Kruskal Wallis $p < 0,005$). Vemos que, ao aumentar o número de rainhas, diminui o tempo empregado para opercular

células (Teste U, significância $p < 0,017$, MONOGÍNICAS $4,7 \pm 1,6$ min.; POLIGÍNICAS duas rainhas 4 ± 2 min.; três rainhas $3,3 \pm 1,5$. para todas as combinações $p < 0,005$), mas aumenta o número de operárias em atividade na operculação.

TABELA I: RESULTADOS GERAIS DA ANÁLISE ENTRE COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DE *M. BICOLOR*.

		COLÔNIA MONOGÍNICA		COLÔNIA POLIGÍNICA						MONOGÍNICA VS. POLIGÍNICA SIGNIFICÂNCIA
		N	MÉDIA±S	N	MÉDIA±S	N	MÉDIA±S	N	MÉDIA±S	
PRODUÇÃO DE OVOS	TOTAL	369	18,5±2,1 OVOS/DIA	486	24,3±5	SEM DIFERENÇA				P<0,005
	POR INDIVÍDUO									
	RAINHA A	369		248						
	RAINHA B			185						
	RAINHA C			53						
DURAÇÃO DO POP	TOTAL	353	20±16,3 MIN.			234	13±6	219	11,4±5,4	P<0,005
	FASE DE APROVISIONAMENTO	358	9±6 MIN.			SEM DADOS		219	7,6±4,5	P=0,005
	FASE DE PÓS-APROVISIONAMENTO	352	9±13 MIN.			SEM DADOS		226	3±3	P<0,005
OVOS TRÓFICOS	TOTAL	267	13,4 DIAS	253	12,7 DIAS					P<0,005
	CONSUMO									
	RAINHA A	267		142						
	RAINHA B			101						
	RAINHA C			10						
TEMPO GASTO PARA OVIPOSITAR		374	23,7±3 SEG.			257	43,6±33,1	229	35,9±23,7	P<0,005
OPERÁRIAS ATRAÍDAS	TOTAL	131	16,1±6,8 IND.	280	16,6 ±4,3	SEM DIFERENÇA				P<0,005
	APROVISIONADORAS	131	8,8±2,1 IND.			90	9±8	183	9,6±1,9	P<0,005
	OPERCULADORAS	377	1±0,2 IND.	487	1,6±0,9	SEM DIFERENÇA				P<0,005
TEMPO GASTO PARA FECHAR	TOTAL	367	4,7±1,6 MIN.			235	4±2	220	3,3±1,5	P<0,005
	1 OPERCULADORA	357	4,8±2,7 MIN.	265	3,3±1,3					P<0,005
	+ DE 1 OPERCULADORA	12	8,7±5,8 MIN.	187	4 ±1,8					P<0,005

DISCUSSÃO

Em nossa colônia poligínica, uma das rainhas, na metade das observações, deixou de participar dos POPs; este fato nos permitiu verificar que realmente o número de rainhas pode produzir diferenças em uma mesma colônia, principalmente na duração do POP e no número de operárias que ele atrai. Por outra parte, a diminuição em uma rainha (a mais fraca) não afetou a produção total de ovos nem a liberação de ovos tróficos pelas operárias. Já comparando estes resultados com os obtidos na colônia monogínica, conseguimos caracterizar ainda melhor a influência do número de rainhas no POP em *Melipona bicolor*. O que significam estas diferenças em termos de eficiência e de caracterização do POP nas colônias monogínica e poligínica?

Existe uma correlação entre a duração do POP e o número total de operárias que trabalham nesta atividade. Na colônia monogínica esta correlação é alta, enquanto que é menor nas condições poligínicas, refletindo o fato de que a poliginia atrai um maior número de operárias. Os indivíduos que não contribuem ao POP são em geral construtores de células vizinhas, ou recém-nascidas muitas vezes vistas na corte. O número destes indivíduos pode variar desde zero até 31 abelhas em um POP.

A duração total do POP é muito mais prolongada na colônia monogínica. É a fase de pós-aprovisionamento a causadora principal do prolongamento do POP. A fase de aprovisionamento é em média, apenas um minuto mais longa que na colônia poligínica. Entretanto, a fase de pós-aprovisionamento pode ser três vezes maior na colônia monogínica. Na colônia monogínica, a fase de pós-aprovisionamento pode ser mais demorada pois não existe a competição entre as rainhas para colocar seus ovos ou receber ovos tróficos (Capítulo 3). Comparada com 15 outras espécies monogínicas de *Melipona*, 87% levam um tempo menor de sete minutos para encher a célula de alimento, e apresentam uma fase de pós-aprovisionamento muito variada (Anexo 1); A longa duração da fase de aprovisionamento de *M. bicolor* em condições monogínicas é semelhante à duração em *M. scutellaris*, enquanto que a curta duração da mesma fase em condições poligínicas, assemelha-se ao encontrado na maioria de espécies monogínicas de *Melipona*.

Durante o provisionamento da célula de cria, na colônia monogínica, as operárias podem encher a célula sem impedimentos, pois logo depois da primeira regurgitação há pouca interferência da rainha que se retrai e aquieta (Sakagami & Oniki, 1963; Sakagami *et al.*, 1965; Giannini & Bego, 1998). Nas condições poligínicas, as rainhas inspecionam freqüentemente a célula. Esta interferência pode dissuadir as provisionadoras que então somente regurgitam uma vez. Mas também pode acontecer que a presença constante das rainhas perto da célula e suas inserções possam atrair um maior número de operárias, já que este se assemelha ao comportamento realizado na fase de pré-provisionamento para começar um POP (Sakagami & Oniki, 1963; Sakagami *et al.*, 1965; Sakagami & Zucchi, 1966; Giannini & Bego, 1998; Zucchi *et al.*, 1999). O resultado final é que um número maior de provisionadoras de alimento larval preenche a célula em menor tempo. Assumimos que o tamanho da célula não varia em nenhuma das condições.

Nas abelhas sem ferrão, as rainhas se alimentam de três maneiras. As rainhas tomam alimento larval diretamente das células que são provisionadas ou recebem trofalaxis diretamente das operárias (Sakagami; 1982). Mas a fonte principal de nutrição é os ovos tróficos, isto é, ovos de operária colocados sobre o alimento larval e abandonados na presença da rainha (Sakagami; 1982). Os ovos tróficos são colocados durante a fase de pós-provisionamento. A célula cheia de alimento parece servir como incentivo para induzir a liberação destes ovos pelas operárias. Quando uma operária vai colocar seu ovo, parece que tem um conflito interno porque é atraída pela célula, mas lá, por sua vez, é repelida pela presença da rainha. Uma operária pode colocar seu ovo quando a rainha se afasta da célula (Sakagami & Oniki, 1963; Sakagami *et al.*, 1965; Sakagami & Zucchi, 1966; Giannini & Bego, 1998; Zucchi *et al.*, 1999). Por isso é que, em condições poligínicas, onde as rainhas estão constantemente inspecionando as células, diminui a quantidade de ovos tróficos liberados. Velthuis *et al.* (2001) estudaram seis colônias poligínicas de *M. bicolor*, onde o número de rainhas variava entre duas até cinco. Quando uma rainha atendia sozinha a um POP, tinha uma probabilidade de 50% de induzir a liberação de ovos tróficos. Quando várias rainhas atendiam ao POP, a probabilidade de não receberem ovos tróficos foi maior que 80%. Em nossa colônia monogínica, a rainha ingeriu quase o dobro de ovos tróficos

comparando com a rainha que mais consumiu ovos tróficos da colônia poligínica. Este fato é de grande importância, por estar provavelmente relacionado com a taxa de postura das rainhas (Wheeler, 1996; Velthuis *et al.*, 2001).

A colônia monogínica indiretamente revela a necessidade que têm as rainhas de receber ovos tróficos. Comprovamos que a duração do POP está relacionada com a quantidade e frequência com que a rainha consumiu ovos tróficos nos POPs anteriores. A rainha adia a postura de seu próprio ovo em relação crescente ao número dos POPs nos quais não recebeu ovo trófico e de fato, não passam mais de três POPs sem que receba ovo trófico. A rainha aumenta entre 15% e 35% a duração do POP na espera de um ovo. Em outras espécies estritamente monogínicas de *Melipona*, se menciona a grande variabilidade na duração da fase de pós-aprovisionamento, mas não foi possível entender seu significado, pois trataram de correlacioná-lo com a duração da fixação da rainha, ou com o intervalo entre oviposições (Sakagami *et al.*, 1965).

Quando na colônia poligínica, havia somente duas rainhas poedeiras, a probabilidade de realizar sozinha um POP aumentou em comparação com a condição com as três rainhas (Capítulo 3). As rainhas, ao preceder sozinhas um POP, conseguem semi-modular a duração da fase de pós-aprovisionamento, mas o padrão geral se perde, provavelmente por aqueles POPs precedidos pelas duas rainhas. Já com três rainhas o padrão se perde totalmente e é comum que transcorram mais de quatro POPs sem postura de operária. Em resumo, quanto maior o número de rainhas que uma colônia possua, maior a probabilidade de encontros em um POP e menor a capacidade de modular a duração do mesmo (e, portanto, de receber ovos tróficos). Nestes encontros, a prioridade parece ser a de colocar seu próprio ovo. Por outro lado, na colônia monogínica, podemos ver a rainha realmente esperando pelo ovo trófico. Velthuis *et al.* (2001) em colônia poligínica, mencionam que a fase de pós-aprovisionamento sem ovo trófico é mais curta que naqueles POP com ovo trófico. Estes resultados também refletem a espera pela postura de operária, e provavelmente acontecia nos POPs precedidos por uma só rainha. Os POPs curtos podem estar refletindo o afã

de várias rainhas por colocar seus ovos, em situações de competição. Num interessante trabalho feito por Darakjian & Imperatriz-Fonseca (1992) em colônias de *M. quadrifasciata*, procuraram verificar se a ocorrência de postura de operárias influía na duração das diversas fases do POP. Encontraram que tanto a fase de provisionamento como a fase de pós-provisionamento tendiam a ser mais curtas quando ocorria postura de operária, por causa da urgência das operárias para por seu próprio ovo.

Estes resultados mostram claramente a importância de receber ovos tróficos. Já que a função principal de uma rainha é a reprodução, podemos concluir que para a rainha consumir ovos tróficos e ovipositar são atividades fortemente interligadas. Na colônia poligínica, o menor consumo de ovos tróficos pode causar a diferença reprodutiva, assim como a cessação de oviposição das rainhas (Capítulo 3). A “pressa” do processo completo reflete o conflito entre colocar seus próprios ovos e esperar pela rica fonte de nutrientes que os ovos tróficos representam. Velthuis *et al.* (2001) concluíram que o “skew” reprodutivo é causado pela variação individual na taxa de maturação de ovos nos ovários, regulado pela quantidade de células disponíveis. Sobre esta hipótese, falaremos no próximo capítulo. Não vemos confrontos diretos entre as rainhas (Bego, 1989), mas podemos sentir o alto grau de competição e de conflito que existe entre elas.

Na colônia monogínica, 20 segundos parece ser tempo suficiente para a rainha ovipositar. Em outras espécies monogínicas de *Melipona*, a oviposição pode durar como mínimo 17 seg. para *M. flavolineata* (Maués-Venturieri 1991), e um máximo de 43 seg. para *M. subnitida* (Zucchi, 1977). Porém, 73% das 15 espécies estudadas precisam de um tempo menor a 30 seg. para ovipositar (Anexo 1). Assim, é pouco o tempo necessário para que os ovos passem pelos ductos reprodutivos de uma rainha. Em *M. bicolor*, qualquer operária demora em média 8 seg para botar ovos tróficos. Em 87% das espécies monogínicas estudadas (Anexo 1), esta postura varia entre 4 seg. (Giannini & Bego, 1998) e 8 seg. (Zucchi, 1977). Referimos a este aspecto, pois a diferença na duração de postura entre rainhas e operárias, pode não ser somente por causa do tamanho do abdômen, mas pode também estar relacionada com marcação feromonal do ovo de rainhas (Capítulo 3). É

conhecida a reação de repulsa das operárias a ovos recém-colocados de rainhas, enquanto os ovos tróficos são imediatamente consumidos.

Em nossas duas condições poligínicas, as rainhas podem gastar o dobro de tempo botando os seus ovos. Várias hipóteses podem ser feitas para explicar o fato: 1ª uma maior marcação feromonal do ovo, 2ª à pressa para monopolizar a célula quando o ovo ainda não estava pronto para ser expulso, ou 3ª a uma dominância ritualizada (Capítulo 3). Assumimos que não há anormalidades com os ductos reprodutivos, pois uma mesma rainha podia apresentar variações no período gasto para ovipositar. O conflito também se reflete no tempo que as rainhas gastam em ovipositar.

Outra situação que chama a atenção é que, na colônia monogínica, 97% das células são fechadas por uma operária. Na colônia poligínica, 40% das células foram fechadas por mais de uma operária. Observamos que muitas destas células não tinham o colar ou este estava incompleto. Pode acontecer que as rainhas que não conseguiam ovipositar estimulassem o POP em uma célula inacabada. Entretanto, o processo geral de opercular uma célula é mais rápido na colônia poligínica. Isto pode estar refletindo um estado de excitação generalizado entre as operárias, produzido pelo número maior de rainhas. A operculação de células em outras espécies de *Melipona*, apresentam grande variação na duração, e então não oferecem maiores esclarecimentos para nossa análise.

Parcerias reprodutivas não deveriam se formar a menos que exista algum aspecto onde dois ou mais indivíduos pudessem funcionar mais eficientemente que somente um. A poliginia pode ser vista como um caso especial de tamanho de grupo. O “melhor tamanho” deve estar relacionado com o *fitness* individual mas apropriado. Portanto se assume que o benefício ecológico da “cooperação” deriva de uma eficiência inerente alcançada por grupos (Seger, 1995). Mas em nosso caso a poliginia foi artificialmente induzida por rainhas não aparentadas. O que nossos resultados revelam, é como se manifesta a competição em uma espécie que não apresente agressão direta.

Nosso experimento revela mais. Na colônia monogínica, os POPs são mais prolongados, porém atraem um número menor de operárias. Por outro

lado, na colônia poligínica participa um número maior de operárias em POPs mais curtos. Apesar do conflito entre as rainhas, percebemos a eficiência da colônia poligínica pois conseguiu estimular um número maior de POPs traduzido em uma produção significativamente maior de ovos para um mesmo intervalo de tempo. Em um sentido demográfico, compartilhar a reprodução é mais eficiente para aumentar a população. Isto também acontece em outras espécies: em térmitas, a produção de ovos em colônias poligínicas é maior que nas monogínicas (Roisin & Pateels, 1985); em formigas, as colônias fundadas por pleometria criam mais operárias na primeira ninhada, que rainhas que fundam suas colônias independentemente (Wilson, 1974). É interessante que em formigas da subfamília Ponerinae, há espécies que apresentam tanto colônias poligínicas (com vários “*gamergates*”) quanto colônias monogínicas; espécies com colônias poligínicas geralmente apresentam uma população maior (Peeters, 1993). Já em abelhas, em quatro espécies da família Halictidae foi encontrado que à medida que aumenta o número de co-fundadoras, aumenta a produtividade em termos de produção de ovos do ninho (Packer, 1993). É assim que vemos como em diversos grupos de insetos sociais e semi-sociais a condição poligínica está relacionada com benefícios demográficos.

Acreditávamos que em *M. bicolor* repartir a reprodução poderia aumentar a longevidade das rainhas, mas se considerarmos a baixa entrada nutricional junto com o possível “stress” que a poliginia produz, concluímos que a poliginia é um mecanismo que deveria aparecer em casos de emergência demográfica. Também podemos dizer que a poliginia em *M. bicolor* não é uma condição estável e que deverá tender para a eliminação de rainhas, uma vez que a taxa populacional tenha alcançado seu ótimo. Devemos, porém, aguardar até que maior número de comparações entre colônias poligínicas e monogínicas confirmem nossos resultados.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Dr. Hayo H.W. Velthuis e ao Dr. Dirk Koedam pela colaboração durante a filmagem. Também agradecemos a Dr. Jacobus Beismejier e a Dra Judith Slaa pela valiosa ajuda com a interpretação dos dados. Este trabalho foi financiado pela FAPESP (Processo 99/00180-0).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, M. G. DE **Aspectos bionômicos, ecológicos e genéticos da abelha *Melipona scutellaris scutellaris* Latreille (1811)**. Dissertação, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo. 1974.
- ALONSO, W.J.; LUCENA, T.; FRACASSO, C.M.; VELTHUIS H.H.W. & IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. Do *Melipona bicolor* (Apidae: Meliponinae) workers distinguish relatedness among different physogastric queens? **Apidologie**, v.29, p.1-11, 1998.
- BARTZ, S.H. & HOLLDÖBLER, B. Colony founding in *Myrmecocystus mimicus* Wheeler (Hymenoptera: Formicidae) and the evolution of foundress associations. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v.10, p.137-147, 1982.
- BEGO, L.R. On some aspects of bionomics in *Melipona bicolor bicolor* Lepeletier (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v.27, n.3/4, p.211-224, 1983.
- BEGO, L.R. Behavioral interactions among queens of the polygynous stingless bee *Melipona bicolor bicolor* Lepeletier (Hymenoptera: Apidae). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.22, p.587-596, 1989.
- BUSCHINELLI, A. & STORT, A.C. Estudo do comportamento de *Melipona pseudocentris pseudocentris* (Cockerell, 1912). **Revista Brasileira de Biologia**, v.25, p.67-80, 1965.
- CAMILLO-ATIQUE C. **Variabilidade do comportamento de *Melipona rufiventris rufiventris* (Hymenoptera, Apoidea)**. Dissertação, Faculdade de Medicina, Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 1974.
- DARAKJIAN, P. **Aspectos da variabilidade do comportamento de postura nas células em *Melipona quadrfasciata* Lepeletier (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae)**. Dissertação, Instituto de Biociências - Universidade de São Paulo, 1991.
- DARAKJIAN, P. & IMPERATRIZ-FONSECA V.L. A influência da ocorrência de postura de operárias na estrutura temporal do processo de aprovisionamento e postura em colônias de *Melipona quadrfasciata* Lepeletier (Apidae, Meliponinae). **Ciência & Cultura**, suppl. V. 44, p.840. 1992.
- ELMES, G.W. & KELLER, L. Distribution and ecology of queen number in ants of the genus *Myrmica*. In: LAURENT KELLER (Ed.) **Queen number and sociality in insects**. USA, Oxford Science Publications 1993, p.294-307.

- GIANNINI, K.M. BEGO, L.R. On the oviposition behavior of *Melipona compressipes fasciculata* (Hymenoptera, Meliponinae). **Iheringia, Ser. Zoologia**, v.84, p.83-94, 1998.
- GREEN, S.B.; SALKIND, N.J. & AKEY, T.M. **Using SPSS for windows. Analyzing and understanding data**. 2nd Edition, Prentice Hall, New Jersey, 430pp, 2000.
- HEINZE, J. Queen-queen interactions in polygynous ants. In: LAURENT KELLER (Ed.) **Queen number and sociality in insects**. USA, Oxford Science Publications 1993, p.334-361.
- KERR, W.E. Algumas comparações entre a abelha européia (*Apis mellifera*, L.) e as abelhas nativas brasileiras (Meliponini). **O solo**, p.39-47, 1949.
- KLEINERT-GIOVANNINI, A. **Mecanismos de controle reprodutivo em *Melipona marginata* Lepeletier (Apidae, Meliponinae)**. Tese, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, 1989.
- MAUÉS-VENTURIERI, M. **Aspectos etológicos do processo de oviposição em *Melipona rufiventris flavolineata* Friese, 1900 (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae)**. Dissertação, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 1991.
- MORAIS, M.M. **Regulação social em *Melipona compressipes fasciculata* com especial referência à reprodução e produtividade das colônias (Hymenoptera, Apidae)**. Dissertação, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2003.
- NOGUEIRA-FERREIRA, F.H. **Ontogenia do processo de tratamento nas células de cria dos Meliponinae (Hymenoptera, Apidae)**. Tese, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 1991.
- PACKER, L. Multiple-foundress associations in sweat bees. In: LAURENT KELLER (Ed.) **Queen number and sociality in insects**. USA, Oxford Science Publications 1993, p.215-233.
- PEETERS, C. Monogyny and polygyny in ponerine ants with or without queens. In: LAURENT KELLER (Ed.) **Queen number and sociality in insects**. USA, Oxford Science Publications 1993, p.234-261.
- PORTUGAL-ARAUJO, V. Colônias naturais de rainhas múltiplas em *Apis mellifera* Linnaeus. In: **Anais do 4º Congresso Brasileiro de Apicultura**, L. Gonçalves (Ed.), Curitiba PR. 1976, p.173-178.
- RISSING, S.W.; JOHNSON, R.A.; POLLOCK, G.B. Natal nest distribution and pleometrosis in the desert leaf-cutter ant *Acromyrmex versicolor* (Pergande) (Hymenoptera: Formicidae). **Psyche**, v.93, p.177-186, 1986.
- ROISIN, Y. & PASTEELS J.M. Imaginal polymorphism and polygyny in the neoguinean termite *Nasutitermis princeps* (Desneux). **Insectes Sociaux**, v.32, n.2, p.140-157, 1985.
- SAKAGAMI, S.F. Stingless bees In: **Social insects Vol III**. H.R. Hermann (Ed.), Academic Press Inc. 1982, p.272-423.
- SAKAGAMI, S.F. & ONIKI, Y. Behavioral studies of the stingless bees, with special reference to the oviposition process. I. *Melipona compressipes manausensis* Schwartz. **Journal of the Faculty of Science, Hokkaido University, Series VI, Zoology**, v.15, p.300-318, 1963.
- SAKAGAMI, S.F. & ZUCCHI, R. Oviposition process in a stingless bee *Trigona (Scaptotrigona) postica* Latreille (Hymenoptera). **Studia Entomologica**, v.6, p.497-510, 1963.

- SAKAGAMI, S.F. & ZUCCHI, R. Estudo comparativo do comportamento de várias espécies de abelhas sem ferrão, com especial referência ao processo de aprovisionamento e postura das células. **Ciência e Cultura**, v.18, n.3, p.283-296, 1966.
- SAKAGAMI, S.F. & ZUCCHI, R. Oviposition behavior of an Amazonic stingless bee, *Trigona (Duckeola) ghiliani*. **Journal of the Faculty of Science, Hokkaido University, Series VI, Zoology**, v.16, p.564-581, 1968.
- SAKAGAMI, S.F.; BEIG, D. & KYAN, C. Behavioral studies of the stingless bees, with special reference to the oviposition process. IV. *Cephalotrigona femorata* (Smith). **Kontyû**, v.32, n.4, p.464-471, 1964.
- SAKAGAMI, S.F.; MONTENEGRO, M.J. & KERR, W.E. Behavioral studies of the stingless bees, with special reference to the oviposition process. V. *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lepeletier. **Journal of the Faculty of Science, Hokkaido University, Series VI, Zoology**, v.15, p.578-607, 1965.
- SAKAGAMI, S.F.; CAMILO, C. & ZUCCHI, R. Oviposition behavior of a Brazilian stingless bee, *Plebeia (Friesella) schrottkyi*, with some remarks on behavioral evolution in stingless bees. **Journal of the Faculty of Science, Hokkaido University, Series VI, Zoology**, v.19, n.1, p.163-189, 1973.
- SAKAGAMI, S.F.; ZUCCHI, R. & ARAÚJO, V.P. Oviposition behavior of an aberrant African stingless bee *Meliponula bocandeii*, with notes on the mechanism and evolution of oviposition behavior in stingless bees. **Journal of the Faculty of Science, Hokkaido University, Series VI, Zoology**, v.20, n.4, p.647-690, 1977.
- SEGER, J. Opportunities and pitfalls in co-operative reproduction. In: LAURENT KELLER (Ed.) **Queen number and sociality in insects**. USA, Oxford Science Publications 1993, p.1-15.
- SILVA, D.L.N. de, ZUCCHI, R., KERR, W.E. Biological and behavioral aspects of the reproduction in some species of *Melipona* (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). **Animal Behavior**, v.20, p.123-132, 1972.
- SOKAL, R.R. & ROHLF, F.J. **Biometry. The principles and practice of statistics in biological research**. 3rd Edition, W.H. Freeman and Company, New York, USA, 887p. 1997.
- SOMMEIJER, M.J.; BEUVENS, F.T. & VERBEEK, H.J. Distribution of labor among workers of *Melipona favosa* F: Construction and provisioning of brood cells. **Insectes Sociaux**, v.29, n.2, p.222-237, 1982.
- VEEN, J.W. VAN. Cell provisioning and oviposition in *Melipona beecheei* (Apidae, Meliponinae), with a note on caste determination. **Apidologie**, v.31, p.411-419, 2000.
- VELTHUIS, H.H.W.; A. ROELING, A. & IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. Repartition of reproduction among queens in the polygynous stingless bee *Melipona bicolor*. **Proceedings of the Section Experimental and Applied Entomology of the Netherlands Entomological Society (NEV)**. v.12, p.45-49, 2001.
- VELTHUIS, H.H.W.; PEREBOOM, Z.; KOEDAM, D. & IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. Cooperation and competition in a colony of the polygynous stingless bee *Melipona bicolor*, illustrated by the two kinds of worker eggs and the behaviors of workers laying them. **Proceedings of the Section Experimental and Applied Entomology of the Netherlands Entomological Society (NEV)**, v.14, p.49-52, 2003.

- VENTURIERI, G.C. **Aspectos etológicos e descrição do ninho, macho e fêmea de *Melipona puncticollis* Friese 1902 (Hymenoptera, Apidae)**. Dissertação, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 1991.
- WEST-EBERHARD, M.J. Polygyny and the evolution of social behavior in wasps. **Journal of the Kansas Entomological Society**, v.51, n.4. p.832-856, 1978.
- WHEELER, D. The role of nourishment in oogenesis. **Annual Review of Entomology**, v.41, p.407-431, 1996.
- WILSON, E. O. Social modifications related to rareness in ant species. **Evolution**, v.17, p.249-253, 1963.
- WILSON, E.O. The population consequences of polygyny in the ant *Leptothorax curvispinosus*. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 67, n.5, p.781-786, 1974.
- YAMASHITA, C. **Sobre o processo de posturas das células de cria de *Melipona marginata marginata* Lepeletier**. Monografia, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 1970.
- ZUCCHI, R. **Aspectos etológico-evolutivos da bionomia dos Meliponinae**. Tese de Livre Docência, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 1977.
- ZUCCHI, R.; SILVA-MATOS, E.V. DE; NOGUEIRA-FERREIRA, F.H.; AZEVEDO, G.G. On the cell provisioning and oviposition process (POP) of the stingless bees – Nomenclature reappraisal and evolutionary considerations (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae) **Sociobiology**, v.34, n.1, p.65-85, 1999.

ANEXO 1 DURAÇÕES E DADOS GERAIS SOBRE OS POP EM VÁRIAS ESPÉCIES DE ABELHAS DO GÊNERO MELIPONA

	Padrão de POP	Aprovisionamento Seg.	Pós-Aprovisionamento Seg.	Ovos Tróficos	Duração Postura Operária seg.	Taxa Postura Diária	Duração Postura Rainha Seg.	Duração Fechamento Seg.	Referências
<i>Melipona bicolor (monogínico)</i>		538±360 n=358	529,8±766,9 n=352	0 - 4	8,4±2,4 n=372	18,5±2,1 n=369	23,7±3 n=474	284,5±98,2 n=367	Cepeda Aponte (2003)
<i>Melipona bicolor (poligínico)</i>		453±268,3 n=219	167±162,3 n=226	0 - 2		24,3±5 n=486	35,9±23,7 n=229	200,6±89 n=220	
	Bs *Bf	349,4±129,9 n=24	40,1±0,9 n=15				31,0±5,0 n=22	271,2±110,5 n=15	Nogueira-Ferreira, 1998
<i>M. beecheei</i>	*Bs	840,0±425,0 ;983,0±612		0 - 5					Veen, 2000
<i>M. compressipes manaoensis</i>	*Bf	360,0±26,0	ausente	0 - 6	4,8±1,2		36,3±12,8	419,0±173,0	Sakagami & Oniki, 1963 Em: Camilo-Atique, 1974
<i>M. compressipes fasciculata</i>	Be (1-11)	107,0±34,0 n=24 180,0±80,0	28,1±21,4 n=89	0 - 5 0 - 8	4,1±1,2 n=22 4,6±22,5	27,0	19,8±4,6 n=46 17,8±2,5 n=89	436,1±164,5 n=21	Giannini & Bego, 1998 Morais, 2003
<i>M. favosa</i>	*Bs								*Zucchi <i>et al.</i> , 1999
<i>M. flavolineata</i>	Bf (1-3)	120,0±51,7	133,8±141,2 n=38	0 - 3	6,7±1,8 n=49	31,2 n=27	17,0±3,8 n=39	148,6±38,1 n=37	Maues-Venturieri, 1991
<i>M. marginata</i>	*Bs	150,5±13,2	ausente	0 - 2	6,0±1,0	27 a 30 27,6±7.6	17,55±0,24 n=xx	60,2	Yamashita, 1970 Em: Camilo-Atique, 1974 Zucchi, 1977 Kleinert-Giovannini, 1989
<i>M. pseudocentris</i>				0 - 3	6,1±0,7		23,0±4,2	254,0±19,7 276,0±66,0	Buschinelli & Stort, 1965 Em: Camilo-Atique, 1974
<i>M. puncticollis</i>	Bs	384,4±153,6 n=36		0 - 3	20,3±7,8 n=26	12,4±5,8 n=43	32,5±6,5		Venturieri, 1991
<i>M. quadrifasciata</i>	Bs	125,8±159,9 n=576	200,3±240,5 n=674	0 - 4			29,6±6,0 n=649		Darakjian, 1991
<i>M. quadrifasciata anthidioides</i>		126,5	ausente	0 - 2	7,0±2,0	13 a 24	24,6±5,2	83,1/-12,9	Sakagami <i>et al.</i> , 1965 Em: Camilo-Atique, 1974
<i>M. quinquefasciata</i>	Bf, Bs	46,1±9,4 n=37		0 - 3	7,0/-1,0 n=18	46,9	19,0/-2,9 n=145		Zucchi, 1977
<i>M. rufiventris</i>	Bf (1-5)	276,3±93,0		0 - 5	5,1±1,4 n=164	23,3±6,3	18,4±3,8 n=189	186,3±74,9	Camilo-Atique, 1974 Em Maues-Venturieri, 1991
<i>M. scutellaris</i>	Bf *Be	494,6±70,1 n=20	383,2±297,7 n=25		7,3±2,1 n=79 8,0±2,0		18,4±3,3 n=50	494,6±70,1 n=50 281,0±78,0	Almeida, 1974 Em: Camilo-Atique, 1974
<i>M. subnitida</i>				0 - 1	41,1±1,0	14,0	41,1±1,0	144,0 128,0	Carvalho, 1972; Em: Camilo-Atique, 1974
	Bs, Bf	127,0±8,9			7,9±2,1	15,0	42,8±5,7 n=153		Zucchi, 1977

CAPÍTULO 3

DA POLIGINIA À MONOGINIA: FATORES RELACIONADOS À
INTERRUPÇÃO DA POSTURA EM RAINHAS DE *Melipona bicolor*

CAPÍTULO 3

DA POLIGINIA À MONOGINIA: FATORES RELACIONADOS À INTERRUPÇÃO DA POSTURA EM RAINHAS DE *Melipona bicolor* (APIDAE-MELIPONINI)

ABSTRACT

There are hypotheses on which could be the necessary conditions that lead to stable multiple queen associations. Some hypothesis state mechanisms such as “staying incentives” for subordinated queens, and may be relevant for discussing the reversal process witnessed in a polygynous colony of *Melipona bicolor* that shifted to a monogynous condition.

In a polygynous colony, three queens were similar in various aspects. Egg laying or consumption of trophic eggs, presented no differences or discriminations and each queen had an equal chance to lay or eat. The queens were of the same age, so it could be expected that they would have a similar performance in egg laying. However, a clear reproductive skew developed. It was also clear that the duration of the provisioning and oviposition process (POP), revealed differences in the pace-marking for the queens principally when alone.

The present paper describes the possible relations between egg laying rate and nutritional factors. We discuss the possible existence of a queen pheromone, regulating the sealing behavior of the workers. Furthermore, workers might play a role in the contest for reproduction among multiple queens. In combination, these factors give rise to increasing differences among the queens resulting in egg laying cessation and disappearance of two of the queens from the comb.

RESUMO

Para entender a poliginia, perguntou-se quais seriam as condições necessárias que levariam a uma associação estável de rainhas. A hipótese sobre “incentivos para permanecer” para as rainhas subordinadas, pode ser relevante para discutir o processo inverso testemunhado em uma colônia poligínica de *Melipona bicolor* que retornou à condição monogínica.

Em nossa colônia poligínica, as três rainhas eram similares em vários aspectos. Não foram encontradas diferenças na competitividade na hora de ovipositar ou consumir ovos tróficos, nem discriminações por parte das operárias. Assim, cada rainha tinha igual oportunidade para pôr ovos ou se alimentar. As rainhas tinham idades semelhantes, e poder-se-ia esperar que o seu desempenho na produção de ovos fosse semelhante. Contudo, elas apresentaram uma clara desigualdade reprodutiva. Também ficou claro que a duração do processo de provisionamento e postura (POP) “*per se*”, revelou diferenças como um “marca-passo” das rainhas, especialmente quando estavam sozinhas nas células de cria.

A presente investigação descreve possíveis relações entre a taxa de postura das rainhas e fatores nutricionais. Discute-se sobre a provável existência de um feromônio que regularia, nas operárias, o comportamento de fechamento das células. Também se acredita que as operárias possam ter um papel importante no contexto reprodutivo entre múltiplas rainhas. Estes fatores combinados, teriam incrementado as diferenças entre as rainhas, o que levou à interrupção de postura e ao desaparecimento do favo, de duas das rainhas.

INTRODUÇÃO

Nos insetos sociais, caracteristicamente, muitas espécies possuem colônias com apenas uma rainha poedeira (monogínicas), enquanto outras espécies apresentam uma ou mais rainhas capazes de pôr ovos (poligínicas). Também existem casos em que o número de rainhas varia dentro da mesma espécie (Wilson, 1993). A partir de um ponto de vista evolutivo, nas formigas, Fletcher & Ross (1985) consideram a monoginia como a condição primitiva, enquanto a poliginia secundária (resultante da aceitação de outra rainha numa colônia), é considerada como uma característica derivada. Entretanto, a monoginia representa um estado estável, uma vez que a poliginia envolve o risco de uma ruptura da colônia devido à competição reprodutiva entre as rainhas (Bourke & Franks, 1995). Rainhas e operárias podem favorecer a poliginia secundária, desde que o custo de nidificar sozinha aumente acima de um certo limiar e, dessa forma, acrescentar uma rainha, poderia aumentar a sobrevivência da colônia (Seger, 1993). Na literatura a comparação entre espécies monogínicas e poligínicas é abundante. Entretanto, poucos estudos têm sido feitos em espécies facultativas, comparando a condição monogínica com a poligínica. A transição de uma condição para a outra, e vice-versa, foi apenas registrada em espécies de formigas que apresentam associações de fundadoras que se rompem quando a primeira cria eclode (Bourke & Franks, 1995).

O primeiro pesquisador que tentou dar uma explicação ecológica para a poliginia foi Wilson (1963). Ele concluiu que para espécies “raras” de formigas, as operárias teriam uma “modificação social” para a aceitação da poliginia, com a finalidade de aumentar o tamanho efetivo da população (Wilson, 1963). Elmes & Keller (1993), encontraram, em seis espécies de formigas do gênero *Myrmica*, uma correlação positiva entre o número de rainhas e o número de operárias. Uma possível explicação é que as operárias regulam o número de rainhas segundo as necessidades reprodutivas da colônia. Também encontraram que o número de rainhas responde aos fatores ecológicos espaciais e temporários. Locais mais quentes apresentavam colônias maiores, com um maior número de rainhas, e maior

número de operárias em relação ao número de rainhas, do que colônias de lugares mais frios. E com relação a efeitos temporários, em *Myrmica sulcinodis*, tanto o número de operárias como o de rainhas mudava a cada sete anos (Elmes, 1987 *apud* Elmes & Keller 1993). Um interessante estudo sobre a regulação do número de rainhas por operárias, realizado em *Solenopsis invicta*, (Fletcher & Blumm, 1983), demonstrou que cada rainha pode produzir, em diferentes proporções, os componentes de um “complexo feromonal”, fazendo com que cada uma tenha um odor único. Além disso, os mesmos autores encontraram uma correlação entre fecundidade e quantidade de feromônio. Eles constataram que as colônias monogínicas tendem a conservar a monoginia e propõem um mecanismo para mantê-la. Segundo esta teoria, a quantidade de feromônios da rainha que circulam em uma colônia, se mantém dentro de certa faixa ótima. Uma variação para mais ou para menos além desta faixa produz uma mudança no comportamento das operárias, que tenderiam a restabelecer o nível inicial de feromônio sacrificando as rainhas suplementares.

Nas abelhas sem ferrão, a presença de várias rainhas em uma colônia é comum. Entretanto, normalmente apenas uma rainha é fisogástrica, enquanto que as outras rainhas são provavelmente suas filhas, que emergiram recentemente. Estas últimas serão mortas em alguns dias, ou serão mantidas por algum tempo, aprisionadas em “câmaras reais” (Sakagami, 1982; Imperatriz-Fonseca & Zucchi, 1995). Nunca foi registrada a entrada de rainhas estranhas à colônia. A presença de mais de uma rainha fisogástrica foi documentada em *Melipona rufiventris flavolineata*, que apresentou 5 rainhas (Portugal-Araujo, 1976), e em *M. marginata*, com duas rainhas (Kleinert-Giovannini, 1989). *Melipona bicolor* parece ser a única espécie que é caracterizada por uma poliginia persistente, mas facultativa (Bego, 1989), que pode depender de sua dinâmica populacional. (Capítulo 2.).

O processo de provisionamento e postura (POP) é uma característica única das abelhas sem ferrão (Sakagami, 1982). Sakagami & Zucchi (1963), dividiram o POP em seis estágios, caracterizando cada um de acordo com um evento ou comportamento definido: 1) construção de célula; 2) “fixação da

rainha” também chamado de fase de pré-aprovisionamento, quando a rainha escolhe a célula onde o próximo ovo será colocado; 3) fase de aprovisionamento, caracterizada por sucessivas descargas de alimento larval na célula, feitas pelas operárias; 4) fase de pós-aprovisionamento, que é dividida em 4 subfases: 4a) ingestão de alimento pela rainha, que pode consumir um pouco do alimento larval da célula e/ou realizar oofagia; 4b) oviposição, quando a rainha bota seu ovo; e 4c) fechamento da célula ou operculação, na qual a célula é fechada por uma ou mais operárias. Essa divisão foi modificada por Zucchi e col. (1999), que detalharam o período de oviposição e o período entre as oviposições, determinando uma série de sub-componentes que variam conforme o taxon.

Em *M. bicolor* somente uma célula é aprovisionada de cada vez. Em colônias poligínicas, a estrutura do POP promove a presença simultânea de mais do que uma rainha em uma dada célula, gerando assim um conflito não agressivo (Bego, 1989). As rainhas podem então competir em dois aspectos: ingestão de alimento e postura. Porque a oogênese é comumente um processo limitado em termos nutritivos, qualquer fator que afete a aquisição de nutrientes influenciará a produção de ovos. Os ovos geralmente contêm todos os recursos nutricionais necessários ao desenvolvimento embrionário, então adquirir nutrientes tem um papel central na biologia reprodutiva, e a ausência de nutrição inibe o desenvolvimento do ovo (Wheeler, 1996). Em outras palavras, as rainhas devem comer para assegurar futuras posturas, e elas devem pôr ovos para se reproduzir. Nos meliponíneos, as rainhas podem se alimentar de três maneiras: primeiro através de ovos tróficos, que são as fontes mais importantes de proteínas para as rainhas, e são considerados como ovos especializados das operárias para o consumo pelas rainhas (Sakagami, 1982; Jungnickel, *et al.*, 2001; Koedam, *et al.*, 2001; Velthuis *et al.*, 2003). A segunda forma ocorre quando a rainha come alimento larval diretamente das células aprovisionadas. Finalmente, a terceira maneira é quando elas são alimentadas pelas operárias, via trofalaxis (Sakagami; 1982). Os ovos tróficos provavelmente têm um papel mais relevante na postura devido a seu alto teor protéico (Velthuis, *et al.*, 2001; 2003), criando um ciclo, onde um maior consumo de ovos tróficos aumentaria a oviposição, e vice-versa.

Em *M. bicolor*, algumas análises feitas em várias colônias demonstraram que há um desvio (*skew*) na produção de ovos entre as rainhas (Velthuis *et al.*, 2001). Um “*skew* não reprodutivo” se refere a uma partilha ou distribuição de ovos que dá origem à operárias estéreis. Por outro lado, um “*skew* reprodutivo” se refere aos ovos que produzem machos e rainhas (Reeve & Ratnieks, 1993). Alguns autores não consideram esta diferenciação entre *skew* não reprodutivo, e *skew* reprodutivo, e identificam as diferenças na produção de ovos entre as rainhas como uma dominância reprodutiva. Keller (1988) sugere outra definição da hierarquia reprodutiva como sendo baseada no sucesso reprodutivo (maior produção de sexuais), mais do que sobre o número de ovos colocados, aspecto que ainda não foi estudado em *M. bicolor*. Reeve & Ratnieks (1993) desenvolveram um modelo que fornece previsões sobre *skew* estáveis para uma colônia individual sob diferentes restrições ecológicas. Eles questionam o quanto da reprodução de uma rainha dominante deveria ser cedida para as rainhas subordinadas, para assegurar que elas permaneçam. Este modelo teórico não considera as operárias como capazes de modular ou influenciar o número de rainhas, e o sucesso reprodutivo de cada rainha.

Dentro de um ninho escuro, a comunicação pode ser mecânica e química. Os feromônios estão envolvidos no reconhecimento, sinalização, reações comportamentais e provavelmente, na competição entre as rainhas, e entre estas e as operárias. Várias observações têm levado à conclusão de que rainhas manipulam as operárias quimicamente, de tal forma que elas se comportem de maneira que aumente o *fitness* das rainhas, às custas das próprias operárias. Entretanto, discute-se que o controle feromonal provavelmente funciona como sinal genuíno, e que as respostas das operárias são dirigidas para aumentar o seu próprio *inclusive fitness* (Keller & Nonacs, 1993). Existe evidência de que a produção de feromônios pela rainha é positivamente correlacionada com sua fertilidade, e que as operárias matam rainhas com baixa fertilidade (Fletcher & Blum; 1983). Entretanto, isto não foi verificado em meliponíneos.

As operárias podem selecionar suas rainhas direta ou indiretamente em uma colônia poligínica de *M. bicolor*? Existem interações entre rainhas produzindo um efeito inibidor de uma sobre a outra? Isto poderia estar relacionado ao fato de que as rainhas podem interromper e reiniciar sua postura, como registrado por Velthuis, e col. (2001). Para tratar estas questões, estudamos uma colônia de *M. bicolor* em que a mudança de poliginia para monoginia ocorreu em um curto período de tempo. Procuramos verificar se esta mudança estava relacionada com diversas variáveis, tais como o número de ovos tróficos consumidos, o número de ovos ovipositados, a duração do ato da postura, e o intervalo de tempo em que o ovo ficou exposto antes da chegada da primeira operária operculadora. Discutimos ainda se estes fatores poderiam ser considerados como indicadores da interrupção da postura.

MATERIAL E MÉTODOS

Para realizar as observações, uma colônia de *Melipona bicolor* foi alojada em uma colméia de observação e colocada dentro de uma caixa de incubação, com temperatura controlada a 27 ± 3 °C. As operárias da colônia podiam forragear livremente através de um tubo plástico conectado com o lado de fora do laboratório. Porém, para assegurar que o alimento estivesse presente em abundância, uma mistura de pólen e mel de *Apis* foi fornecida diariamente às abelhas. Tratava-se de uma colônia forte, com mais de 500 operárias.

Três meses antes das observações começarem, a colônia foi transformada artificialmente em poligínica, através da adição de duas rainhas fisogástricas marcadas no tórax (B e C), enquanto a própria rainha da colônia (A), permaneceu não marcada. Um estudo prévio sobre reconhecimento em *M. bicolor*, demonstrou que as operárias não discriminam entre rainhas de diferentes graus de parentesco, ou mesmo entre rainhas não aparentadas (Alonso, *et al.*, 1998). Durante os três meses após a introdução das rainhas B e

C, ambas colocaram ovos regularmente. Portanto, os descendentes de cada rainha estavam presentes quando nossas observações foram iniciadas.

Foram realizadas observações do Processo de Aprovisionamento e Postura (POP, do inglês *Provisioning and Oviposition Process*), de 14 de outubro até 3 de novembro de 2000. Filmagens contínuas em vídeo foram feitas para coletar informação sobre todos os POP que ocorreram no favo. Estes registros foram feitos dentro de uma “câmara escura portátil”, (composta de placas de madeira coladas formando um quadrado, com um dos lados com uma cortina de feltro preto), iluminada com luz vermelha, que não perturba as abelhas notoriamente.

A rainha C desapareceu 260 h depois de começarmos a filmagem e foi encontrada viva no final das observações. Três semanas depois de encerradas estas observações, a rainha B não apareceu mais no favo. Devido ao desaparecimento da primeira rainha, o conjunto de dados foi dividido e analisado em dois períodos baseado no número de rainhas colocando ovos, ou seja, três ou duas. Estes períodos serão chamados aqui de PERÍODO I e PERÍODO II, respectivamente.

No começo das observações, as idades das rainhas eram: 176 dias para a rainha A, 165 dias para a rainha B e 222 dias para a rainha C. A diferença de idade entre as rainhas variou apenas de 11 a 55 dias (Tabela II).

Para as descrições e análise, os seguintes dados foram obtidos:

- Identificação da(s) rainha(s) presente(s) em cada POP
- Duração do POP, do momento da primeira descarga de alimento até a chegada de uma operculadora. O impacto do número de rainhas também foi considerado. A fase de pré-aprovisionamento não foi considerada, porque é difícil definir objetivamente o momento em que ela começa.
- Número de ovos tróficos consumidos por rainha, considerando se ela estava sozinha ou participando do POP com outra(s) rainha(s) (Velthuis, *et al.*, em prep).

- Número de ovos postos pela rainha, considerando se ela estava sozinha ou participando do POP com outra(s) rainha(s) (Velthuis, *et al.*, em prep).
- Duração da postura efetiva ou propriamente dita pela rainha
- Intervalo de tempo entre o momento em que rainha deixa a célula após a postura e a chegada da primeira operculadora, que é o período em que o ovo ficou exposto.

Análises estatísticas incluíram o teste de Wilcoxon, o teste pareado, o teste de Cochran, o teste de χ^2 , a correlação de Spearman e o teste U de médias de Mann-Whitney (Sokal & Rohlf, 1997; Green, *et al.*, 2000).

RESULTADOS

Considerações gerais

Um total de 508 POP foi registrado em 496 h de filmagens contínuas. Devido a alguns problemas durante a filmagem, algumas partes dos filmes não foram registradas, como por exemplo o começo e o final de alguns POP. Portanto, o número de dados utilizado e apresentado nas figuras e tabelas, foi diferente do número total de POP registrados, e variou dependendo do parâmetro analisado.

A rainha C parou de pôr ovos depois de 260 h de observação; por esta razão dividimos os dados em dois períodos: o desaparecimento da rainha C do favo marcou o fim do que chamamos de PERÍODO I (n=241 POP). O PERÍODO II, portanto, incluiu apenas a participação das rainhas A e B (n=237 POP). Para facilitar a leitura, a maioria dos resultados numérica está apresentada na Tabela II.

Duração dos processos de provisionamento e postura (POP)

Os POP foram ora realizados por uma única rainha, ou por combinações de 2 ou 3 rainhas simultaneamente. Para cada um dos períodos, a duração média dos POP (PERÍODO I, n=213; PERÍODO II, n=235) com todas as combinações de rainhas são mostrados na Tabela I.

TABELA I: DURAÇÃO MÉDIA (MIN) DO POP E SIGNIFICÂNCIA (p, TESTE DE MANN-WHITNEY) COM A PRESENÇA DE DIFERENTES COMBINAÇÕES DE RAINHAS de *M. BICOLOR* (N= NÚMERO DE POP).

PERÍODO I							PERÍODO II		
A-I	B-I	C-I	AB-I	AC-I	BC-I	ABC-I	A-II	B-II	AB-II
13±7 (n=33)	10±5 (n=36)	10±5 (n=6)	11±6 (n=58)	12±5 (n=24)	9±4 (n=15)	12±4 (n=41)	13±5 (n=95)	13±6 (n=54)	12±6 (n=86)
B-I							P>0,005 P =0,005		
AB-I							P>0,005		

O PERÍODO I, com as três rainhas, foi em média mais curto que o PERÍODO II, quando apenas duas rainhas permaneceram (PERÍODO I: 11±5 min, n=213; PERÍODO II: 13±6 min, n=235; teste Mann-Whitney, p<0,005). Dentro de cada período, as durações das diversas combinações não foram significativamente diferentes (sete combinações dentro do PERÍODO I, p=0,2; 3 combinações dentro do PERÍODO II, p=0,2; teste de Kruskal Wallis). Entretanto, comparando todas as combinações dentro de ambos os períodos, produziram uma diferença significativa (dez combinações dentro de ambos os PERÍODOS I e II, p<0,005, Kruskal Wallis). Os testes U, usados como *Pós Hoc* com um nível de significância de p<0,005, revelaram que no período II, quando a rainha A estava sozinha, a duração do POP foi significativamente mais longa, quando comparada com a rainha B, e a combinação AB do período I (Tabela I). Também parece que quando sozinha, a rainha B aumentou a duração do POP, quando comparada a seu próprio desempenho, no período I (Tabela I).

Portanto, a duração do POP (n=448) aumentou com a saída da primeira rainha (Fig. 01); enquanto que a rainha A conservou seu ritmo, a rainha B aumentou significativamente a duração dos POP em que ela participou.

FIGURA 01: DURAÇÃO DO PROCESSO DE POSTURA E APROVISIONAMENTO (POP) EM *M. BICOLOR*, NOS DOIS PERÍODOS DE OBSERVAÇÃO (N= 448 POP).

Participação no POP

Durante o PERÍODO I, com as três rainhas com participação ativa nos POP (n=241), o teste de χ^2 provou que o número de POP em que a rainha C participou (n=94) foi significativamente menor que das rainhas A e B (n=175 e n=168 respectivamente, Fig. 02). Numa dada célula, os encontros da rainha C com qualquer uma ou ambas outras rainhas foram muito freqüentes, e a probabilidade da rainha C ficar sozinha foi somente de 3%, enquanto que para as rainhas A e B esta probabilidade foi de 15% e 18%, respectivamente. Durante o PERÍODO II (n=267), quando a rainha C parou a postura, a porcentagem de POP em que as rainhas A e B ficaram sozinhas em uma célula aumentou para 41% e 24%, respectivamente. Mas enquanto a probabilidade para a rainha A estar presente em um POP aumentou, proporcionalmente ao número de POP do PERÍODO I, a rainha B diminuiu sua participação (Fig. 02, Tabela II).

FIGURA 02: PRESENÇA DAS RAINHAS A, B E C DE *M. BICOLOR* NOS POP: COMPARAMOS O NÚMERO DE POP QUE CONTARAM COM SUA PRESENÇA, E O NÚMERO DE POP ONDE ESTAVAM SOZINHAS, NOS DOIS PERÍODOS DE OBSERVAÇÃO.

Consumo de ovos tróficos

Quantos ovos tróficos a rainha de uma colônia poligínica pode conseguir? Durante o PERÍODO I, enquanto as rainhas A e B comeram cada uma 46% dos ovos tróficos colocados pelas operárias (n=122 ovos tróficos), o restante 8% foram consumidos pela rainha C (Fig. 03).

Existe uma rainha dominante ou mais forte que “ganha” a maioria dos ovos tróficos? Quando mais de uma rainha estava presente na célula, todas elas tinham igual chance de comer um ovo trófico (teste de Wilcoxon: encontros: AB, $p=0,1$; BC, $p=0,4$; AC, $p=0,7$ e Cochran para ABC, $p=0,8$). Durante o PERÍODO II (n=139 ovos tróficos), a rainha A aumentou o consumo de ovos tróficos para 63%, e a rainha B comeu significativamente menos do que no período anterior, ou seja 37% ($p<0,005$, teste χ^2).

FIGURA 03: PORCENTAGEM DE OVOS TRÓFICOS CONSUMIDOS PELAS RAINHAS A, B E C DE *M. BICOLOR*, NOS DOIS PERÍODOS DE OBSERVAÇÃO.

Quantidade de ovos postos

Durante o PERÍODO I, o número de ovos postos pelas rainhas A (n=101) e B (n=89) não foi significativamente diferente, enquanto que a rainha C colocou praticamente a metade da quantidade de ovos postos pelas outras rainhas (n=52) (Fig. 04), e então desapareceu do favo (Tabela II). No PERÍODO II, quando as rainhas A e B tornaram-se as únicas poedeiras, a rainha A colocou 62% do número total de ovos, aumentando notavelmente sua contribuição de ovos, enquanto que a rainha B manteve sua taxa de postura (Fig. 04; Tabela II). Quando as rainhas A e B estiveram presentes em uma célula, o teste χ^2 não mostrou nenhuma diferença (A, n=56; B, n=38, $p>0,05$), demonstrando que elas tinham chances iguais de ovipositar. Quando as rainhas A e B estiveram sozinhas, o teste χ^2 mostrou que havia diferença significativa (A n=108; B n=64, $p<0,005$, Tabela II).

FIGURA 04: PORCENTAGEM DE OVOS POSTOS PELAS RAINHAS A, B E C DE *M. BICOLOR*, NOS DOIS PERÍODOS DE OBSERVAÇÃO.

Duração do tempo de permanência sobre a célula no ato de pôr um ovo

Em todas as situações, isto é, estar sozinha ou junto com outra(s) rainha(s) numa célula, o ato de botar um ovo dura um tempo tipicamente individual para cada rainha (para todas as combinações de rainhas, $p<0,005$, teste U). A postura da rainha A sempre durou mais do que a das outras rainhas (Fig. 05, acima da linha laranja), seguida pela rainha B, enquanto que a mais rápida poedeira foi a rainha C (Fig. 05, abaixo da linha rosa), (Tabela II). O tempo da

oviposição variou mais para a rainha A. Quando se compara o desempenho da mesma rainha para os dois períodos, encontramos que ambas as rainhas A e B, mudaram significativamente o tempo gasto na postura (AI x AII, $p < 0,05$; BI x BII, $p < 0,005$, teste U).

FIGURA 05: MÉDIAS (CÍRCULOS) E DESVIOS PADRÕES (BARRAS) PARA A DURAÇÃO DO TEMPO DE POSTURA NAS RAINHAS A, B E C DE *M. BICOLOR*.

AS LETRAS REFEREM-SE ÀS RAINHAS, E OS NÚMEROS AOS PERÍODOS; ASSIM A-I, REFERE-SE À RAINHA A, NO PERÍODO I, E ASSIM POR DIANTE. QUANDO DUAS DAS TRÊS RAINHAS ESTAVAM PRESENTES, A PRIMEIRA LETRA MAIÚSCULA REPRESENTA AQUELA QUE EFETIVOU A POSTURA. (N= ENCIMA DE CADA CASO)

Quando comparamos os efeitos da postura de uma rainha sobre a outra rainha (Fig. 05), o teste de Kruskal Wallis apontou diferenças significativas ($p < 0,005$). A rainha A na presença da rainha C diminuiu drasticamente seu tempo médio gasto na postura (Fig. 05, AC-I). Por outro lado, quando a rainha B encontra a rainha C, a primeira aumenta a duração média para pôr seu ovo (Fig. 05, BC-I). Isto poderia representar o reconhecimento de hierarquia, sendo $A > B > C$.

Lapso de tempo de exposição do ovo

Conforme já mencionado, quando uma rainha bota um ovo, a célula é subsequenteiramente fechada por uma operária. Neste momento e durante o período de exposição do ovo, as operárias respondem retraindo-se da célula

evitando ficar perto dela até que uma operária comece a fechá-la. Este “comportamento de evitar” poderia indicar a presença de um feromônio.

O lapso de tempo entre a finalização da postura da rainha na célula o seu fechamento por uma operária, varia entre as rainhas (Fig. 06). As análises usando o teste U demonstraram que levou significativamente mais tempo para a operculação começar para os ovos da rainha que estava prestes a cessar a postura, ou seja, a rainha C, no primeiro período e da rainha B, para o segundo (Fig. 06, acima da linha azul). Durante o primeiro período, houve uma diferença significativa do tempo de exposição do ovo (Kruskal Wallis, $p < 0,05$); os ovos da rainha C permaneceram expostos mais tempo (Fig. 06, A comparada com C, $p < 0,05$; B comparada com C, $p < 0,005$), enquanto que entre as rainhas A e B não houve diferença significativa ($p > 0,05$, Tabela II). Entretanto, a similaridade entre as rainhas A e B mudou significativamente ($p < 0,05$), uma vez que a rainha C desapareceu do favo (Tabela II). Finalmente, quando comparamos o lapso de tempo de exposição do ovo para a mesma rainha nos dois períodos, não encontramos diferença significativa para a rainha A ($p = 0,16$), enquanto que para a rainha B este lapso de tempo aumentou significativamente ($p < 0,005$, Tabela II).

FIGURA 06: MÉDIAS (CÍRCULOS) E DESVIOS PADRÕES (BARRAS) PARA A DURAÇÃO DO TEMPO DE EXPOSIÇÃO DOS OVOS COLOCADOS PELAS RAINHAS A, B E C DE *M. BICOLOR*. AS LETRAS REFEREM-SE ÀS RAINHAS, E OS NÚMEROS AOS PERÍODOS; ASSIM A-I, REFERE-SE À RAINHA A, NO PERÍODO I, E ASSIM POR DIANTE. (N= ACIMA DE CADA CASO).

Relação entre a duração da postura propriamente dita e o lapso de tempo de exposição do ovo

Supomos que se a rainha ficasse durante mais tempo junto à célula, isto significaria que ela estaria depositando mais feromônio, e assim atrairia uma operária mais rapidamente, para que ela operculasse a célula. Entretanto, os resultados não mostraram fortes correlações e, portanto, não confirmaram nossa idéia. Nós checamos a existência de uma relação entre a duração da postura propriamente dita e o tempo que o ovo permaneceu exposto. Encontramos uma correlação negativa (Fig. 07a, Coef. Corr. 0,13, $p < 0,005$, $n = 483$). Neste caso, as identidades das rainhas não foram consideradas.

Quando consideramos cada rainha separadamente, encontramos uma correlação significativa entre o tempo gasto na postura do ovo e o tempo que ele ficou exposto, somente para as rainhas A e C (Fig. 07b, rainha A: Coef. Corr. – 0,14, $p < 0,05$, $n = 248$; rainha B: $p = 0,5$, $n = 186$; rainha C: $p < 0,05$, $n = 49$)

FIGURA 07: CORRELAÇÃO ENTRE O TEMPO GASTO PARA A POSTURA DOS OVOS DAS RAINHAS DE *M. BICOLOR*, E O INTERVALO DE TEMPO DE EXPOSIÇÃO DO OVO, ANTES DA CÉLULA SER OPERCULADA: A) CORRELAÇÃO GERAL; B) CORRELAÇÃO CONSIDERANDO CADA RAINHA INDEPENDENTEMENTE.

Entretanto, é notável que somente a rainha A apresentou uma correlação negativa. Com base nas médias para cada variável separadamente (Fig. 08), verificamos que o contraste entre o tempo em que a rainha permaneceu na célula e a exposição do ovo foi claro para a rainha A, enquanto que para as outras rainhas existiu apenas uma tendência, mas que foi encoberta pela sua variância.

A Tabela II apresenta um resumo dos principais resultados para cada uma das variáveis analisadas.

TABELA II: COMPARAÇÕES DO DESEMPENHO DAS DIFERENTES DAS RAINHAS de *M. BICOLOR* NOS POP.

	RAINHA A		RAINHA B		RAINHA C	UNIDADE
	PERÍODO I	PERÍODO II	PERÍODO I	PERÍODO II	PERÍODO I	
IDADE	176		165		222	DIAS
DURAÇÃO DO POP	13±7	13±15	10±5	13±6	10±5	MIN
PRESENÇA NO POP	175	203	168	158	94	#
SOZINHA	37	109	44	64	6	#
ENCONTRO	138	94	124	94	88	#
PROBABILIDADE DE ESTAR PRESENTE	73	76	70	59	39	%
PROBABILIDADE DE ESTAR SOZINHA	15	41	18	24	3	%
OVOS TRÓFICOS CONSUMIDOS	56	87	56	52	10	#
SOZINHA	29	70	36	42	3	#
ENCONTRO	27	17	20	10	7	#
PROBABILIDADE DE COMER OVOS TRÓFICOS	46	63	46	37	8	%
OVOS POSTOS	101	164	89	102	52	#
SOZINHA	37	108	44	64	6	#
ENCONTRO	64	56	45	38	46	#
PROBABILIDADE DE PÔR UM OVO	42	62	37	38	21	%
— DURAÇÃO DA POSTURA	53±29	53±39	28±7	28±5	19±9	X ±S (SEG)
	94	158	87	99	50	#
— DURAÇÃO DA EXPOSIÇÃO DO OVO	14±12	19±16	19±23	24±23	23±16	X ±S (SEG)
	92	157	86	99	49	#

DISCUSSÃO

A máxima longevidade observada para rainhas de *M. bicolor* foi de sete anos (Drummond, com. pessoal), quando não perturbadas. Sob condições de laboratório Imperatriz-Fonseca observou que elas podem viver de 18 meses a dois anos (com. pessoal). Portanto, nossas três rainhas eram bastante jovens. Além disso, a postura ou consumo de ovos tróficos, não mostrou discriminações e cada rainha teve chances iguais para realizar postura ou comer ovos.

Em cada um dos dois períodos, uma das rainhas colocou um número significativamente menor de ovos que a(s) outra(s), e também comeu menor número de ovos tróficos. As mesmas rainhas diminuíram sua participação nos POP e apresentaram uma menor probabilidade de estar sozinhas numa célula. Porque ovos tróficos são mais freqüentemente colocados em POP onde existe apenas uma rainha (Velthuis *et al.*, 2001), a probabilidade baixa de estar sozinha num POP também diminui o número de ovos tróficos que uma rainha pode ingerir. Estas rainhas também apresentaram tempos particularmente curtos de postura, e seus ovos ficaram expostos por períodos maiores de tempo, antes que a operculação da célula começasse. Estes foram os sinais apresentados pelas rainhas C e B pouco antes de interromperem a postura. É importante ressaltar que estas diferenças não foram encontradas entre as rainhas A e B enquanto a rainha C ainda estava presente, mas surgiram entre as rainhas A e B no segundo período. Estes fatos são considerados como indicadores de falha reprodutiva.

Velthuis e col. (2001) encontraram resultados similares em seis colônias de *M. bicolor* que possuíam de duas a cinco rainhas. A diferença reprodutiva que eles encontraram foi muito variável, mostrando desde uma colônia em que duas rainhas dividiram igualmente a reprodução (baixo *skew*) até colônias em que uma rainha podia praticamente monopolizar a reprodução (alto *skew*). A produção de sexuais não foi acompanhada para cada rainha. Entretanto, qualquer rainha que estivesse sozinha no POP, tinha uma chance de 50% de obter um ovo trófico e de pôr o seu próprio ovo. A

taxa de construção de células foi considerada um importante mecanismo regulador da ingestão relativa de ovos tróficos: se muitas células eram construídas, a possibilidade do encontro de duas ou mais rainhas numa célula diminuía e, conseqüentemente, havia um aumento na chance da rainha receber um ovo trópico. Quando poucas células eram construídas, o oposto ocorria. Infelizmente nenhuma ocorrência de interrupção de postura foi mencionada nestas observações e, portanto, estes resultados não podem ser considerados como indicadores de tal processo. Poderia acontecer que o *skew* destas colônias estivesse estável, talvez porque a média de produtividade de ovos estivesse abaixo do ótimo. Em outras palavras, as colônias necessitavam todas as rainhas, então nenhuma rainha interrompeu sua postura.

Nossa colônia tinha 534 operárias, o que é considerado um número grande, desde que colônias fortes poligínicas de *M. bicolor* possuem em média 560 operárias (dados não publicados). Em espécies sociais caracterizadas por um pequeno até moderado tamanho, tais como *M. bicolor*, a taxa de crescimento é limitada pelo número de operárias, e não pelo número de rainhas (Wilson, 1974). Michener (1964) mencionou que em várias taxa de abelhas sem ferrão existe um declínio em produtividade por operária quando o número de operárias aumenta, e Wilson (1971) chamou este comportamento de “efeito de reprodução” (*reproductive effect*). Esta informação nos faz considerar a possibilidade de que operárias de *M. bicolor* estão indiretamente se livrando de uma suposta superpopulação, que um maior número de rainhas poedeiras representaria. Seria possível que um mecanismo de homeostase regulasse a poliginia facultativa de *M. bicolor*? Como Velthuis e col. (2001) propuseram, a disponibilidade de novas células pode regular encontros de rainhas durante os POP, e os encontros diminuem a probabilidade da liberação de ovos tróficos. Embora todas as rainhas tenham uma chance igual de consumir um ovo trópico, com mais rainhas na colônia, será maior a probabilidade de encontros entre elas, e assim a liberação de ovos tróficos seria reduzida. Isto representa uma diminuição da ingestão de proteínas que leva a uma redução da taxa de postura da rainha subalimentada. Engelmann (*apud*. Wheeler, 1996) afirma que a subalimentação

em fêmeas adultas tende a resultar em supressão da produção de ovos. Se a disponibilidade de células é o mecanismo que modula a ingestão de ovos tróficos, o reconhecimento de parentesco não precisa ser necessário. Em vista do fato que nossa colônia em particular não produziu sua condição poligínica, mas foi forçada a aceitá-la, podemos dizer que desde que as operárias não discriminam entre rainhas de diferentes graus de parentesco, ou mesmo entre rainhas não aparentadas (Alonso, *et al.*, 1998), nosso experimento pode apoiar a possível existência de controle indireto através da demanda e oferta de células. Este mecanismo poderia passivamente ser sido desencadeado quando introduzimos duas outras rainhas. Assim, nós produzimos uma demanda de células e uma competição entre as rainhas para participar de um POP sozinha, e assim receber os ricos ovos tróficos. Isto pode ser inferido pelo aumento significativo nas durações dos POP quando a rainha C desapareceu e a probabilidade de participar de um POP sozinha aumentou. No período II quando as rainhas A e B estavam sozinhas, a duração do POP aumentou significativamente. Nós levantamos a hipótese de que elas estavam esperando por ovos tróficos (Capítulo 2). Keller (1988), discute que a supremacia de postura (*laying primacy*) pode ser atribuída a diferenças fisiológicas entre as rainhas, o que pode estar muito relacionado à ingestão de alimento diferenciada, como em nosso caso. Há evidências de que a taxa de produção de ovos é limitada pela nutrição em vários insetos sociais. Nas abelhas melíferas a quantidade de pólen ingerida está diretamente relacionada à taxa de postura das rainhas (Chauvin, 1956). Na formiga *Iridomyrmex humilis*, as operárias também produzem ovos tróficos e a taxa de postura da rainha está diretamente correlacionada com o consumo de ovos tróficos (Bartels, 1968).

Reeve e Ratnieks (1993) basearam seus modelos teóricos para a realização da estratégia evolutivamente estável de *skew* de reprodução, na existência de “incentivos para permanecer” da rainha dominante para a subordinada, e a magnitude deste incentivo dependeria do grau de parentesco entre elas. O incentivo é a “permissão para a postura”. Em nossos resultados, a rainha A “preencheu o espaço” deixado pela rainha que deixou o favo (rainha C); em outras palavras, a rainha A tomou de volta o

incentivo, exatamente como o modelo propõe quando o grau de parentesco é pequeno, ou não existe, como no nosso caso. Mas então surge uma questão: as operárias parecem não reconhecer o parentesco, porque então deveriam as rainhas? A entrada de rainhas estranhas à colônia nunca foi registrada, mas isto não significa que seja impossível de acontecer.

Se as operárias devem selecionar para deixar viver apenas a fêmea mais produtiva, as rainhas também devem ser capazes de sinalizar ou demonstrar sua fecundidade (Bourke & Franks; 1995). Em vespas, feromônios são produzidos durante a oviposição (Edwards; 1980). Rainhas de vespas liberam feromônios dentro da célula quando elas ovipositam, provavelmente para evitar oofagia pelas operárias e/ou pelas outras rainhas, no caso de espécies poligínicas. Em *M. bicolor*, a reação das operárias e das rainhas vizinhas à célula recém ovipositada é muito típica, uma vez que elas literalmente escapam da célula onde um ovo foi colocado e está exposto. Em nossos resultados, as rainhas que deixaram o favo gastaram menos tempo ovipositando e seus ovos ficaram mais tempo expostos. Nós lançamos a hipótese de que estas diferenças estão indicando que alguma coisa mudou, provavelmente na composição feromonal e/ou em sua quantidade, e portanto, no sinal verdadeiro (*honest signal*) emitido pelo ovo de cada rainha para as operárias. Deficiência de proteína também poderia estar ligada a esta diferenciação. Também acreditamos que a postura pode ter duas fases: um tempo relativamente constante para ovipositar *sensu strictu*, e um tempo variável para marcar o ovo, ou depositar feromônio. Isto se baseia nos recentes resultados obtidos em outra colônia de *M. bicolor*; quando a duração da postura da rainha (média=23,9±7,2 seg, n=374) foi comparada com a duração da postura de ovos tróficos pelas operárias (média= 8,3±2,1 seg, n=262). A postura de ovos tróficos não provocou a reação de evitar na rainha, ou nas outras operárias, e levou significativamente menos tempo para ocorrer (Capítulo 4).

Por outro lado, desde que a rainha B apresentou coeficientes de correlação bastante baixos entre o tempo gasto para ovipositar e o tempo em que seus ovos permaneceram expostos, isto poderia indicar um limite na quantidade de feromônio liberado, um limite de seu efeito, ou até diferentes

limiares das operculadoras. Podemos então levantar a hipótese de que permanecer com o abdômen inserido na célula pode representar uma demonstração de dominância da rainha. Verificamos este comportamento para a rainha A, que gastou significativamente mais tempo na célula (como o comportamento de proteger a célula das operárias poedeiras de ovos reprodutivos, observado por Koedam, e col., 2001). A mesma rainha diminuiu drasticamente o tempo de permanência na célula na presença da rainha “mais fraca”, a rainha C, como se não fosse necessário demonstrar “poder” para uma competidora fraca. Por outro lado, a rainha B, na presença de A, permaneceu por muito pouco tempo na célula (e então escapou como uma operária poedeira de ovos tróficos, como observado por Koedam, e col., 2001), e demonstrou um comportamento de dominância na presença da rainha C. Ainda existe outra incerteza: porque a rainha A foi a única que mostrou um coeficiente de correlação negativo? Em situação anterior em outra colônia, observamos uma rainha canibal consumindo imediatamente os ovos da segunda rainha antes que qualquer operculadora chegasse perto da célula (observações não publicadas). Então, na colônia do presente trabalho, as operárias reconheceram a rainha “mais forte” e “protegeram” ou “preferiram” seus ovos? As operárias podem não reconhecer parentesco entre as rainhas, mas podem reconhecer seu estado de saúde ou sua capacidade reprodutiva.

Entretanto, outras causas para a interrupção da postura podem existir e o acúmulo de vários outros fatores pode ter desempenhado um papel na eventual eliminação de uma rainha reprodutiva. Também existe a hipótese de que as rainhas possuem um mecanismo feromonal que inibe fecundidade mutuamente (Michener, 1964; Fletcher, *et al.*, 1980; Roisin & Pasteels, 1985), ou reduz a viabilidade de ovos (Bourke & Franks, 1995). Estudos feitos sobre o ritmo de postura em *M. bicolor* em colônias poligínicas e monogínicas, indicaram que a rainha mais fértil em colônias poligínicas conserva um ritmo similar àquele de uma rainha numa colônia monogínica, (Cepeda & Hilário, em prep.). Isto poderia demonstrar o feromônio supressor mencionado? Seriam necessários bioensaios para ligar estes dois fatos, e talvez resolver a questão.

Foi interessante verificar como a competição não somente por oviposição, mas também para conseguir nutrição adequada, pode ser inferida a partir de nossos resultados. Apoiamos a idéia de que as operárias indiretamente promovem esta competição entre as rainhas, e podem preferir ou reconhecer a mais produtiva entre elas. Também levantamos a hipótese de que as rainhas sinalizam suas capacidades para as outras com posturas ritualizadas, estabelecendo uma hierarquia. Entretanto, muito ainda tem que ser feito. Acreditamos que logo haverá informação sobre, por exemplo, o quão freqüentemente as rainhas fisogástricas interrompem e reiniciam a postura (Imperatriz-Fonseca, observações não publicadas), e aparentemente são conservadas na “reserva” como acontece com as rainhas virgens em outras espécies de meliponíneos (Imperatriz-Fonseca & Zucchi, 1995). Também necessitamos de informações sobre o quão freqüente a substituição de rainhas ocorre em *M. bicolor*, e quanto tempo e sob quais condições uma colônia permanece poligínica. Esta informação, acrescida daquela que encontramos, pode servir para entender a natureza das relações entre os membros de colônias poligínicas.

AGRADECIMENTOS

Esta pesquisa foi financiada pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), através de uma bolsa (processo nº. 99/00180-0). Agradecemos especialmente a toda equipe da Universidade de São Paulo, e a bióloga Fabiana Pioker, pela ajuda incondicional. Agradecemos também a Dra Márcia F. Ribeiro, pela tradução e a revisão do manuscrito.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALONSO, W.J.; LUCENA, T.; FRACASSO, C.M.; VELTHUIS H.H.W. & IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. Do *Melipona bicolor* (Apidae: Meliponinae) workers distinguish relatedness among different physogastric queens? **Apidologie**, v.29, p.1-11, 1998.
- BARTELS, P.J. Reproductive caste inhibition by argentine ant queens: new mechanisms of queen control. **Insectes Sociaux**, v.35, p.70-81, 1988.
- BEGO, L.R. Behavioral interactions among queens of the polygynous stingless bee *Melipona bicolor bicolor* Lepeletier (Hymenoptera : Apidae). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.22, p.587-596, 1989.
- BOURKE A. & FRANKS, R. Evolution and ecology of multiple queen societies In: **Social evolution in ants**. USA Princeton Univ. Press, 1995, p.258-297.
- CHAUVIN, R. Les facteurs qui gouvernent la ponte chez la reine des abeilles. **Insectes Sociaux**, v.3, p.499-504, 1956.
- EDWARDS, R. **Social wasps: their biology and control** Great Britain The Rentokil Library, 1980, p 201-206.
- ELMES, G.W. & KELLER, L. Distribution and ecology of queen number in ants of the genus *Myrmica*. In: LAURENT KELLER (Ed.) **Queen number and sociality in insects**. USA, Oxford Science Publications 1993, p.294-307.
- FLETCHER, D.J.C.; BLUM, M.S.; WHITT, T.V. & TEMPLE, N. Monogyny and polygyny in the fire ant *Solenopsis invicta*. **Annals of the Entomological Society of America**, v.73, n.6, p.658-661, 1980.
- FLETCHER, D.J.C. & BLUM, M.S. Regulation of queen number by workers in colonies of social insects. **Science**, 219:312-314, 1983.
- FLETCHER D.J.C. & ROSS, K.G. Regulation of reproduction in eusocial Hymenoptera. **Annual Review of Entomology**, v.30, p.319-343, 1985.
- GREEN, S.B.; SALKIND, N.J. & AKEY, T.M. **Using SPSS for windows. Analyzing and understanding data**. 2nd Edition, Prentice Hall, New Jersey, 430pp, 2000.
- IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. & ZUCCHI, R. Virgin queens in stingless bee colonies: a review. **Apidologie**, v.26, p.231-44, 1995.
- JUNGnickel, H.; VELTHUIS, H.H.W.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. & MORGAN, E.D. Chemical properties allow stingless bees to place their eggs upright on liquid larval food. **Physiological Entomology**, v.26, p.300-305, 2001.
- KELLER, L. Evolutionary implications of polygyny in the argentine ant *Iridomyrmex humilis* (Mayr) (Hymenoptera, Formicidae): an experimental study. **Animal Behavior**, v.36, p.159-165, 1988.
- KELLER, L. & NONACS, P. The role of queen pheromones in social insects: queen control or queen signal? **Animal Behavior**, v.45, p.787-794, 1993.

- KLEINERT-GIOVANNINI, A. **Mecanismos de controle reprodutivo em *Melipona marginata* Lepeletier (Apidae, Meliponinae)**. Tese Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, 1989.
- KOEDAM, D., VELTHUIS, H.H.W.; DOHMEN, M.R. & IMPERATRIZ-FONSECA V.L. The behavior of laying workers and the morphology and viability of their eggs in *Melipona bicolor bicolor*. **Physiological Entomology**, v.26, p.254-259, 2001.
- MICHENER, C.D. Reproductive efficiency in relation to colony size in hymenopterous societies. **Insectes Sociaux**, v.11, p.317-341, 1964.
- REEVE, H.K. & RATNIEKS, L.W. Queen-queen conflicts in polygynous societies. In: LAURENT KELLER (Ed.) **Queen number and sociality in insects**. USA, Oxford Science Publications, 1993, p.45-85.
- ROISIN, Y.; J.M. PASTEELS Imaginal polymorphism and polygyny in the Neo-Guinean termite *Nasutitermis princeps* (Desneux). **Insectes Sociaux**, v.32, p.142-157, 1985.
- PORTUGAL-ARAUJO, V. Colônias naturais de rainhas múltiplas em *Apis mellifera* Linnaeus. In: **Anais do 4º Congresso Brasileiro de Apicultura**, L. Gonçalves (Ed.), Curitiba PR. 1976, p.173-178.
- SAKAGAMI, S.F. Stingless bees In: **Social insects Vol III**. H.R. Hermann (Ed.) Academic Press Inc. 1982, p.272-423.
- SAKAGAMI, S. F. & ZUCCHI, R. Oviposition process in a stingless bee *Trigona (Scaptotrigona) postica* Latreille (Hymenoptera). **Studia Entomologica**, v.6, p.497-510, 1963.
- SEGER, J. Opportunities and pitfalls in co-operative reproduction. In: LAURENT KELLER (Ed.) **Queen number and sociality in insects**. USA, Oxford Science Publications 1993, p.1-15.
- SOKAL, R.R. & ROHLF, F.J. **Biometry. The principles and practice of statistics in biological research**. 3rd Edition, W.H. Freeman and Company, New York, USA, 887p. 1997.
- VELTHUIS, H.H.W.; A. ROELING, A. & IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. Repartition of reproduction among queens in the polygynous stingless bee *Melipona bicolor*. **Proceedings of the Section Experimental and Applied Entomology of the Netherlands Entomological Society (NEV)**. v.12, p.45-49, 2001.
- VELTHUIS, H.H.W.; PEREBOOM, Z.; KOEDAM, D.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. Cooperation and competition in a colony of the polygynous stingless bee *Melipona bicolor*, illustrated by two kinds of worker eggs and the behaviors of the workers laying them. **Proceedings of the Section Experimental and Applied Entomology of the Netherlands Entomological Society (NEV)**, v.14, p.49-52, 2003.
- WHEELER, D. The role of nourishment in oogenesis. **Annual Review of Entomology**, v.41, p.407-431, 1996.
- WILSON, E. O. Social modifications related to rareness in ant species. **Evolution**, v.17, p.249-253, 1963.

- WILSON, E.O. **The insect societies.** The Belknap Press of Harvard University Press, USA, 1971, 548 pp.
- WILSON, E.O. The population consequences of polygyny in ant *Leptohtorax curvispinosus*. **Annals of the Entomological Society of America**, v.67, n.5, p.781-786, 1974.
- WILSON, E.O. **Sociobiology. The new synthesis.** The Belknap Press of Harvard University Press, USA, 1975, 697 pp.
- WILSON, E.O. Foreword In: LAURENT KELLER (Ed.) **Queen number and sociality in insects.** USA, Oxford Science Publications 1993, p. v-vi.
- ZUCCHI, R.; SILVA-MATOS, E.V. DA; NOGUEIRA-FERREIRA, F.H. & AZEVEDO, G.G. On the cell provisioning and oviposition process (POP) of the stingless bees – nomenclature reappraisal and evolutionary considerations (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). **Sociobiology**, v.34, n.1, p.65-86, 1999.

CAPÍTULO 4

PARTICIPAÇÃO INDIVIDUAL DAS OPERÁRIAS DE *Melipona bicolor*
NO PROCESSO DE APROVISIONAMENTO E POSTURA EM
COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA

CAPÍTULO 4

PARTICIPAÇÃO INDIVIDUAL DAS OPERÁRIAS DE *Melipona bicolor* NO PROCESSO DE APROVISIONAMENTO E POSTURA EM COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA

ABSTRACT

When we followed individual workers of *Melipona bicolor* in monogynic and polygynic colonies, we found that there are great variations between the behaviors of each bee. Individuals that had laid some type of egg seemed to be the most interested in the provisioning and oviposition process (POP). Therefore, we then analyzed the population dividing them into layers and non layers. We proved that workers that lay trophic eggs contribute effectively to the POP, but reproductive workers, in spite of being so few, achieve such high levels of activity that it seems they exclude the non-laying bees from the process. We also found “special” individuals with an extraordinary participation in one or more of the basic behaviors of the POP, but these also seem to be motivated by the same *drive* of laying some type of egg. However, we also found differences between the monogynous and polygynous colonies, but these differences were difficult to analyze due to the filming moments for each colony.

The general patterns found for both monogynous and polygynous colonies are very important because they demonstrate that the fact of laying an egg provokes quantitative differences in the behaviors, producing from “lazy” individuals up to those “hyperactive”. Ovary development is then thought to be the internal proximal cause producing the diverse response thresholds that in a cascade effect, produces an auto-reinforcement when repeatedly performed the task, that at the same time affects the performance of others. The observation on the differences presented by layers and non layers, represents a sturdy base to continue exploring the proximal causes for behavioral differentiation.

RESUMO

Ao acompanhar individualmente as operárias da *Melipona bicolor*, em colônias monogínica e poligínica, encontramos que existem grandes variações no comportamento de cada uma, sendo que aqueles indivíduos que tinham colocado algum tipo de ovo apareciam como os mais interessados no processo de provisionamento e postura (POP). Ao dividir a população de operárias em poedeiras e não poedeiras, constatamos que aquelas que colocaram ovo trófico contribuem efetivamente ao POP, mas que as operárias reprodutivas, apesar de seu pequeno número, conseguem níveis de atividade tão altos que aparentemente excluem as não poedeiras do POP. Também encontramos indivíduos “especiais” por sua extraordinária participação em um ou mais dos comportamentos básicos que compõem o POP, mas estes também parecem movidos principalmente pelo *drive* de colocar algum tipo de ovo. Entretanto, também encontramos diferenças entre as colônias monogínica e poligínica, mas estas foram difíceis de analisar devido ao momento em que cada colônia começou a ser filmada.

Os padrões gerais encontrados tanto para a colônia monogínica, como para a poligínica são muito importantes, pois demonstram que o fato de botar ou não ovos, provoca diferenças quantitativas de comportamento, produzindo desde indivíduos “preguiçosos” até aqueles “hiperativos”. Acreditamos que o desenvolvimento ovariano é a causa interna proximal que produz os diversos limiares de resposta individuais. Estes limiares produzem um efeito-cascata, já que a repetição da tarefa é reforçada no próprio indivíduo, e ao mesmo tempo, a atuação deste indivíduo afeta o repertório das outras operárias. A observação das diferenças apresentadas entre operárias poedeiras e não poedeiras, apresenta uma base muito firme para continuar na busca das causas proximais para tal diferenciação.

INTRODUÇÃO

Em insetos sociais, o polietismo, ou divisão de trabalho acontece em dois níveis: polietismo primário entre rainha e operária, e polietismo secundário entre as operárias para as tarefas não reprodutivas da colônia. Esta segunda divisão pode ser morfológica ou temporal (Wilson 1971; Michener, 1974). As castas temporais sem diferenciação morfológica são tipicamente encontradas em *Apis mellifera*, de onde se originaram as hipóteses para explicar a divisão de trabalho em insetos sociais, apoiadas em aspectos fisiológicos, relacionados a uma natureza etária. Este enfoque foi estudado principalmente em abelhas *Apis mellifera* (revisão em Seeley & Kolmes; 1991), mas para as abelhas sem ferrão existem evidências para um princípio similar de polietismo etário (Sakagami, 1982; Ceccato, 1970). Estes primeiros estudos sobre comportamento feitos em insetos sociais basearam-se em observações coletivas, onde se assumiu que os indivíduos da mesma idade eram similares. Contudo, indivíduos da mesma idade podem apresentar diferenças no tipo de trabalhos em que se engajam e na frequência com que os realizam.

O genótipo de uma colônia se encontra distribuído entre centenas ou milhares de indivíduos geneticamente únicos. Em simulações de computador, só com diferenças leves nas respostas de indivíduos a uma tarefa, emerge a divisão de trabalho, esta aparecendo como uma propriedade auto-organizadora do grupo (Ronacher & Wehner, 1999). O conceito de limiar de resposta se refere a um limite interno que um indivíduo possui, regulando sua resposta frente à demanda para alguma tarefa: quando um indivíduo encontra a tarefa, mas o estímulo desta tarefa é menor do que seu limiar de resposta, a probabilidade de que a execute diminui. Se o estímulo for maior que seu limiar, as probabilidades de que comece a trabalhar aumentam. Assumiu-se que os limiares de resposta são específicos para cada tarefa e que um mesmo indivíduo pode ter para cada tarefa um limiar diferente (Bonabeau & Theraulaz, 1999; Beshers *et al.*, 1999). Este conceito gera um sistema de *feedback* simples, mas poderoso, pois permite atribuir o número apropriado de operárias para cada tarefa, de uma maneira auto-organizada. Há evidências empíricas de tais respostas em insetos sociais (exemplos em Robinson, 1992; Bonabeau & Theraulaz, 1999; Breshers & Fewell, 2001). Em *M. bicolor*, Bego (1983) percebeu que os indivíduos realizam diferentes proporções das tarefas da colônia, e em nenhum caso o repertório total necessário para a manutenção da mesma. Ela verificou que, em média, um indivíduo realiza de 50% a 70% da totalidade das tarefas. Voltando aos limiares, estes podem ser “fixos” quando não mudam com a idade (*fixed respond thresholds*, Bonabeau *et al.*, 1996), e limiares que se modificam sendo

reforçados por aprendizagem, ou esquecidos por falta de exercício. Também existem evidências empíricas a favor da existência de limiares de reforço em insetos sociais (*response threshold reinforcement* Theraulaz *et al.*, 1991; O'Donnell, 1998; Robson & Traniello, 1999).

Dentro do conjunto de operárias disponíveis para a execução de uma tarefa “x”, encontraram-se indivíduos que apresentam uma alta preferência por tal tarefa. Estas operárias são chamadas de “especializadas” na tarefa, se quando comparadas com a frequência média de outras da mesma idade, o indivíduo dedica-se muito mais frequentemente do que o esperado, a um trabalho determinado. Outro nome dado àqueles indivíduos com níveis de atividade mais persistentes é o termo “elite” (Robson & Traniello, 1999). Também há evidência empírica a favor da existência da especialização em Hymenoptera (Rissing, 1981; O'Donnell & Jeanne, 1990; Calderone & Page, 1988).

Do interesse para esclarecer os mecanismos que geram a organização colonial e comportamento, surgiram vários modelos focalizados nos mecanismos proximais que expliquem a divisão de trabalho. Estes modelos estão apoiados em fatores tanto internos como externos e o modelo de limiar de resposta representa um mecanismo proximal interno. Como já se explicou, os limiares de resposta não têm que ser fixos e podem ser alterados pela experiência (Theraulaz *et al.*, 1991; 1998): a repetição bem-sucedida de uma tarefa produz uma fixação nela, *task fixation* (Traniello, 1978), ou um auto-reforço por aprendizagem, que constitui o núcleo de um segundo mecanismo proximal interno, conhecido como o modelo de *self-reinforcement* (Theraulaz, *et al.*, 1992). Este modelo também explica que atuações não bem-sucedidas ou a falta de oportunidade de realizar a tarefa, reduzem a probabilidade dela ser executada pelo indivíduo. Sugeriu-se que o conceito de auto-reforço pode potencialmente explicar a aparição de especialistas e de generalistas em uma ampla variedade de sistemas biológicos (Beshers & Fewell, 2001). Mas devemos integrar o comportamento individual até o nível de organização colonial. O modelo de inibição social explica que o polietismo temporário é o resultado da interação de um processo intrínseco de desenvolvimento comportamental, com os efeitos inibidores de outras operárias (Huang & Robinson, 1999). Portanto, este modelo trabalha com o estado fisiológico em relação à tarefa, e com o fator externo das interações entre operárias (Beshers & Fewell, 2001).

Inoue e cols. (1996) apresentaram um trabalho sobre a variação no polietismo entre operárias para a abelha *Trigona (Tetragonula) minangkabau*. Eles verificaram que a população de um ninho pode ser dividida em dois

grupos principais: abelhas nutridoras que podem passar toda sua vida cuidando da cria, e forrageiras que pouco trabalham no núcleo de cria. A maioria dos trabalhos realizados em comportamento individual foram feitos em formigas (Gordon, 1999), em vespas (O'Donnell & Jeanne, 1990) e nas abelhas do gênero *Apis* (Visscher & Camazine; 1999), mas alguns esforços foram feitos em meliponíneos neotropicais, especificamente em *M. favosa* (Sommeijer *et al.*, 1983; Kolmes & Sommeijer, 1993), e em *M. subnitida* (Koedam, *et al.*, 1999).

Com relação ao processo de provisionamento e postura, POP, foram estudadas pelo menos 34 espécies de abelhas sem ferrão observando características gerais do POP. Várias destas investigações dividiram o processo em fases, e apresentam as descrições dos diferentes repertórios (e.g. Sakagami & Zucchi, 1966); também houve esforços em relacionar estes repertórios com cenários evolutivos (Zucchi *et al.*; 1999), a diferenciações taxonômicas (Drummond *et al.*, 2000), ou a fatores ecológicos (Ceccato, 1970, Camillo-Atique, 1974).

Em muitas espécies de meliponíneos, as operárias colocam ovos durante o POP (Sakagami, 1982). Ovos que são colocados em presença da rainha e imediatamente abandonados pela operária poedeira, são consumidos pela rainha e por isso são chamados ovos tróficos. Por outro lado, há operárias que colocam seus ovos e imediatamente fecham a célula, demorando um tempo considerável nisso e apresentando outras diferenças comportamentais com relação às operárias poedeiras de ovo trófico (Koedam *et al.*, 2001). Estes ovos se desenvolvem em machos e por isso estas operárias são chamadas operárias reprodutivas (Koedam *et al.*, 1999). Sobre a natureza dos ovos tróficos em *M. bicolor* há dados que podem parecer contraditórios: Koedam *et al.*, (1999) escrevem que os ovos tróficos podem produzir larvas fracas, levando-nos a pensar que estes poderiam ser ovos reprodutivos em processo de degeneração. Em um artigo recente, membros da mesma equipe asseguram que devido a seu altíssimo conteúdo protéico, os ovos tróficos são produzidos especialmente para alimentar a rainha (Velthuis, *et al.*, 2003). Desconhecemos tudo sobre os mecanismos envolvidos na reabsorção destes ovos, pois pode ser que estas proteínas encontradas sejam de natureza enzimática, e que na verdade este seja um ovo reprodutivo velho. Esta opção seria um ponto interessante a esclarecer, para dar mais apoio ao descrito no presente trabalho, onde encontramos uma hierarquia de interesses no POP, começando

pelas operárias reprodutivas, seguidas pelas poedeiras de ovos tróficos e deixando as não poedeiras em último lugar.

MATERIAIS E MÉTODOS

Método geral

Para filmar o comportamento, os ninhos foram transferidos para caixas de observação e colocados dentro de caixas incubadoras que mantinham a temperatura a 27 ± 3 °C. As operárias tinham livre acesso ao exterior via um tubo plástico. Também foram alimentadas diariamente com uma mistura de pólen e mel de *Apis*, oferecida em pequena quantidade.

Três meses antes de começar as observações, introduziram-se numa colônia duas rainhas (B e C) marcadas, tornando-a poligínica. A rainha original (A) manteve-se sem marca. Um estudo prévio demonstrou que as operárias não se comportam de modo diferente com relação a rainhas aparentadas e não aparentadas (Alonso *et al.*, 1998). Durante os três meses prévios, as rainhas introduzidas B e C realizaram suas posturas, e assim, quando começaram as gravações, havia operárias descendentes de todas as rainhas.

Ao começar a observação na colônia poligínica, as idades das rainhas eram de 176 dias para rainha A, 165 dias para B e 222 dias para C. A rainha da colônia monogínica tinha 80 dias. Todas são consideradas rainhas jovens já que conseguem viver até sete anos quando não são perturbadas (Drummond; com. per). As colônias selecionadas tinham características demográficas semelhantes: 581 operárias para a colônia monogínica e 534 para a poligínica.

As observações do processo de aprovisionamento e postura (POP, do inglês *Provisioning and Oviposition Process*) foram feitas de 14 de outubro até 3 de novembro de 2000 para a colônia poligínica, e de 21 de abril até 11 de maio de 2002 para a monogínica. Para registrar a atividade de oviposição, filmaram-se continuamente todos os POP ocorridos no favo. As filmagens eram feitas dentro de uma câmara escura, iluminada apenas com lâmpada vermelha fria, que aparentemente não perturba a atividade das abelhas.

Na colônia poligínica, a rainha C desapareceu do favo 260 horas depois de iniciadas as filmagens. Foi encontrada viva, entretanto, ao final das observações. Devido ao exílio desta rainha das atividades do favo, os dados foram inicialmente divididos em duas partes, dependendo do número de rainhas poedeiras, sendo primeiro três e o segundo, dois.

Para conhecer a identidade das operárias, colocou-se um ou dois favos amadurecidos em uma caixa conectada ao ninho principal, o que permite às operárias adultas auxiliar nos nascimentos. Três vezes por dia recoletávamos as abelhas recém-nascidas. Estas eram marcadas com uma etiqueta colada ao tórax, permitindo assim a identificação individual. Na colônia poligínica se fez uma marcação intensiva, mas na monogínica permitimos que 1/3 das operárias ficasse sem marcar. A razão para esta diferença na metodologia foi o fato de que as abelhas marcadas seriam sacrificadas ao final da filmagem, e não queríamos deixar a colônia muito debilitada.

Para registrar o comportamento das operárias marcadas durante o POP, as filmagens foram de 24 horas contínuas. Das 8:00h até a meia noite, um pesquisador acompanhava cada POP e provia as melhores condições para a filmagem. Da meia noite até as 8:00h se focalizava o favo completo e a câmara ficava no automático. Isto causou a perda de alguma informação, pois ao aumentar a distância focal, perdia-se resolução e algumas etiquetas não podiam ser lidas. Estes POPs foram eliminados da análise. Durante o processo de filmagem, a construção contínua de células foi acompanhada através de um mapeamento, onde cada célula era devidamente numerada.

A análise estatística incluiu o teste do Kruskal Wallis, o teste U de médias de Mann Whitney, e a correlação de Spearman. Quando o teste de Kruskal Wallis dava diferença significativa, utilizava-se o teste U como *Pós Hoc*, mudando o nível de significância de acordo com o número de comparações examinadas (Sokal & Rohlf, 1997; Green, *et al.*, 2000).

Informação sobre os componentes comportamentais

Nas fitas, acompanhamos cada POP. Durante este processo cada ação dirigida para uma célula era chamada de “evento” e possui a seguinte informação:

Data.

Número do POP (ou de célula).

Identificação da operária participante.

Duração (em segundos) do comportamento básico:

- ***Inserção do corpo*** (completa ou parcial) ou inspecionar a célula.
- ***Aprovisionamento***, ou seja, colocar alimento larval na célula.
- ***Ovipositar*** (trófico ou reprodutivo).
- ***Fechamento da célula*** (Opercular a célula).

Para cada indivíduo em cada comportamento básico foi calculada:

- ***Assiduidade***: número total de eventos comportamentais realizados por indivíduo para cada célula, para a totalidade do período de observação.
- ***Constância***: número total de POP em que um indivíduo participou durante todo o período de observação.
- ***Tempo investido***: somatória por indivíduo da duração total de tempo investido para cada comportamento durante todo o período de observação (Informação completa somente para a colônia monogínica).

RESULTADOS

Recaptura de operárias

Na colônia monogínica foram marcadas um total de 286 operárias. Do total de abelhas marcadas, 35 nunca foram vistas nem capturadas; pode ser que estas abelhas morreram, mas é mais provável que perdessem a etiqueta, já que a porcentagem de sobrevivência é bastante alta. Sempre acontece que uma porcentagem das operárias perde suas etiquetas (nos vídeos se podiam ver restos de cola sobre o tórax de várias abelhas). Assim, ficamos com 251 operárias marcadas. Ao finalizar o período de observação foram recapturadas 224 operárias marcadas (88%). Por grupos de idade desapareceram entre 0% e 50% como se pode ver na figura 01; em média desapareceram 20% das operárias.

FIGURA 01: PERCENTAGEM DE OPERÁRIAS RECAPTURADAS PARA CADA GRUPO DE IDADE EM COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DE *M. BICOLOR*.

Para a colônia poligínica no total foram marcadas 391 operárias, das quais 32 (8,2%) nunca foram vistas, nem foram recuperadas, ficando 359 operárias participantes. Por grupos de idade desapareceram entre 0% e 39% como se pode ver na figura 01; em média desapareceram 12,1% das operárias. Estas operárias podem ter morrido, mas o mais provável é que tivessem perdido a etiqueta.

Comparada com a colônia poligínica, aparecem menos operárias marcadas na colônia monogínica. Isto se deveu ao fato de que na colônia monogínica estavam nascendo machos ($n=153$).

Considerações gerais

Colônia monogínica

O período de observação na colônia monogínica foi de 495 horas contínuas. Registramos um total de 393 POP, mas foram eliminados 58 POPs por não apresentarem condições adequadas para o reconhecimento das operárias, ficando assim um total de 335 POP para a presente análise.

Como já mencionamos, do total de abelhas marcadas, 35 nunca foram vistas nem capturadas; assim ficariam 251 operárias identificáveis; destas 37 (14,7%) nunca foram vistas participando do POP apesar de estarem vivas, pois foram capturadas ao final do período de observações. São então 214 (85,3%) operárias que ativamente participaram do POP.

Devemos levar em consideração que devido ao sacrifício de operárias que haveria ao final das observações e para não extinguir a colônia, a marcação de abelhas não foi intensiva. Também consideramos que a filmagem começou quase imediatamente, de modo que os primeiros POPs tinham poucas operárias marcadas. Por estas duas razões, operárias sem etiqueta participaram ativamente do POP a provisionando alimento ($n=1271$), colocando ovos tróficos ($n=174$) e operculando células ($n=204$). Contudo, destas abelhas se anotaram as durações de seus comportamentos, e estes dados são utilizados nos capítulos relacionados com as rainhas, ou onde se considera a duração necessária para colocar um ovo trófico ou fechar uma célula.

Outra diferença com relação à metodologia utilizada na colônia poligínica, é que na colônia monogínica começamos a filmar a partir do terceiro dia de marcação de abelhas. Na colônia poligínica a filmagem começou quando as primeiras operárias marcadas já tinham 12 dias de idade. Sabíamos que durante a primeira semana de filmagem na colônia monogínica a maioria dos indivíduos participando do POP não estariam marcados. Decidimos então marcar 28 operárias jovens, mas de idade desconhecida; a informação

registrada para tais indivíduos seria utilizada em análise onde a idade não fosse um parâmetro importante. A idade máxima atingida pelas operárias da colônia monogínica foi de 22 dias.

Colônia poligínica

Para a colônia poligínica, filmamos um total de 496 horas consecutivas observando 508 POPs, mais foram eliminados 128 POPs por não apresentarem condições adequadas para o reconhecimento das operárias, ficando assim, um total 380 POPs para a presente análise.

Para a colônia poligínica tivemos que fazer algumas comparações prévias à análise etária das operárias. Devido à cessação de postura de uma das rainhas na metade do período de observação, a colônia trigínica virou bigínica. No capítulo dois discutimos como a presença de mais rainhas aumentou a eficiência geral do POP, atraindo um número maior de operárias e concluindo um maior número de POPs. A pergunta então é se devíamos analisar em dois períodos os dados de comportamento das operárias. Procuramos encontrar diferenças na participação das abelhas antes e depois da saída de uma das rainhas, e não encontramos diferença significativa na assiduidade (Período I com três rainhas $n=249$ operárias, $26,3 \pm 35,4$; Período II com duas rainhas $n=294$ operárias, $23,8 \pm 35,4$; $p=0,08$), nem na constância por abelha, (Período I com três rainhas $n=249$ operárias, $9,3 \pm 11,9$; Período II com duas rainhas $n=294$ operárias, $8,3 \pm 2,3$; $p=0,07$). De maneira que unificamos os dados para cada abelha.

Para a colônia poligínica no total ficaram 359 operárias identificáveis, das quais apenas seis não participaram do POP.

Devemos levar em consideração que nesta colônia não houve sacrifício de operárias ao final das observações, e que para marcar abelhas foram colocados no anexo dois favos amadurecidos, produzindo uma marcação intensiva. Por isso as operárias sem etiqueta tiveram uma baixa participação no POP a provisionando alimento ($n=1017$), colocando ovos tróficos ($n=16$) e operculando células ($n=97$).

Comparação entre a colônia monogínica e a colônia poligínica

Apesar de procurar condições semelhantes nas duas colônias, as comparações para os comportamentos apresentados por operárias entre os dois tipos de colônias, apresentam dificuldades. Primeiro, por causa dos nascimentos de numerosos machos, o número de operárias marcadas na colônia monogínica foi menor. Também na colônia monogínica, o número de operárias mortas (ou de etiquetas descoladas) é quase o dobro do ocorrido na colônia poligínica. Estes fatos aumentam ainda mais a diferença entre o número de operárias analisadas em cada colônia. Contudo, o fato que mais interfere nas comparações, foi ter começado a filmar em tempos diferentes. Como se vê na figura 01, a informação sobre as idades estão deslocadas; para a colônia monogínica deslocada para operárias de idades menores, enquanto que na colônia poligínica cobre idades até de uma semana a mais. Ter começado a filmar tão cedo e a marcação não intensiva na colônia monogínica, fez com que perdêssemos muita informação do POP, já que houve uma participação muito alta de operárias sem etiqueta.

Devido a estas diferenças na metodologia, os resultados no comportamento das operárias na colônia monogínica estão incompletos e por isso a comparação do comportamento das operárias entre os dois tipos de colônias pode apresentar artifícios induzidos pelas diferenças comentadas. Por isso, somente descrevemos e apresentamos as análises para cada tipo de colônia, e fazemos comparações gerais.

Participação etária das operárias

Colônia monogínica

Quando analisamos as idades nas quais estas operárias participaram no POP, encontramos que as idades mais ativas para os comportamentos de inserir e aprovisionar alimento larval estão entre os quatro e 10 dias. Opercular as células se estende irregularmente até os 16 dias e colocar ovos tróficos acontece a partir dos 10 dias (Fig. 02ab). Vê-se uma incipiente bimodalidade para os comportamentos de inserir o corpo e descarregar, mas não é tão pronunciada como veremos na colônia poligínica. Também há um segundo

pico para a produção de ovos tróficos, seis dias depois do primeiro pico. É interessante que a postura de ovos tróficos começa depois das idades de maior participação em outras tarefas básicas do POP, criando uma contraposição das atividades de inserir o corpo, aprovisionar e opercular a célula versus. colocar ovos tróficos (Fig. 02ab).

FIGURA 02: DISTRIBUIÇÃO DE IDADES PARA CADA COMPORTAMENTO BÁSICO DO POP PARA A COLÔNIA MONOGÍNICA EM *M. BICOLOR*. AS FLECHAS VERMELHAS INDICAM O PICO DE MÁXIMA ATIVIDADE.

Na tabela I podemos ver que a grande maioria de abelhas que participam do POP inserem a cabeça e aprovisionam as células, enquanto menos de 40% colocam ovo trófico e selam a célula. Para poder colocar o primeiro ovo trófico parece haver necessidade de um mínimo de nove dias para sua maturação e por isso, 24 das abelhas marcadas ainda eram muito jovens. Porém 190 operárias que poderiam ter colocado ovo, não o fizeram, indicando três possibilidades: ou não o produziram, ou o retiveram e reabsorveram, ou colocaram seus ovos no intervalo de tempo (0:00 até 8:00h) no qual a câmara estava no automático e as etiquetas eram ilegíveis. Com relação as operculadoras, todas poderiam ter fechado pelo menos uma célula, mas apenas 36% participaram desta atividade. Devemos recordar que a marcação de abelhas nesta colônia não foi intensiva, pois 174 operárias sem etiqueta colocaram ovos tróficos e 204 opercularam células.

TABELA I: DADOS GERAIS SOBRE A PARTICIPAÇÃO DAS OPERÁRIAS DA COLÔNIA MONOGÍNICA NOS COMPORTAMENTOS BÁSICOS DO POP EM *M. BICOLOR*.

	NÚMERO TOTAL	IDADE (DIAS)				PARTICIPAÇÃO NA ATIVIDADE (%)
		PICO	MÍNIMA	MÁXIMA	INTERVALO DE MAIOR ATIVIDADE	
PARTICIPANTES	214					
INSERIR CABEÇA OU CORPO NA CÉLULA	211	8	1	22	5 ATÉ 14 DIAS	98,6
APROVISIONAR ALIMENTO	175	8	2	19	5 ATÉ 13	81,8
OPERCULAR A CÉLULA	76	10	3	21	6 ATÉ 11	35,5
BOTAR OVO TRÓFICO	60	14	10	22	12 ATÉ 20	28

Quando correlacionamos para cada idade a frequência total dos comportamentos básicos de inserir o corpo na célula, aprovisionar alimento e opercular a célula entre eles, encontramos que estão correlacionados significativamente e com coeficientes muito altos que oscilam entre 0,82 e 0,95 (Fig. 03ab).

FIGURA 03: CORRELAÇÃO DOS COMPORTAMENTOS BÁSICOS DE INSERIR O CORPO, APROVISIONAR ALIMENTO E OPERCULAR A CÉLULA PARA CADA IDADE NA COLÔNIA MONOGÍNICA DE *M. BICOLOR*. N=22DIAS.

Já comparando os comportamentos básicos com botar ovo trófico, encontramos uma relação negativa não significativa (Botar OT vs Inserir o corpo $R = -0,19$ $p = 0,4$; Botar OT vs aprovisionar alimento $R = -0,30$ $p = 0,2$; Botar OT vs opercular a célula $R = 0,14$, $p = 0,5$). Estes resultados constataam a relação inversa que observamos

no gráfico 02, onde a maioria dos comportamentos básicos acontece antes da produção de ovos tróficos.

Se separarmos a população de operárias entre aquelas que colocaram ovo trófico (n=60) e aquelas que não botaram (n=154), encontramos que os resultados anteriores se mantêm. Para as operárias não poedeiras as correlações entre inserir ou corpo, aprovisionar alimento e opercular a célula são muito altas ($p < 0,005$ para todas as combinações: Inserir o corpo vs. aprovisionar alimento: $R=0,99$, inserir o corpo vs. opercular a célula $R=0,85$; aprovisionar alimento vs. opercular a célula $R=0,84$, Fig.04 abc). Para as operárias poedeiras as correlações continuam, mas os coeficientes tendem a diminuir ($p < 0,005$ para todas as combinações: Inserir o corpo vs. aprovisionar célula, $R=0,92$; inserir o corpo vs. opercular a célula $R=0,78$; aprovisionar célula vs. opercular a célula $R=0,76$, Fig.04 abc). Os picos de atividade se mantêm às mesmas idades (exceto inserir o corpo, que em operárias poedeiras acontece aos sete dias) encontrados na análise geral (Tabela III).

FIGURA 04: CORRELAÇÃO DOS COMPORTAMENTOS BÁSICOS EM OPERÁRIAS POEDEIRAS E NÃO POEDEIRAS DE INSERIR O CORPO, APROVISIONAR ALIMENTO E OPERCULAR A CÉLULA PARA CADA IDADE NA COLÔNIA MONOGÍNICA EM *M. BICOLOR*. N=22 DIAS.

Colônia poligínica

Quando analisamos as idades nas quais as operárias participaram do POP, aparece uma distribuição com uma tendência forte a bimodalidade para

os comportamentos de inserir, aprovisionar alimento larval e opercular as células (Fig.05ab). Para inserir o corpo, colocar ovos tróficos e opercular as células, os picos de atividade máximos aparecem na segunda distribuição depois dos 12 dias, enquanto que para aprovisionar o pico de atividade foi aos sete dias e o pico para colocar ovos reprodutivos aparece aos 10 dias (Fig. 05a) dentro da primeira distribuição. Quando detalhamos a informação relacionada com as operárias que colocaram ovos reprodutivos, o primeiro pico destas operárias foi justamente nas idades de baixa atividade para as demais actividades (Fig.05b). Também percebemos que os ovos reprodutivos começam a ser colocados mais cedo do que os ovos tróficos. (Fig. 05b).

FIGURA 05: DISTRIBUIÇÃO DE IDADES PARA CADA COMPORTAMENTO BÁSICO DO POP NA COLÔNIA POLIGÍNICA DE *M. BICOLOR*. AS FLECHAS VERMELHAS INDICAM O PICO DE MÁXIMA ATIVIDADE.

Na tabela II podemos ver que a grande maioria de abelhas que participam do POP, inserem a cabeça e aprovisionam as células, enquanto menos de 40% colocam ovo trófico e apenas a metade das participantes operculam células. Para poder colocar ovo reprodutivo e ovo trófico, parece haver necessidade de um mínimo de oito dias para sua maturação e por isso, 33 das abelhas marcadas ainda eram muito jovens. Porém, 193 operárias que poderiam ter colocado ovo, não o fizeram, indicando três possibilidades: ou não o produziram, ou o retiveram e reabsorveram, ou colocaram seus ovos no intervalo de tempo (0:00 até 8:00h) no qual a câmara estava no automático e as etiquetas eram ilegíveis. Com relação as operculadoras, todas poderiam ter operculado pelo menos uma célula, mas apenas 52% participaram desta

atividade. Recordemos que na colônia poligínica em numerosas células era preciso haver mais de uma abelha para completar o trabalho de opercular célula de cria (Capítulo 2).

TABELA II: DADOS GERAIS SOBRE A PARTICIPAÇÃO DAS OPERÁRIAS DA COLÔNIA POLIGÍNICA NOS COMPORTAMENTOS BÁSICOS DO POP EM *M. BICOLOR*, N=28 DIAS.

	NÚMERO TOTAL	IDADE (DIAS)				PARTICIPAÇÃO INDIVIDUAL (%)
		PICO	MÍNIMA	MÁXIMA	INTERVALO DE MAIOR ATIVIDADE	
PARTICIPANTES	353					
INSERIR CABEÇA O CORPO NA CÉLULA	350	12	1	28	7 A 9; 11 A 14	99,2
APROVISIONAR ALIMENTO	278	7	2	25	6 A 9; 11 A 13	78,5
BOTAR OVO TRÓFICO	125	12	10	26	7; 11 A 14	35,4
BOTAR OVO REPRODUTIVO	11	10	9	20	10; 12 A 14	3,1
OPERCULAR A CÉLULA	184	12	2	27	6 A 9; 11 A 14	52,0

Quando correlacionamos para cada idade a frequência total dos comportamentos básicos entre eles, encontramos que inserir o corpo está correlacionado significativamente com todos os comportamentos (Fig. 06 abc), aprovisionar com alimento a célula e opercular as células correlacionam-se com botar ovos reprodutivos (Fig. 06 de). Porém, não estão correlacionados entre eles ($R=0,22$, $p=0,3$). Botar ovos reprodutivos e botar ovos tróficos apresentou correlação significativa (Fig 06f), mas botar ovos tróficos não está correlacionado com aprovisionar alimento ($R=0,22$ $p=0,3$) nem com opercular a célula ($R=0,29$; $p=0,1$). Os coeficientes significativos oscilam entre 0,43 e 0,96 e contrariamente com a colônia monogínica, nenhum coeficiente foi negativo na colônia poligínica.

FIGURA 06: CORRELAÇÃO DOS COMPORTAMENTOS BÁSICOS DE INSERIR O CORPO, APROVISIONAR ALIMENTO, OPERCULAR A CÉLULA E OVIPOSITAR OVOS TRÓFICOS OU REPRODUTIVOS PARA CADA IDADE NA COLÔNIA POLIGÍNICA DE *M. BICOLOR*. N=28 DIAS.

Quando separarmos a população de operárias entre aquelas que colocaram ovo trófico (n=125), aquelas que colocaram ovo reprodutivo (n=11), e aquelas que não colocaram nenhum tipo de ovo (n=217), encontramos que as operárias reprodutivas não apresentam o mesmo padrão de distribuição do comportamento por idades observado nas demais operárias (Fig. 07a).

FIGURA 07: DISTRIBUIÇÃO DE IDADES PARA CADA COMPORTAMENTO BÁSICO DO POP NA COLÔNIA POLIGÍNICA PARA CADA TIPO DE OPERÁRIA EM *M. BICOLOR*. AS FLECHAS INDICAM OS PICOS DE MÁXIMA ATIVIDADE.

07A ATÉ 07C: DISTRIBUIÇÃO DOS COMPORTAMENTOS DE INSERIR O CORPO NA CÉLULA, APROVISIONAR E OPERCULAR A CÉLULA. 07D E 07E DISTRIBUIÇÃO DOS DOIS TIPOS DE OVIPOSIÇÕES. AS FLECHAS NESTES GRÁFICOS INDICAM OS PICOS DOS DEMAIS COMPORTAMENTOS EM RELAÇÃO OS DOIS TIPOS DE OVIPOSIÇÕES.

Vemos que enquanto que as operárias poadeiras de ovos tróficos e as não poadeiras continuam apresentando a distribuição com a tendência bimodal, as operárias reprodutivas apresentam uma distribuição mais homogênea e tendendo à normalidade. Na tabela III também vemos que os picos de atividade nas operárias reprodutivas acontecem a idades maiores que nas demais operárias.

FIGURA 08: COLÔNIA MONOGÍNICA DE *M. bicolor*: OPERÁRIAS NASCIDAS em 18 DE ABRIL 2002 - SEQUÊNCIA DE COMPORTAMENTOS

TABELA III: PICOS DE ATIVIDADE GERAIS E DOS DIVERSOS TIPOS DE OPERÁRIAS DAS COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DE *M. BICOLOR*, NOS COMPORTAMENTOS BÁSICOS DO POP (N=28 DIAS).

IDADE DOS PICOS DE ATIVIDADE (DIAS)							
GERAL		NÃO POEDEIRAS		POEDEIRAS DE OVO TRÓFICO		OPERÁRIAS REPRODUTIVAS	
MONO.	POLI.	MONO.	POLI.	MONO.	POLI.	POLI.	
INSERIR O CORPO	8 12	8 12		7 12		15	
APROVISIONAR ALIMENTO	8 7	8 8		8 7		9	
BOTAR OVO TRÓFICO	14 12			14 12		16	
OPERCULAR A CÉLULA	10 12	10 12		10 12		13	
BOTAR OVO REPRODUTIVO	10					10	

Comparação geral da participação etária das operárias nas colônias monogínica e poligínica

Devido às diferentes metodologias para a filmagem das colônias, não sabemos se as diferenças encontradas são causadas por esse *lapsus*, ou se são características próprias dos dois tipos de colônias. Apesar disto, aventuramo-nos a encontrar padrões e a tratar de descrever as diferenças.

A distribuição de atividades por idades apresenta um padrão com tendência bimodal, apesar desta ser incipiente na colônia monogínica. Na mesma colônia, os picos de atividades estão localizados na primeira distribuição e os comportamentos apresentam correlações positivas entre si e negativas com a produção de ovos tróficos, confirmando o contraste entre atividades básicas e a produção de ovos tróficos, que se poderia considerar como um comportamento complementar. Já na colônia poligínica, perde-se este contraste, pois não somente os picos de atividade mudam para a segunda distribuição, mas também todas as correlações são positivas. Ao analisar os mesmos dados, mas desta vez separando pelos tipos de operárias, encontramos que tanto operárias não poedeiras como aquelas poedeiras de ovo trófico, comportam-se de maneira similar em ambas as colônias. Já as operárias reprodutivas fogem totalmente deste padrão, apresentando níveis de atividade distribuídos em geral mais homogeneamente no tempo, e com seus picos a idades maiores que as demais operárias.

Heterogeneidade do comportamento individual

Colônia monogínica

Na figura 08 representamos o grupo de abelhas nascidas a 18 de abril-2002. Aparecem suas atividades da idade de três até os 20 dias. Os comportamentos estão codificados por cores; os diferentes indivíduos ($n=5$) estão especificados na coluna esquerda e estão organizados por grau de participação. O eixo horizontal representa a constância, ou seja, o número do POP em que participaram, e o eixo vertical representa a assiduidade apresentada em cada POP. Os comportamentos não estão representados na ordem em que aconteceram, mas sim seguindo a seqüência de inserir – aprovisionar - botar ovo trófico e opercular; por exemplo, uma abelha poderia inserir o corpo duas vezes, logo aprovisionar e finalmente inserir de novo; nós o representamos simplesmente como três inserções seguidas por uma descarga. Também é importante explicar que não consideramos aqueles POPs onde a abelha não participou, embora os POPs se organizaram cronologicamente. Também é pertinente recordar que alguns POPs se perderam especialmente dos vídeos feitos das 0:00h até às 8:00h.

Assim, graficamente constatamos que, dentro de cada grupo de idades existe uma grande variabilidade no comportamento individual das operárias e participação das produtoras de ovos tróficos (indivíduos #g y #j). Também percebemos um afastamento nas atividades das produtoras de ovo trófico nas idades de 11 a 13 (Abril 29 até 30), enquanto que as não poedeiras fazem uma tímida contribuição. Disto pode inferir a forte competição das operárias poedeiras, afastando àquelas operárias menos “determinadas”. Como discutimos no capítulo sete, este *drive* das operárias poedeiras provavelmente deriva de sua necessidade de colocar ovo trófico. Para cada faixa etária calculamos o coeficiente de variação (desvio padrão x 100/ média) e este efetivamente variou entre 29,2 e 172,6 (Fig. 09a). A correlação de Spearman entre o coeficiente de variação e a idade, não apresenta significância.

FIGURA 09: CORRELAÇÃO ENTRE O COEFICIENTE DE VARIAÇÃO COM A IDADE PARA AS COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA EM *M. BICOLOR*.

Prosseguimos analisando os dados separando as operárias poedeiras das não poedeiras. Para esta colônia temos um total de 214 operárias participando ativamente do POP. Como 10 dias é a idade mínima para botar ovo trófico, temos 24 abelhas jovens que não conseguimos ver se produziram ovos tróficos ou não, ficando 190 operárias para a análise que se segue. Significa que temos 60 (31,6%) operárias que botaram ovo trófico e 130 (68,4%) operárias que não botaram ovo trófico. Quando comparamos o nível de envolvimento das operárias poedeiras com as não poedeiras, para todos as variáveis medidas, as operárias poedeiras de ovo trófico se destacam significativamente, pois suas médias são, em geral, o dobro das médias encontradas em operárias que não colocaram ovo trófico (Fig. 10 a até d).

FIGURA 10: COMPARAÇÃO DAS VARIÁVEIS COMPORTAMENTAIS ASSIDUIDADE, CONSTÂNCIA E TEMPO INVESTIDO PARA CADA COMPORTAMENTO BÁSICO DE INSERIR O CORPO NA CÉLULA, APROVISIONAR E OPERCULAR A CÉLULA, USANDO OPERÁRIAS POEDEIRAS E NÃO POEDEIRAS NA COLÔNIA MONOGÍNICA DE *M. BICOLOR*.

Outra maneira de ver a grande contribuição das operárias poadeiras é calculando a participação por operária. De um total de 15407 eventos analisados, somente 60 operárias poadeiras participaram de 7673 (49,8% do total dos eventos) e, portanto, cada abelha esteve em média em 127,9 eventos. Cada uma das 154 operárias não poadeiras esteve em média em apenas 50,3 dos eventos.

Colônia poligínica

Na figura 11 representamos o grupo de abelhas nascidas a 14 de outubro-2000. Suas atividades desde idade de um dia até os 20 dias são mostradas. As especificações explicando a figura são as mesmas usadas na figura 08 da colônia monogínica.

Graficamente, novamente constatamos que dentro de cada grupo de idades existe uma grande variabilidade no comportamento individual das operárias. Entretanto, na figura 11 vemos que a operária produtora de ovo reprodutivo (indivíduo Bk) apresenta uma grande constância e assiduidade. Comparativamente com a colônia monogínica, aqui poedeiras de ovo trófico e não poedeiras, aparentemente contribuem de maneira semelhante no POP. Podemos inferir a forte competição das operárias reprodutivas, que se apresentam como ainda mais “determinadas” que as demais. O cálculo do coeficiente de variação também demonstrou a grande variabilidade do comportamento das operárias de cada faixa etária (C.V. varia entre 63,6 e 166,8; Coef corr. -0,1, $p=0,1$ $n=25$; Fig. 09b)

Para esta colônia temos um total de 353 operárias participando ativamente do POP. Nesta análise, não consideramos a variável “tempo investido” uma vez que não temos esta informação para a segunda metade do período de observações. Prosseguimos analisando quantitativa e estatisticamente os dados restantes, separando as operárias em três grupos: operárias reprodutivas ($n=11$), poedeiras de ovo trófico ($n=125$), e não poedeiras ($n=217$). Como 10 dias é a idade mínima para botar ovo trófico, temos 17 abelhas jovens que não conseguimos ver se produziram ovos ou não, ficando 336 operárias para a análise. Significa que temos 3,3% de operárias reprodutivas, 37,2% de operárias que botaram ovo trófico e 59,5% de operárias que não botaram nenhum tipo de ovo.

Quando comparamos o nível de envolvimento, o teste de Kruskal Wallis detectou diferença significativa entre os três tipos de operárias para todas as variáveis (Tabela IV). O teste de Mann Whitney foi então utilizado como teste *Pós hoc* com um nível de significância em $p<0,017$. Para todas as variáveis medidas, as operárias reprodutivas destacam-se ostensivamente tanto das poedeiras de ovo trófico quanto das não poedeiras. (Tabela IV). Com relação às poedeiras de ovo trófico, novamente encontramos que diferem significativamente das operárias não poedeiras em todas as variáveis exceto na constância para aprovisionar e em opercular as células. No comportamento básico de opercular, uma mesma operária nunca participou duas vezes na mesma célula, por isso assiduidade e constância são iguais.

TABELA IV: COMPARAÇÃO ENTRE OS TRÊS TIPOS DE OPERÁRIAS PARA AS VARIÁVEIS COMPORTAMENTAIS DE ASSIDUIDADE E CONSTÂNCIA EM *M. BICOLOR*.

ASSIDUIDADE				CONSTÂNCIA			
	TOTAL	INSERIR O CORPO	APROVISIONAR ALIMENTO	TOTAL	INSERIR O CORPO	APROVISIONAR ALIMENTO	OPERCULAR A CÉLULA
KRUSKAL WALLIS	>0,0005	>0,0005	>0,0005	>0,0005	>0,0005	>0,0005	>0,0005
TESTE U (SI. <i>P</i><0,017)							
[A] x [B]	>0,0005	>0,0005	>0,0005	>0,0005	>0,0005	>0,0005	>0,0005
[A] x [C]	>0,0005	>0,0005	>0,0005	>0,0005	>0,0005	>0,0005	>0,0005
[B] x [C]	>0,0005	>0,0005	>0,005	>0,005	>0,0005	0,024	0,2
[A] OPERÁRIA REPRODUTIVA N=11	265,1±118,8	162,2±73,7	99,2±47,3	83,4±32,2	58,0±23,1	62,0±25,6	7,0±6,3
[B] OPERÁRIA POEDEIRA DE OVO TRÓFICO N=125	43,9±33,9	30,3±21,0	10,1±14,5	12,9±9,5	9,1±6,2	6,6, ±7,1	1,3±1,8
[C] OPERÁRIA NÃO POEDEIRA (≥10 DIAS DE IDADE) N=200	24,7±26,8	16,1±16,4	8,0±13,4	10,6±10,5	7,2±6,6	5,8±7,9	1,1±1,5

Outra maneira de ver a diferença na contribuição de cada tipo de operária é calculando a participação por operária. De um total de 13276 eventos analisados, somente 11 operárias reprodutivas participaram de 2981 (22,5% do total dos eventos) e, portanto cada abelha esteve em média em 271 eventos. Já as operárias poedeiras de ovo trófico participaram em 5506 eventos (41,5% do total dos eventos) e cada uma destas poedeiras, que foram 125 operárias, esteve em média em apenas 44 dos eventos. Para as operárias não poedeiras, ficam 4789 eventos (36,1% do total dos eventos), cada uma participando de apenas 24 eventos. Novamente vemos que as operárias poedeiras de ovo trófico participam em média o dobro das não poedeiras, mas nesta colônia, a participação das operárias reprodutivas é gritante.

Comparação geral da heterogeneidade do comportamento individual entre a colônia monogínica e a poligínica

Vimos, tanto na colônia poligínica como na monogínica, a grande contribuição das operárias que colocam ovo seja este reprodutivo ou trófico: na maioria dos comportamentos são mais assíduas, participam de um número

FIGURA 11: COLÔNIA POLIGÍNICA DE *M. bicolor*: OPERÁRIAS NASCIDAS EM 14 DE OUTUBRO 2000 - SEQÜÊNCIA DE COMPORTAMENTOS

maior de POPs, e na colônia monogínica investem mais tempo no processo. As operárias que colocam ovo trófico nas duas colônias protagonizam aproximadamente 50% dos eventos, mas já individualmente as operárias poedeiras de ovos tróficos da colônia monogínica conseguem participar muito mais dos POPs. Podemos inferir que as operárias reprodutivas, apesar de serem apenas 11 indivíduos, exercem uma atividade com grande competência, praticamente deslocando às operárias não poedeiras do POP.

Operárias especiais

Calculamos a assiduidade média geral para as operárias que fizeram cada comportamento básico; os indivíduos “especiais” foram considerados aqueles que excederam em repetições um número maior do que a metade mais um desvio padrão para cada comportamento (Tabela V).

TABELA V: MÉDIA E DESVIO PADRÃO PARA OS COMPORTAMENTOS BÁSICOS DO POP EM COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA EM *M. BICOLOR*.

	COLÔNIA MONOGÍNICA		N	COLÔNIA POLIGÍNICA		N
	MÉDIA±S	ESPECIALISTA		MÉDIA±S	ESPECIALISTA	
FAZER A PRIMEIRA REGURGITAÇÃO DE ALIMENTO LARVAL	3,2±2,9	6,1	58	2,3±2,8	5,1	55
APROVISIONAR A CÉLULA COM ALIMENTO LARVAL	16,9±17,7	34,5	175	14,3±24,1	38,4	278
OPERCULAR A CÉLULA	2,2±1,7	3,9	76	2,4±2,1	4,5	160
BOTAR OVO TRÓFICO	1,3±0,5	1,7	60	1,2±0,4	1,6	125

A primeira provisionadora

A primeira regurgitação de alimento larval é muito importante e tem características próprias. Há abelhas que se especializam em realizar esta primeira regurgitação, como será discutido no capítulo cinco.

A primeira descarga de alimento larval demora significativamente mais tempo, como se pode ver na figura 12 (COLÔNIA MONOGÍNICA: 1ª regurgitação n=124, duração $12,4 \pm 3,7$; outras regurgitações n=2,417, duração $5 \pm 1,8$ seg.; Teste U $p > 0,0005$. COLÔNIA POLIGÍNICA: 1ª regurgitação n=187, duração $12,6 \pm 4,3$ seg.; outras regurgitações n=2,417, duração $5 \pm 2,3$ Teste U $p < 0,0005$). Não encontramos diferença significativa entre a duração da primeira regurgitação em colônia monogínica, versus colônia poligínica ($p = 0,9$).

FIGURA 12: COMPARAÇÃO ENTRE A DURAÇÃO DA PRIMEIRA E AS DEMAIS REGURGITAÇÕES EM COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DE *M. BICOLOR*.

Tanto na colônia monogínica quanto na poligínica, as abelhas que fazem a primeira regurgitação o fazem a idades significativamente menores que abelhas que fazem as demais regurgitações (MONOGÍNICA: 1ª regurgitação n=186, idade $7,9 \pm 1,9$; outras regurgitações n=2,238; idade $8,6 \pm 2,8$; Teste U $p < 0,05$; POLIGÍNICA: 1ª regurgitação n=124, idade $8,5 \pm 2,6$; outras regurgitações n=3,147; idade $10,2 \pm 3,6$; Teste U $p < 0,0005$ Fig. 13).

FIGURA 13: COMPARAÇÃO ENTRE A IDADE DA PRIMEIRA E AS DEMAIS REGURGITAÇÕES DE ALIMENTO LARVAL, EM COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DE *M. BICOLOR*.

Além disto, comparando as primeiras aprovisionadoras entre si, e as demais aprovisionadoras entre si, na colônia poligínica, as aprovisionadoras de alimento são mais velhas do que as da colônia monogínica (Fig. 13). Porém, estes resultados relacionados à idade, podem ser artefatos produzidos pela diferença nas épocas em que se começaram as filmagens.

Já quando analisamos operárias individualmente na colônia monogínica, de 214 abelhas marcadas, as primeiras aprovisionadoras foram 58 operárias (27,1%) e em média cada uma realizou $3,2 \pm 2,9$ primeiras regurgitações. Para a colônia poligínica, a mesma análise mostrou que, de 353 abelhas marcadas, somente 55 (15,6%) foram responsáveis pela primeira regurgitação de alimento e cada abelha em média realizou $2,3 \pm 2,8$ primeiras regurgitações. Na figura 14 percebemos que na colônia poligínica 70% das primeiras aprovisionadoras começam apenas 1 POP; já na colônia monogínica, um número menor de operárias fazem esta primeira regurgitação. Contudo, há indivíduos extraordinários, e seriam aqueles que repetiram a primeira descarga mais de cinco (Colônia poligínica, 4 indivíduos) e seis vezes (Colônia monogínica, 10 indivíduos) (Tabelas V e VII).

FIGURA 14: FREQUÊNCIA COM QUE UM MESMO INDIVÍDUO FAZ A PRIMEIRA REGURGITAÇÃO NAS COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGINICA EM *M. BICOLOR*.

Na colônia monogínica somente 10 indivíduos repetiram entre 6 e 13 vezes a primeira regurgitação, mas começaram 44% de 187 POPs (Fig. 15). Na colônia poligínica foram somente 4 operárias as responsáveis por começar 33% de 128 POPs (Fig. 15).

FIGURA 15: COMPARAÇÃO ENTRE COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DA PORCENTAGEM DE POP COMEÇADOS POR ESPECIALISTAS, VERSUS INDIVÍDUOS QUE OCASIONALMENTE FAZEM A PRIMEIRA REGURGITAÇÃO EM *M. BICOLOR*.

O fato de que poucas abelhas iniciam mais de 30% dos POPs é um forte indicativo de especialização. O tema é tratado com mais detalhe no capítulo cinco.

Aprovisionadoras

A regurgitação de alimento larval, nas duas colônias, é significativamente mais curta do que a primeira regurgitação, como se pode ver na figura 12. Porém, o teste U revelou que na colônia poligínica as operárias levam significativamente mais tempo regurgitando ($p < 0,05$) e são significativamente mais velhas ($p < 0,0005$; Fig. 13).

Já quando analisamos operárias individualmente na colônia monogínica, de 214 abelhas marcadas, as aprovisionadoras foram 175 operárias (81,8%) e em média cada uma realizou $16,9 \pm 17,7$ regurgitações. Para a colônia poligínica a mesma análise apresentou 353 abelhas marcadas, entre as quais 279 (78,5%) aprovisionaram alimento nas células de cria e cada abelha em média realizou $14,3 \pm 24,1$ regurgitações. Na figura 16 podemos observar que na colônia poligínica, 70% dos indivíduos fazem menos de 20 regurgitações, e novamente percebemos que esta diferença não é tão pronunciada na colônia monogínica. Porém, há indivíduos excepcionais, que seriam aqueles que

repetiram a descarga mais de 35 (Colônia monogínica, 22 indivíduos) e 38 vezes (Colônia poligínica, 23 indivíduos) (Tabelas V e VI).

FIGURA 16: FREQUÊNCIA COM QUE UM MESMO INDIVÍDUO REGURGITA NAS COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA EM *M. BICOLOR*.

Na colônia monogínica somente 22 operárias especialistas regurgitaram em média 53,5 vezes cada uma, enquanto cada um dos 153 indivíduos não especialistas regurgitou em média 11,6 vezes. A mesma análise na colônia poligínica deu resultados semelhantes: 23 operárias especialistas regurgitaram em média 51 vezes cada uma, enquanto cada um dos 255 indivíduos não especialistas regurgitou em média apenas 8,4 vezes.

Operculadoras de células

Opercular as células é uma atividade muito particular que, como vimos nas figuras 02 e 05, se apresenta irregularmente com vários picos ao longo do envelhecimento das operárias. No capítulo dois, já se mencionou o fato de que na colônia monogínica apenas 7% das células são operculadas por um máximo de 3 operárias, enquanto que na colônia poligínica 41% são operculadas por até dez operárias. As células com operculadoras múltiplas demoram significativamente mais tempo para serem operculadas. Para a análise que se segue, nestas POPs com operculadoras múltiplas, vamos deixar somente a informação da operária que mais contribuiu na operculação.

Outro fato interessante, é que apenas de 35% até 50% das operárias participantes do POP opercularam células, quando o número total de POPs era suficiente para que cada uma fechasse pelo menos uma célula. (COLÔNIA MONOGÍNICA: 335 POPs e 76 operculadoras; COLÔNIA POLIGÍNICA: 380 POPs e 160

operculadoras). Opercular a célula está correlacionado principalmente com os comportamentos básicos, mas será analisado e discutido no capítulo sete.

Com base nos resultados do teste de Mann Whitney, não há diferença significativa ($p=0,051$, no limite) entre as idades das operculadoras das colônias monogínica ($10,8 \pm 3,8$ $n=143$ Fig.17a) e poligínica ($11,8 \pm 5$ $n=380$ Fig.17a). Já com relação ao tempo necessário para opercular uma célula, eliminamos as operárias suplementares em células com múltiplas operculadoras da colônia poligínica. Assim como no capítulo 2, novamente encontramos que na colônia monogínica, as operárias levam significativamente mais tempo nesta tarefa (MONOGÍNICA: $280,6 \pm 103,7$ seg. $n=167$; POLIGÍNICA: $190 \pm 173,6$, $n=122$; Fig. 17b).

FIGURA 17: COMPARAÇÃO ENTRE AS COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA PARA AS IDADES DAS OPERCULADORAS E O TEMPO NECESSÁRIO PARA OPERCULAR CÉLULAS EM *M. BICOLOR*.

Já quando analisamos operárias individualmente, na colônia monogínica, de 214 abelhas marcadas, foram 76 operárias operculadoras (35,5%) e em média cada uma selou $2,2 \pm 1,7$ células. Para a colônia poligínica a mesma análise apresentou que de 353 abelhas marcadas, somente 160 (45,2%) opercularam células e cada abelha em média selou $2,4 \pm 2,1$ células. Na figura 18 vemos que 50% das operárias nas duas colônias, operculam até duas células, e de fato, as curvas são muito semelhantes. Segundo nossa definição de indivíduos excepcionais, entre as operculadoras, estes indivíduos especiais seriam aqueles que selassem mais de quatro (Colônia monogínica, 15 indivíduos) e cinco células (Colônia poligínica, 25 indivíduos) (Tabelas V e VII).

FIGURA 18: FREQUÊNCIA COM QUE UM MESMO INDIVÍDUO OPERCULA UMA CÉLULA EM COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA EM *M. BICOLOR*.

Na colônia monogínica somente 15 indivíduos fecharam cada um entre 4 e 9 células, finalizando 45% de 168 POPs (Fig. 19). Na colônia poligínica foram 25 operárias as responsáveis por finalizar 37% de 380 POPs (Fig. 15).

FIGURA 19: COMPARAÇÃO ENTRE COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DA PORCENTAGEM DE POPs FINALIZADOS POR ESPECIALISTAS, VERSUS INDIVÍDUOS QUE OCASIONALMENTE OPERCULAM UMA CÉLULA EM *M. BICOLOR*.

Operárias poedeiras de ovos

Estas operárias são muito importantes devido a sua grande participação no POP. No capítulo sete, veremos como o fato de colocar ovos influi em seu comportamento.

Analisando as operárias a nível individual, para a colônia monogínica, 60 operárias de 214 operárias participantes colocaram 77 ovos tróficos, enquanto que na colônia poligínica, 125 operárias de 353 operárias participantes colocaram 143 ovos tróficos, e 11 colocaram 15 ovos reprodutivos. Na figura 20 para nossas duas colônias, vemos a proporção dos três tipos de operárias. Outra diferença encontrada é o fato de que na colônia monogínica não houve operárias reprodutivas (OR). Ainda se desconhecem os fatores que promovem a aparição deste tipo de operária extraordinária, mas aparentemente está ligado às épocas de produção de machos, e como já comentamos, os machos estavam emergindo, indicando que o período de sua produção tinha acabado de passar. É importante mencionar que as OR também podem colocar ovos tróficos (3 indivíduos colocaram 6 ovos tróficos, mas sempre foram analisadas exclusivamente dentro do grupo das OR). Também podemos ver que o número de operárias poedeiras de ovos tróficos (OT) é menor para a colônia monogínica, mas este dado pode estar subestimado, pois durante nosso período de observação, operárias sem etiqueta colocaram 174 ovos tróficos.

FIGURA 20: COMPARAÇÃO ENTRE COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DE *M. BICOLOR*, DA PORCENTAGEM DOS TRÊS TIPOS DE OPERÁRIAS: POEDEIRAS DE OVOS REPRODUTIVOS, POEDEIRAS DE OVOS TRÓFICOS, E OPERÁRIAS NÃO POEDEIRAS.

Comparando o tempo de postura de ovos tróficos (incluindo os tempos de operárias sem etiquetas), de ovos reprodutivos de operárias, e de ovos colocados pelas rainhas quando fixavam isoladamente a célula, encontramos resultados interessantes. Não existe diferença no tempo que demora a postura de OT (COLÔNIA MONOGÍNICA: $n=262$, duração $8,3 \pm 2,1$; COLÔNIA POLIGÍNICA: $n=143$, duração $8,4 \pm 2,9$; Teste U $p=0,9$; capítulo 2). Já comparando a duração das posturas das rainhas na colônia monogínica e quando as rainhas fixavam isoladamente a célula na colônia poligínica, verificamos que até quando estão sozinhas, as rainhas em condições poligínicas demoram significativamente mais tempo botando seus ovos, (Poligínica 3 rainhas $n=83$, duração $37,1 \pm 23,1$; Poligínica 2 rainhas $n=167$, duração $44,9 \pm 34,3$; Monogínica $n=374$, duração $23,9 \pm 7,2$; Kruskal Wallis $p<0,0005$; Teste U significância $p<0,017$, Poligínica 3 rainhas vs. Poligínica 2 rainhas $p<0,05$; Poligínica 3 rainhas vs. Monogínica $p<0,0005$; Poligínica 2 rainhas vs. Monogínica $p<0,0005$). Assim, a rainha da colônia monogínica coloca seus ovos rapidamente e vai procurar uma nova célula ou desaparece do favo.

Comparando a duração da postura de OT com a duração para colocar das OR, as operárias gastam significativamente mais tempo colocando ovos reprodutivos (OT $n=143$, duração $8,4 \pm 2,9$ seg. OR $n=15$ duração $30,5 \pm 18,8$ seg., teste U $p<0,0005$). Já comparando estes resultados contra a duração da oviposição de rainha da colônia monogínica (que é a mais rápida em colocar seus ovos), a duração para colocar ovo das OR e a postura de rainha não diferem (Ovo de rainha $n=374$, duração $23,9 \pm 7,2$). Na figura seguinte podemos visualizar estes resultados.

FIGURA 21: COMPARAÇÃO ENTRE A DURAÇÃO DA OVIPOSIÇÃO DA RAINHA E DOS DOIS TIPOS DE OVOS DAS OPERÁRIAS, TRÓFICOS E REPRODUTIVOS, EM *M. BICOLOR*.

A comparação seguinte se refere à idade das operárias poedeiras. Não existe diferença significativa entre as idades para colocar os dois tipos de ovos (Kruskal Wallis $p=0,1$), mas na figura 22a podemos ver que as operárias reprodutivas apresentam uma tendência a colocar seus ovos mais jovens (COLÔNIA MONOGÍNICA, OT, $15,2 \pm 2,7$ dia, $n=60$; COLÔNIA POLIGÍNICA: OT, $15,8 \pm 8,9$ dias, $n=143$; OR $13,7 \pm 3,1$ dias, $n=15$). Também podemos ver que a amostra dos ovos reprodutivos é muito pequena. Compilar informação sobre as OR é difícil posto que sua aparição não é freqüente e até agora se desconhecem os fatores que as produzem.

Uma percentagem de operárias consegue colocar mais de um ovo (COLÔNIA MONOGÍNICA: 18 OT [20%]; COLÔNIA POLIGÍNICA: 18 OT [14,1%], e 6 [54,6%] OR). Duas operárias conseguiram colocar dois ovos no mesmo dia, entretanto, a maioria bota ovos a intervalos maiores, decorridos em média de três a oito dias (COLÔNIA MONOGÍNICA: intervalo de $5,1 \pm 2,3$ dias para OT; COLÔNIA POLIGÍNICA: intervalos de $7,2 \pm 2,4$ dias para OT, e de $2,6 \pm 1,6$ dias para OR; Fig. 22b). O teste de Kruskal Wallis mostra que há diferenças significativas para este intervalo entre os dois tipos de poedeiras, e entre estas e as poedeiras de ovos tróficos da colônia monogínica (OT da colônia monogínica vs OT da colônia poligínica $p<0,05$; OT da colônia monogínica vs OR da colônia poligínica $p<0,005$; OT da colônia poligínica vs OR da colônia poligínica $p<0,0005$)

FIGURA 22: COMPARAÇÃO ENTRE AS COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA PARA AS IDADES DAS OPERÁRIAS POEDEIRAS E O INTERVALO DE TEMPO TRANSCORRIDO ENTRE DUAS POSTURAS NA MESMA OPERÁRIA EM *M. BICOLOR*.

Tanto na colônia poligínica como na monogínica, mas de 80% das operárias poedeiras colocam somente um ovo trófico (Fig. 23). Um único indivíduo colocou 4 ovos tróficos, mas esta era uma operária poedeira de ovos reprodutivos, extremamente ativa e fértil. Assim, aquelas abelhas que colocaram mais de um ovo trófico são indivíduos extraordinários, assim como todas as operárias reprodutivas.

FIGURA 23: COMPARAÇÃO ENTRE AS COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DA FREQUÊNCIA COM QUE UM MESMO INDIVÍDUO COLOCA UM OVO TRÓFICO EM *M. BICOLOR*.

As operárias podem apresentar movimentos intencionais para botar ovo. O comportamento é bastante típico e facilmente reconhecível: a operária lentamente coloca-se na célula na posição de botar, mas subitamente foge. Na colônia monogínica, de 40 operárias que apresentaram este comportamento 29 (72,5%) botaram ovo trófico, enquanto na colônia poligínica, de 62 operárias,

41 (66,1%) ovipositaram. Para aquelas que apresentaram este comportamento, mas que não botaram, pode haver duas explicações: ou os reabsorveram, ou os colocaram naqueles POP noturnos onde as operárias não puderam ser identificadas. Estas operárias representam as “quase poedeiras” que analisamos no capítulo sete.

Inserir o corpo na célula

Do total de comportamentos apresentados durante o POP, entre 66 e 78% destes comportamentos correspondem com inserir o corpo nas células (Fig. 24). A mesma porcentagem de operárias poedeiras e não poedeiras da colônia monogínica inserem o corpo nas células de cria, inspecionando (78% e 77% respectivamente). Já na colônia poligínica, as operárias reprodutivas inserem o corpo 59% das vezes, enquanto que as poedeiras de ovo trófico inserem 70%, e as não poedeiras apresentam um valor intermédio (65%).

FIGURA 24: COMPARAÇÃO ENTRE COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA DA PORCENTAGEM INVESTIDA EM CADA UM DOS COMPORTAMENTOS BÁSICOS EM *M. BICOLOR*.

Inserir o corpo na célula se correlaciona positivamente com todos outros comportamentos (COLÔNIA MONOGÍNICA: $n=214$ e $p<0,0005$ para todas as correlações, aprovisionando $R=0,83$; colocando ovos tróficos $R=0,46$, e operculando células $R=0,53$, Fig. 25 abc; COLÔNIA POLIGÍNICA: $n=353$, $p<0,0005$ para todas as correlações, aprovisionando $R=0,79$; colocando ovos tróficos $R=0,39$, e operculando células $R=0,36$; e colocando ovos

reprodutivos $R=0,28$; Fig. 25 def). Porém, vemos que o coeficiente de correlação mais alto é o obtido com o comportamento de aprovisionar alimento.

FIGURA 25: CORRELAÇÕES DO COMPORTAMENTO DE INSERIR O CORPO NA CÉLULA COM OS DEMAIS COMPORTAMENTOS, EM COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA EM *M. BICOLOR*.

Se analisarmos o comportamento de inserir separadamente para cada tipo de operária, para as operárias não poedeiras da colônia monogínica, não mudam a significância nem o coeficiente de correlação, enquanto para as operárias poedeiras ainda há significância, mas é menor, e o mesmo acontece com os coeficientes (COLÔNIA MONOGÍNICA: Operárias não poedeiras, $n=154$ e $p<0,0005$ para todas as correlações: aprovisionando $R=0,83$ e operculando células $R=0,54$; operárias OT $n=60$, aprovisionando $R=0,70$, $p=0,0005$, colocando ovos tróficos $R=0,38$, $p<0,005$ e operculando células, $R=0,34$, $p<0,05$). Já na colônia poligínica, para as OR encontramos correlação somente com o comportamento de opercular células (COLÔNIA POLIGÍNICA: Operárias OR, $n=11$: aprovisionar $p=0,1$, botar ovo trófico $p=0,9$; e botar ovo reprodutivo, $p=0,6$; opercular células $R=0,82$, $p=0,005$), enquanto para as operárias não poedeiras melhora o coeficiente (COLÔNIA POLIGÍNICA: Operárias

não poedeiras $n=217$ e $p<0,0005$ para todas as correlações, aprovisionando $R=0,82$, e operculando as células $R=0,40$). Já nas poedeiras de ovo trófico a significância se mantém, mas diminuem os coeficientes para aprovisionar e colocar ovos tróficos, e desaparece a significância com opercular as células (COLÔNIA POLIGÍNICA: Operárias OT $n=125$ e $p<0,0005$, aprovisionar $R=0,59$, botar ovos tróficos $R=0,33$, e opercular células $p=0,1$).

Comparação geral das operárias especializadas das colônias monogínica e poligínica

Na tabela VI encontramos os resultados para as análises anteriores. Com relação ao tempo investido em cada comportamento, vemos que em geral os tempos envolvidos nas atividades dos dois tipos de colônias são muito próximos. Já na idade das operárias, vemos que a colônia monogínica apresenta operárias exercendo as funções mais cedo, exceto para as poedeiras de ovos tróficos. Eventualmente, este pode ser o efeito causado pela diferença no momento em que se começaram a fazer a filmagem.

Já especificamente falando de operárias especiais, estas representam porcentagens diferentes para cada comportamento básico e em cada colônia. As aprovisionadoras, em geral, apresentam mais operárias especiais na colônia monogínica, enquanto nas operculadoras, as especiais representam 50%. Já com relação às poedeiras de ovos tróficos, vemos que na colônia poligínica há um número maior, mas como foi mencionado, a marcação não intensiva na colônia monogínica permitiu que numerosas operárias sem etiqueta participassem do POP. De fato, esta diferença pode estar subestimando a situação real com relação a número de operárias especiais da colônia monogínica.

TABELA VI: COMPARAÇÃO ENTRE OS COMPORTAMENTOS BÁSICOS DAS COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA EM *M. BICOLOR*.

	COLÔNIA MONOGÍNICA	COLÔNIA POLIGÍNICA
1ª APROVISIONADORA	DURAÇÃO (SEG.)	12,4±3,7
	IDADE (DIAS)	7,9±1,9
	PORCENTAGEM DO TOTAL MERCADO	27
	PORCENTAGEM DE OPERÁRIAS ESPECIAIS	40
	EFICIÊNCIA	45% DOS POP
APROVISIONADORAS	DURAÇÃO (SEG.)	5±1,8
	IDADE (DIAS)	8,6±2,8
	PORCENTAGEM DO TOTAL MERCADO	82
	PORCENTAGEM DE OPERÁRIAS ESPECIAIS	40
	EFICIÊNCIA	C/U 54 DESCARGAS
OPERCULADORAS	DURAÇÃO (SEG.)	280,6±103,7
	IDADE (DIAS)	10,8±3,8
	PORCENTAGEM DO TOTAL MERCADO	36
	PORCENTAGEM DE OPERÁRIAS ESPECIAIS	50
	EFICIÊNCIA	45% DOS POP
POEDEIRAS DE OVO TRÓFICO	DURAÇÃO (SEG.)	8,3±2,1
	IDADE (DIAS)	15,2±2,7
	PORCENTAGEM DO TOTAL MERCADO	28
	PORCENTAGEM DE OPERÁRIAS ESPECIAIS	14
	INTERVALO DE TEMPO ENTRE OVOS (DIAS)	5,1±2,3
OPERÁRIAS REPRODUTIVAS	DURAÇÃO (SEG.)	30,5±18,8
	IDADE (DIAS)	13,7±3,1
	PORCENTAGEM DO TOTAL MERCADO	3
	PORCENTAGEM DE OPERÁRIAS ESPECIAIS	3
	INTERVALO DE TEMPO ENTRE OVOS (DIAS)	2,6±1,6

TABELA VII: SELEÇÃO DE OPERÁRIAS ESPECIALISTAS NOS COMPORTAMENTOS OBSERVADOS NO POP NAS COLÔNIAS MONOGÍNICA E POLIGÍNICA. (*) MOVIMENTO INTENCIONAL DE BOTAR OVO.

1. BOTAR OVO REPRODUTIVO; 2. PRIMERIA REGURGITAÇÃO; 3 APROVISIONAR ALIMENTO

4. BOTAR OVO TRÓFICO; 5. OPERCULAR A CÉLULA

COLÔNIA MONOGÍNICA						COLÔNIA POLIGÍNICA						
INDIVÍDUO		COMPORTAMENTO				INDIVÍDUO		COMPORTAMENTO				
		2	3	4	5			1	2	3	4	5
1	B:	X	X	X	X	1	BG	X		X	X	X
2	G#	X	X		X	2	?K	X	X	X	X	X
3	LJ	X	X			3	:K	X		X	X	X
4	XS	X	X			4	x7	X		X	X	X
5	D?	X		X		5	UI	X		X	X	X
6	DG		X	X		6	BK	X		X	X	X
7	BN			X	X	7	WC	X		X		
8	M?	X				8	HEART W	X		X		
9	B+	X				9	S5	X		X		
10	DS	X				10	!T	X				
11	GN	X				11	AP	X				
12	LS	X				12	R3		X	X	X	X
13	MA	X				13	%H				X	X
14	SJ		X			14	ARROBA E				X	X
15	G+			X		15	D6			X		X
16	J+			X		16	Bc		X	X		
17	C:			X		17	Nf II			X		
18	D:			X		18	.4				X	
19	F:			X		19	A5				X	
20	DC			X		20	RC				X	
21	DF			X		21	SLASH B				X	
22	BG			X		22	M2				X	
23	F>			X		23	T4				X	
24	K>			X		24	&k				X	
25	J:				X	25	?6				X	
26	DS				X	26	DY				X	
27	LC				X	27	OMEGA 2				X	
28	O:	X	X		X	28	R1				X	
29	TN	X	X		X	29	B4				X	
30	AF	X			X	30	NV				X	
31	B&	X	X			31	N8				X	
32	MJ	X	X			32	Ed				X	
33	GC	X				33	HEART E					X
34	HG*	X				34	#x					X
35	K+*	X				35	DEAD 3					X
36	MS	X				36	NF					X
37	SA	X				37	Es		X	X		
38	ZA	X				38	Tb II			X		X
39	GA*				X	39	Xb II			X		X
40	GK			X	X	40	Yp II			X		X
41	HJ			X	X	41	Hd			X		
42	LK			X	X	42	PA II			X		
43	SG			X	X	43	Px II			X		
44	V+			X	X	44	Tg II			X		
TOTAL X COMPORTAMENTO		22	10	14	15	45	20 II			X		
MÉDIA DAS NÃO POEDEIRAS						46	ZA II			X		
						47	AD				X	
						48	AF				X	
						49	EA*				X	
						50	Ec				X	
						51	Gg*				X	
						52	Ps II				X	
						53	Uf II				X	
						54	12 II				X	
						TOTAL X COMPORT.		11	4	23	19	25

S.I.: SEM INFORMAÇÃO:
OVÁRIOS PERDIDOS NA DISSECAÇÃO

Na tabela VII encontramos a lista das operárias que apresentaram comportamentos extraordinários. Para a colônia monogínica foram 44 indivíduos, ou seja, 20,1% de operárias participantes. Já na colônia poligínica, foram 54 operárias, ou seja, 15,3%. Podemos ver que destes indivíduos especiais, 61% e 67% respectivamente para as colônias monogínica e poligínica, são operárias produtoras de ovos, sejam estes reprodutivos ou tróficos. Em ambas as colônias, algumas das operárias que não colocaram ovo (3 na C. monogínica e 2 na poligínica), tinham apresentado movimentos intencionais para fazê-lo; e como se têm as áreas dos ovários das operárias da colônia monogínica, encontramos que 8 operárias têm ovários maiores que a média para as operárias não poedeiras ($1,38 \text{ mm}^2$). Estes resultados nos fazem acreditar que todas estas especialistas, apesar de não terem colocado ovos, tinham seus ovários desenvolvidos.

DISCUSSÃO

Uma primeira conclusão é que as operárias jovens de *M. bicolor* apresentam uma alta taxa de sobrevivência. Uma alta porcentagem de abelhas recuperadas no final do experimento (88% e 92%) também foi encontrada por Bego (1983) para abelhas de idades semelhantes às nossas, em *M. bicolor*. A porcentagem das nossas operárias que não participam do POP está entre 1% e 14% e é possível que estas abelhas representem aquelas que não faziam “nada” nas observações reportadas por Bego (1983).

A distribuição das diversas tarefas à medida que as operárias envelhecem, apresenta uma tendência à bimodalidade, embora esta seja discreta na colônia monogínica. Os picos de atividade na colônia monogínica se encontram deslocados para idades menores e fica a dúvida se este resultado se deve às condições de filmagem, como já se comentou, ou ao fato de não haverem operárias reprodutivas. Contudo, é interessante que estas curvas encaixariam muito bem com as concentrações hormonais para cada idade e com os picos hormonais apresentados por *M. quadrifasciata* (Santana, 2002). Em operárias confinadas de *M. quadrifasciata*, a concentração de

hormônio juvenil apresenta uma tendência a aumentar com a idade até chegar ao pico que aconteceu aos 8 dias, apresentando em seguida uma forte descida. Por sua vez, o comportamento dos ecdisteroides foi oposto, apresentando concentrações baixas até os 11 dias, mas com seu pico aos 12 dias (Santana, 2002). Em outro experimento com operárias marcadas, colocadas em sua colônia e recapturadas, embora a informação seja fragmentada, encontramos alta concentração de hormônio juvenil entre os 7º e 13º dias, enquanto os ecdisteroides apresentam sua maior concentração entre os 14º e 18º dias (Santana, 2002). Nesta abelha, os hormônios se comportam de maneira oposta e complementar, similar às nossas distribuições dos comportamentos básicos, na colônia monogínica de *M. bicolor*. O comportamento dos níveis de concentração e dos picos de hormônio juvenil em *M. quadrifasciata* correspondem aos nossos picos de maior atividade nos comportamentos de inserir ou corpo, aprovisionar a célula e opercular; também vemos que o comportamento das concentrações e o pico dos ecdisteroides em *M. quadrifasciata* correspondem ao comportamento e pico de produção de ovos tróficos. Seria interessante analisar individualmente os níveis hormonais diretamente em *M. bicolor*.

A contraposição das duas curvas na distribuição de atividades na colônia monogínica em *M. bicolor* é confirmada pelas correlações positivas entre os comportamentos de inserir o corpo, aprovisionar e opercular a célula, e pelas correlações negativas com o comportamento de botar ovos tróficos. Na colônia poligínica, a fase de ovipositar continua aparecendo na mesma faixa de idades que na colônia monogínica, mas desaparecem as correlações negativas, e em seu lugar aparece um grande aumento da atividade total. A separação das operárias nos três tipos (reprodutora, poedeiras de ovos tróficos e não poedeiras) mostra-nos que as 11 operárias reprodutivas não acompanham o padrão geral encontrado para os outros dois tipos de operárias, mas apresentam nos comportamentos de inserir o corpo e aprovisionar a célula, uma distribuição mais homogênea com o passar do tempo, isto é, um esforço contínuo e mais constante para participar ativamente do POP. Já os comportamentos de opercular a célula, e botar ovos reprodutivos e tróficos, são bem irregulares e apresentam vários picos, semelhantes ao padrão geral das

demais operárias. Do cálculo da participação média por operária, concluímos que as operárias reprodutivas, apesar de terem sido somente 11 indivíduos, conseguem diminuir pela metade a participação das operárias poedeiras de ovo trófico e praticamente conseguem expulsar às operárias não poedeiras. Na colônia monogínica, onde não houve operárias reprodutivas, as poedeiras de ovo trófico trabalharam três vezes mais que as operárias com a mesma atividade na colônia poligínica. Não existem dados na literatura para tratar destes resultados.

Analisando as operárias de cada grupo de idade nas duas colônias, dentro da mesma faixa etária existe uma grande variabilidade no comportamento de cada indivíduo, refletido graficamente e comprovado nos coeficientes de variação da participação total. Quando agrupamos as operárias em poedeiras e não poedeiras, encontramos diferenças significativas em todas as variáveis medidas, ou seja, tanto na assiduidade como na constância e no tempo investido para todos os comportamentos básicos.

Em ambas colônias, a grande maioria de operárias que participa do POP realiza os comportamentos de inserir ou corpo na célula e de aprovisionar com alimento larval; já para opercular a célula somente entre 36% e 50% das operárias realiza esta atividade, apesar de haver POPs suficientes para que cada operária selasse pelo menos uma célula. Como este comportamento está significativamente correlacionado com os outros (dados não publicados, Capítulo 7), podemos concluir que as abelhas mais persistentes em aprovisionar e colocar ovos, também exercem uma forte competição por opercular, e assim monopolizam esta tarefa, que é um comportamento que em geral, necessita só de uma operária para completá-lo.

Quando os indivíduos, através da repetição, melhoram a execução de uma tarefa, esta especialização produz um benefício a nível colonial. Apesar de existirem explicações para a importância de tal especialização, é muito pouco o que se conhece sobre os mecanismos proximais que a geram (Gautrais *et al.*, 2002). Nossas operárias especiais, chamadas também com os termos de elite, excepcionais ou também especializadas, representam um total entre 28% e 45% (menos as operárias reprodutivas) do total de operárias realizando cada comportamento básico. O que temos claro em nossos resultados é que estas

operárias continuam pertencendo ao grupo de indivíduos com ovários bastante desenvolvidos. Portanto, diferenças no desenvolvimento ovariano poderiam representar um mecanismo proximal interno que provocaria os limiares de resposta (modelo de limiar de resposta) que promoveriam os diversos interesses no POP. O segundo mecanismo proximal interno seria a execução repetitiva da tarefa, uma vez que a repetição reforçaria o comportamento nas operárias com ovários desenvolvidos (modelo de auto-reforço), enquanto as não poadeiras “esqueceriam” esta tarefa por falta de prática dada à alta competitividade das operárias poadeiras (modelo de auto-reforço e de inibição social); a inibição social seria o terceiro mecanismo já de natureza externa, que integraria o comportamento individual em um contexto social (Beshers & Fewell, 2001). É necessário dar mais atenção a este tipo de operárias para poder determinar se representam indivíduos “chave” (*Key individuals* Robson & Trianello, 1999), necessários ou até indispensáveis no POP.

Também se deve concentrar esforços em acompanhar às operárias reprodutivas que são apenas 3% do total de população marcada, mas apresentam níveis de atividade muito altos e comportamentos que não se encaixam ao das demais operárias. Existe uma diferença entre operárias poadeiras de ovos tróficos e operárias reprodutivas com relação à idade na qual as últimas começam a colocar ovos. Nossos dados mostram que as operárias reprodutivas tendem a começar sua postura a idades menores que as poadeiras de ovos tróficos. Este fato também foi visto em *M. subnitida* (Koedam *et al.*, 1999) e em *Scaptotrigona postica* (Bego, *et al.*, 1983). Estes resultados reforçam ainda mais a idéia de que os ovos tróficos são ovos reprodutivos em vias de degeneração. Somente se encontrou um artigo referindo-se brevemente ao intervalo de dias entre a postura de ovos. Koedam e col (1999), encontram que em *M. subnitida*, uma operária reprodutiva demorou em média 4,7 dias entre a postura de 5 ovos reprodutivos. Em nossos resultados, o intervalo de tempo entre ovos tróficos é muito maior que entre ovos reprodutivos, refletindo a pressa das operárias reprodutivas por colocar seus ovos. Já na colônia monogínica, o curto intervalo entre posturas de ovo trófico, pode dever-se à exigência da rainha em consumir ovos na maioria dos POP (Capítulo 2).

A nível evolutivo se diz que a divisão de trabalho representa uma perda do repertório comportamental total dos indivíduos. Portanto, a colônia se converte no equivalente a um indivíduo totipotente e solitário, mas com uma maior eficiência ergonômica (Oster & Wilson, 1978). Apesar da atomização do repertório total, há comportamentos básicos que se devem manter conectados. Em nosso caso, inserir o corpo ou a cabeça na célula está relacionado com aprovisionar alimento e colocar ovos, mas não deveria com opercular a célula. Os comportamentos de aprovisionar e colocar ovos provavelmente estão regulados pelo nível de alimento na célula. Para o comportamento de aprovisionar, é importante saber quando parar; para colocar ovos, em abelhas do gênero *Melipona*, os ovos tróficos são colocados em cima do alimento larval exatamente como os ovos de rainha, ou seja, quando a célula está totalmente aprovisionada. Para estes dois comportamentos então, é importante inspecionar a célula antes de prosseguir. Já com relação ao comportamento de opercular a célula, ter encontrado correlação nos questiona: para opercular a inspeção não é necessária, já que a presença do ovo da rainha provavelmente é percebida através de um feromônio volátil (Capítulo 3). Inspeccionar a célula (o inserir o corpo) é uma atividade para a qual as abelhas dedicam entre o 66 e 78% de seus esforços, que representa ao menos duas vezes mais do requerido para completar o POP. Porém, acreditamos que o excesso de inserções acontecia na fase de pós-aprovisionamento. Este fato é bem claro na colônia monogínica, onde comprovamos que a rainha adia sua própria postura até receber ovos tróficos, aumentando a duração do POP significativamente (Capítulo 2). Numerosas operárias chegavam dispostas a descarregar, mas ao inserir a cabeça, percebiam que a célula já tinha alimento suficiente. O comportamento exibido quando a operária era poedeira era muito diferente: ficava na vizinhança da célula, e inspecionava inúmeras vezes antes de colocar seu ovo, refletindo talvez, o conflito interno entre a atração para a célula e a repulsa à presença da rainha (Sakagami & Zucchi, 1974).

Na revisão feita por Bourke sobre a reprodução de operárias (1988), discute-se que o monomorfismo (ausência de castas morfológicas) está associado à presença de ovários e conclui que a reprodução das operárias influenciou muito na evolução de várias características coloniais, uma das quais é o

polietismo temporário. (Bourke, 1988). Em várias espécies, entre elas algumas onde não há operárias reprodutivas, as mudanças comportamentais apresentadas pelas operárias à medida que envelhecem são paralelas com as mudanças no desenvolvimento de seus ovários: operárias jovens que trabalham dentro do ninho apresentam ovários desenvolvidos, enquanto que as mais velhas trabalhando fora da colônia, os apresentam degenerados (Wilson, 1985). Assim é possível que, em algumas espécies, o desenvolvimento ovariano evoluísse para atuar como mecanismo para dividir o trabalho (Bourke, 1988). Porém, outra consequência da permanência de operárias reprodutivas, poderia ser que estas não participassem do forrageio ou da defesa da colônia, já que estas ocupações supõem um risco de vida, contrario aos seus interesses reprodutivos (Franks & Scovell, 1983). E é isto precisamente o que Inoue e col. (1996) encontraram em *Trigona (Tetragonula) minangkabau*, onde a população de um ninho pode ser dividida em abelhas nutridoras que podem passar toda sua vida cuidando da cria, e forrageiras que pouco trabalham no núcleo de cria. O que não se menciona é se as abelhas nutridoras colocavam ovos de algum tipo. Pena não saber de seu estado ovariano.

Atualmente se consideram os insetos sociais como sistemas complexos auto-regulados. Este novo enfoque permitiu compreender ainda melhor o comportamento social. Modelos simulados em computador, apoiados em dados empíricos e em considerações evolutivas gerais, permitiram comprovar alguns dos mecanismos que podem estar envolvidos na integração indivíduo/sociedade. Os padrões gerais encontrados tanto para a colônia monogínica, como para a poligínica, sobre a diferença de envolvimento das operárias poedeiras e não poedeiras, pertencem aos resultados empíricos que apóiam três dos vários modelos que existem para esclarecer os mecanismos proximais da divisão de trabalho e do comportamento individual. Nossas observações abrem portas para uma nova procura das respostas para as numerosas perguntas sobre a divisão de trabalho dentro da grande variedade e opções comportamentais que se apresentam nos meliponíneos.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Dr. Hayo H. W. Velthuis e ao Dr. Dirk Koedam pela colaboração durante a filmagem. Especiais agradecimentos ao Dr. Pêrsio Souza Santos Filho pela ajuda com o tratamento estatístico dos dados e na interpretação dos resultados. Agradecemos também aos colegas Sérgio Dias Hilário e Felipe Contrera pelas sugestões e pela revisão do português. Este trabalho foi financiado pela FAPESP (Processo 99/00180-0).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALONSO, W.J.; LUCENA, T.; FRACASSO, C.M.; VELTHUIS H.H.W. & IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. Do *Melipona bicolor* (Apidae: Meliponinae) workers distinguish relatedness among different physogastric queens? **Apidologie**, v.29, p.1-11, 1998.
- BEGO, L.R. On some aspects of bionomics in *Melipona bicolor* Lepeletier (Hymenoptera: Apidae: Meliponinae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v.27, n.3/4, p.211-224, 1983.
- BEGO, L.R.; SIMÕES, D. & ZUCCHI, R. On some structures in *Nannotrigona* (*Scaptotrigona*) *postica* Latreille (Hymenoptera, Meliponinae). **Boletim de Zoologia da Universidade de São Paulo**, v.6, p.79-88, 1983.
- BESHES, S.N.; ROBINSON, G.E. & MITTENTHAL, J.E. Respond thresholds and division of labor in insect colonies. In: DETRAIN, C.; DENEUBOURG, J. & PASTEELS, J.M. (Eds). **Information processing in social insects**. Basel, Boston, Berlin: Birkhauser Verlag, 1999, p. 115-139.
- BESHES, S.N. & FEWELL, H.J. Models of division of labor in insect societies. **Annual Review of Entomology**, v.46, p.413-430, 2001.
- BONABEAU, E.; THERAULAZ, G. & DENEUBOURG, J.L. Quantitative study of the fixed threshold model for the regulation of division of labor in insects. **Proceedings of the Royal Society of London**, v.263, p.1565-1569, 1996.
- BONABEAU, E. THERAULAZ, G. Role and variability of response thresholds in the regulation of division of labor in insect societies. In: DETRAIN, C.; DENEUBOURG, J. & PASTEELS, J.M. (Eds). **Information processing in social insects**. Basel, Boston, Berlin: Birkhauser Verlag, 1999, p. 141-163.
- CALDERONE, N.W. & PAGE Jr. R.E. Genotypic variability in age polyethism and task specialization in the honeybee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v.22, p.17-25, 1988.
- CAMILLO-ATIQUE C. **Variabilidade do comportamento de *Melipona rufiventris* (Hymenoptera, Apoidea)**. Dissertação, Faculdade de Medicina, Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 1974.
- CECCATO, S. **Divisão de trabalho entre as operárias de *Melipona rufiventris flavolineata* Friese (Hymenoptera, Apoidea)**. Dissertação, Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, 1970.

- DRUMMOND, P.M.; ZUCCHI, R. & OLDROYD, B.P. Description of the cell provisioning and oviposition process of seven species of *Plebeia* Schwarz (Apidae, Meliponini) with notes on their phylogeny and taxonomy. **Insectes Sociaux**, v.47, p.99-112, 2000.
- FRANKS, N.R. & SCOVELL, E. Dominance and reproductive success among slave making worker ants. **Nature**, v.304, p.724-725.
- GAUTRAIS, J.; THERAULAZ, G.; DENEUBOURG, J.L. & ANDERSON, C. Emergent polyethism as a consequence of increased colony size in insect societies. **Journal of Theoretical Biology**, v.215, p.363-373, 2002.
- GORDON, D.M. Interaction patterns and task allocation in ant colonies In: DETRAIN, C.; DENEUBOURG, J. & PASTEELS, J.M. (Eds). **Information processing in social insects**. Basel, Boston, Berlin: Birkhauser Verlag, 1999, p.51-68.
- GREEN, S.B.; SALKIND, N.J. & AKEY, T.M. **Using SPSS for windows. Analyzing and understanding data**. 2nd Edition, Prentice Hall, New Jersey, 430pp, 2000.
- HUANG, Z.Y. & ROBINSON, G.E. Social control of division of labor in honeybee colonies. In: DETRAIN, C.; DENEUBOURG, J. & PASTEELS, J.M. (Eds). **Information processing in social insects**. Basel, Boston, Berlin: Birkhauser Verlag, 1999, p.165-186.
- INOUE, T.; SALMAH, S. & SAKAGAMI, S.F. Individual variations in worker polyethism of the sumatran stingless bee *Trigona (Tetragonula) minangkabau* (Apidae, Meliponinae). **Journal of Entomology**, v.64, n.3, p.641-668, 1996.
- KOEDAM, D. CONTRERA F.A.L. & IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. Clustered male production by workers in the stingless bee *Melipona subnitida* Ducke (Apidae, Meliponinae). **Insectes Sociaux**, v.46, p.387-391, 1999.
- KOEDAM, D.; VELTHUIS, H.H.W.; DOHMEN, M.R. & IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. The behavior of laying workers and the morphology and viability of their eggs in *Melipona bicolor bicolor*. **Physiological Entomology**, v.26, p.254-259, 2001.
- KOLMES, S.A. & SOMMEIJER, M.J. A quantitative analysis of behavioral specialization among worker stingless bees (*Melipona favosa* F.) performing hive duties. **Journal of the Kansas Entomological Society**, v.65, n.4, p.421-430, 1992.
- MICHENER, C.D. The social behavior of the bees: a comparative study. The Belknap Press of Harvard University Press, USA, 1974, 440 pp.
- O'DONNELL, S. Effects of experimental forager removals on division of labor in the primitively eusocial wasp *Polistes instabilis* (Hymenoptera, Vespidae). **Behaviour**, v.135, p.174-193, 1998.
- O'DONNELL, S. & JEANNE R.L. Forager specialization and the control of nest repair in *Polybia occidentalis* Oliver (Hymenoptera: Vespidae). **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v.27, p.359-364, 1990.
- OSTER, G.F. & WILSON, E.O. **Caste and ecology in social insects** Monographs in population biology – 12 Ed. by R.M. May Princeton University Press, 1978, 352 pp.
- RISSING, S.W. Foraging specializations of individual seed harvester ants. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v.9, p.149-152, 1981.
- ROBINSON, G.E. Regulation of division of labor in social insects. **Annual Review of Entomology**, v.37, p.637-665, 1992.

- ROBSON, S.K. & TRANIELLO, J.F.A. Key individuals and the organization of labor in ants. In: DETRAIN, C.; DENEUBOURG, J. & PASTEELS, J.M. (Eds). **Information processing in social insects**. Basel, Boston, Berlin: Birkhauser Verlag, 1999, p.239-260.
- RONACHER, B. & WEHNER, R. The individual at the core of information management. In: DETRAIN, C.; DENEUBOURG, J. & PASTEELS, J.M. (Eds). **Information processing in social insects**. Basel, Boston, Berlin: Birkhauser Verlag, 1999, p.277-286.
- SAKAGAMI, S.F. Stingless bees In: **Social insects Vol III**, Ed. By Henry Hermann Academic Press. USA, 1982, pp 361-423.
- SAKAGAMI, S.F. & ZUCCHI, R. Estudo comparativo do comportamento de varias especies de abelhas sem ferrao, com especial referencia ao processo de aprovisionamento e postura das celulas. **Ciência e Cultura**, v.18, n.3, p.283-296, 1966.
- SAKAGAMI, S.F. & ZUCCHI, R. Oviposition behavior of two dwarf stingless bees, *Hypotrigona (Leurotrigona) muelleri* and *Hypotrigona (Trigonisca) duckei*, with notes on the temporal articulation of the oviposition process in stingless bees. **Journal of the Faculty of Science, Hokkaido University, Series VI, Zoology**, v.19, p.361-421, 1974.
- SANTANA, W.C. **Hormônio juvenil e ecdisteróides na vida adulta de machos, rainhas e operárias de *Melipona quadrifasciata* Lepeletier (Apidae, Meliponinae): Relação com a reprodução e divisão de trabalho**. Dissertação, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Brasil, 2002.
- SEELEY, T.D. & KOLMES, S.A. Age polyethism for hive duties in honeybees – illusion or reality? **Ethology**, v.87, p.284-297, 1991.
- SOKAL, R.R. & ROHLF, F.J. **Biometry. The principles and practice of statistics in biological research**. 3rd Edition, W.H. Freeman and Company, New York, USA, 887p. 1997.
- SOMMEIJER, M.J.; ROOY, G.A. de & BRUIJN, L.L.M. de. A comparative study of foraging behavior and pollen resources of various stingless bees (Hymenoptera, Meliponinae) and honeybees (Hymenoptera, Apinae) in Trinidad, West Indies. **Apidologie**, v.14, p.205-224, 1983.
- THERAULAZ, G.; GERVET, J. & SEMENOFF, S. Social regulation of forage activities in *Polistes dominilus* Christ: a systemic approach to behavioral organization. **Behaviour**, v.116, p.292-320, 1991.
- THERAULAZ, G.; GERVET, J.; THON, B.; PRATT, M. & SEMENOFF-TIAN-CHANSKI, S.S. The dynamics of colony organization in the primitively eusocial wasp *Polistes dominilus* Christ. **Ethology**, v.91, p.177-202, 1992.
- THERAULAZ, G.; BONABEAU, E. & DENEUBOURG, J.L. Response threshold reinforcement and division of labor in insect societies. **Proceedings of the Royal Society of London**, v.265, p.327,332, 1998.
- TRANIELLO, J.F.A. Caste in a primitive ant: absense of age poliethism in *Amblyopone*. **Science**, v.202, p.770-772, 1978.
- VELTHUIS, H.H.W.; PEREBOOM, Z.; KOEDAM, D. & IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. Cooperation and competition in a colony of the polygynous stingless bee *Melipona bicolor*, illustrated by the two kinds of worker eggs and the behaviors of workers laying them. **Proceedings of the Section Experimental and Applied**

Entomology of the Netherlands Entomological Society (NEV), v.14, p.49-52, 2003.

VISSCHER, P.K. & CAMAZINE, S. The mystery of swarming honeybees: from individual behaviors to collective decisions. In: DETRAIN, C.; DENEUBOURG, J. & PASTEELS, J.M. (Eds). **Information processing in social insects**. Basel, Boston, Berlin: Birkhauser Verlag, 1999, p.355-378.

WILSON, E.O. **The insect societies**. The Belknap Press of Harvard University Press, USA, 1971, 548 pp.

WILSON, E.O. The sociogenesis of insect colonies. **Science**, v.228, p.1489-1495, 1985.

ZUCCHI, R.; SILVA MATTOS, E.V. DA; NOGUEIRA-FERREIRA, F.H. & GARCIA AZEVEDO, G. On cell provisioning and oviposition process (POP) of the stingless bees. Nomenclature Reappraisal and evolutionary considerations. **Sociobiology**, v.34, n.1, p.65-86, 1999.

CAPÍTULO 5

ESPECIALIZAÇÃO EM OPERÁRIAS DE *Melipona bicolor*
LEPELETIER 1836: AS PRIMEIRAS APROVISIONADORAS DE
ALIMENTO LARVAL NO PROCESSO DE APROVISIONAMENTO E
POSTURA (POP)

CAPÍTULO 5

ESPECIALIZAÇÃO EM OPERÁRIAS DE *Melipona bicolor* LEPELETIER 1836: AS PRIMEIRAS APROVISIONADORAS DE ALIMENTO LARVAL NO PROCESSO DE APROVISIONAMENTO E POSTURA (POP)

Trabalho aceito para ser publicado no livro: “APOIDEA NEOTROPICA: homenagem aos 90 anos de Jesus S. Moure”. Autoras: Fabiana C. Piocker⁽¹⁾, Olga Inés Cepeda Aponte⁽²⁾ & Vera Lucia Imperatriz-Fonseca⁽²⁾

ABSTRACT

Studies on division of labor have demonstrated that despite being an important factor, etharism alone would impose rigidity to societies and thus, would make them less efficient probably leading them to extinction. Plasticity of behavior is then recognized as essential being expressed as individual differentiation among genetically similar sisters. Furthermore, task specialization of some individuals leads to a better performance of the colony as a whole. In this chapter we give evidence for specialization in the provisioning and oviposition process: a task such as the first discharge of food in *Melipona bicolor*, is carried out mainly by few, specialized individuals that exhibit a particular behavioral repertory.

RESUMO

Os estudos da divisão do trabalho em insetos sociais demonstraram que embora a diferenciação de tarefas baseada na idade seria um fator importante, este mecanismo sozinho imporia uma rigidez nas sociedades que as conduziriam provavelmente à extinção. A plasticidade então é reconhecida como essencial, e a diferenciação entre indivíduos geneticamente similares deve existir. Contudo, a especialização nas tarefas de alguns indivíduos conduz a um melhor desempenho na colônia. Neste capítulo fornecemos evidências de que ocorre especialização no processo de aprovisionamento e postura (POP): poucos indivíduos “especiais” que apresentaram um repertório comportamental específico, e realizam a primeira regurgitação de alimento em *Melipona bicolor*.

PALAVRAS CHAVE: Divisão de trabalho, *Melipona bicolor*, Processo de aprovisionamento e postura (POP), Especialização, Abelha sem ferrão

INTRODUÇÃO

O processo de aprovisionamento e postura (POP) é uma característica marcante dos meliponíneos (Sakagami, 1982). Sakagami e Zucchi (1963), estudando o comportamento de *Scaptotrigona postica* durante o POP, dividiram-no em seis estágios, caracterizando cada um de acordo com um evento ou comportamento definido. Assim, são reconhecidas seis fases dentro do POP: 1) “construção da célula”, caracterizada pela construção e acabamento da mesma (ou varias células dependendo da espécie); 2) Fase de pré-aprovisionamento ou “fixação da rainha”, quando esta escolhe a célula onde será feita a próxima postura; 3) Fase de aprovisionamento, caracterizada por sucessivas regurgitações de alimento pelas operárias na célula de cria. A fase de pós-aprovisionamento é dividida em: 4) ingestão de alimento pela rainha, que pode ser tanto a ingestão de parte do alimento larval depositado pelas operárias, como a oofagia, isto é, a ingestão do chamado ovo trófico colocado por uma operária. 5) “Oviposição”, quando a rainha coloca seu ovo na célula; 6) “fechamento” ou “operculação”, em que a

célula contendo o ovo da rainha é fechada por uma ou mais operárias. Essa divisão foi modificada por Zucchi e col. (1999), que detalharam o período de oviposição e o período inter-oviposições, determinando uma série de sub-componentes que variam conforme o táxon.

A fase de fixação da rainha marca o início do POP. Para diversas espécies de *Melipona*, essa fase se caracteriza por um aumento na agitação das operárias no favo, que fazem várias inserções na célula e movimentos contínuos de vai e vem (“advance-retreat”) (Sakagami & Oniki, 1963; Sakagami, *et al.*, 1965; Sakagami & Zucchi, 1966; Sommeijer *et al.*, 1982). O início do POP parece depender do grau de agitação das operárias (Sommeijer & Bruijn, 1984). Em *M. compressipes manaoensis*, por exemplo, foi observado que algumas vezes a rainha chegava no favo, mas não se fixava, provavelmente porque a agitação das operárias era ainda insuficiente (Sakagami & Oniki, 1963). Darakjian (1991) encontrou comportamento similar para *M. quadrifasciata* e sugeriu que o início do POP não dependeria da rainha exclusivamente, mas de um grau mínimo de agitação das operárias. A agitação, contudo, não é totalmente independente, pois a mesma autora percebeu que a retirada da rainha da colônia reduziu a agitação das operárias.

Sakagami e Zucchi (1966) observaram que a fixação da rainha é uma consequência de diversos estímulos internos e externos. A pressão produzida pela presença dos ovos nos ovários e o apetite da rainha seriam estímulos internos que forçariam a rainha a procurar o favo, enquanto a forma da célula pronta e a concentração de operárias excitadas serviriam como estímulos externos, e a combinação aumentaria cada vez mais a excitação total, o que provocaria, finalmente, a regurgitação de alimento. Sakagami e col. (1977) apontaram o fato de que o comportamento da operária durante a primeira regurgitação quase nunca é observado, pois a maioria dos estudos se concentra no comportamento da rainha. Uma exceção é o trabalho de Sommeijer e Bruijn (1984), que observaram o comportamento de operárias marcadas de *M. favosa* durante a construção das células de cria e durante o POP. Eles perceberam que as operárias que participam da construção de uma célula de cria apresentam um conjunto de comportamentos típicos no período de extra-oviposição (durante a corte), caracterizado por movimentos

de vai e vem e por comportamentos como “*dart*” (arremessar contra rainha) e o batimento com as antenas na rainha. Perceberam ainda que essas operárias participavam ativamente do aprovisionamento das células que construíam, repetindo o conjunto de comportamentos apresentados durante a fase de repouso da rainha.

Estudando o comportamento do POP de *M. bicolor*, Bego (1989) percebeu que esta espécie, a única com registro de poliginia dentro dos meliponíneos (Kerr, 1949; Silva *et al.*, 1972; Bego, 1989), apresenta as seis fases sugeridas por Sakagami e Zucchi (1963), dentre as quais focaremos a fase de fixação, também chamada de fase de pré-aprovisionamento. Semelhante ao observado para outras espécies de meliponíneos, *M. bicolor* também apresenta um aumento na agitação das operárias durante a fase de pré-aprovisionamento, que termina na primeira regurgitação de alimento larval.

Sommeijer e col. (1982) observaram que, em *M. favosa*, algumas poucas operárias realizaram a primeira regurgitação de alimento em células consecutivas. Além disso, as abelhas aprovisionadoras, que também participaram da construção da célula de cria (“*build-provisioning workers*” – *BP*), formaram um grupo distinto de operárias, que teria a função de facilitar o aprovisionamento da célula.

Em *M. bicolor* também foi observada a existência de um grupo distinto, composto pelas operárias que realizaram a primeira regurgitação de alimento larval. Observando 233 POP em 10 dias consecutivos em uma colônia poligínica da espécie, Cepeda (Capítulo 4) notou que na colônia monigínica, de 353 abelhas que participaram do POP, somente 55 (15,6%) foram responsáveis pela primeira regurgitação de alimento. Destas, quatro abelhas foram responsáveis por aproximadamente 33% das primeiras regurgitações, indicando uma possível especialização. O objetivo deste trabalho foi verificar o comportamento dessas abelhas durante a fase de pré-aprovisionamento, procurando definir o conjunto de comportamentos envolvidos nessa possível especialização e suas implicações para a eficiência do POP.

MATERIAIS E MÉTODOS

Observação do comportamento das operárias

O registro das atividades de oviposição foi feito através de gravações de 24 horas em vídeo ao longo de 10 dias consecutivos. As filmagens foram feitas em uma colônia poligínica com três rainhas de *M. bicolor* mantida em uma caixa com temperatura controlada de 27 ± 3 °C. Para não causar alterações comportamentais pela presença de luz, a colônia foi mantida em uma câmara escura, iluminada apenas com lâmpada de luz fria e filtro vermelho. O reconhecimento individual das operárias foi feito através da etiqueta que receberam no dia em que emergiram da célula de cria, colada no dorso do seu tórax. As fotos apresentadas neste trabalho foram obtidas a partir das fitas de vídeo.

Foram observados 101 processos de aprovisionamento e postura, (POP, do inglês *Provisioning and Oviposition Process*) realizados por 18 abelhas marcadas, divididas em dois grupos: nove que fizeram a primeira regurgitação cinco vezes ou mais durante os dez dias de observação (especialistas, n=92 POP) e nove escolhidas ao acaso, que realizaram a primeira regurgitação apenas uma vez no período (aleatórias, n=9 POP). Observamos o comportamento da primeira aprovisionadora durante cinco minutos antes da realização da primeira regurgitação. Observamos também o comportamento da segunda aprovisionadora em cada POP amostrado, desde um minuto antes da primeira regurgitação do POP até a segunda regurgitação, a fim de verificar possíveis diferenças de comportamento entre a primeira e a segunda aprovisionadora durante a fase de pré-aprovisionamento.

Categorias de comportamentos observados

Observamos a totalidade do repertório comportamental das operárias e os enquadrámos em 19 categorias listadas na tabela I, sendo que nove destas são comportamentos que envolvem a interação entre operária e rainha.

Análise de dados

Registramos a frequência de cada comportamento para todo POP. Para tornar os dados comparáveis, foi considerada a média da frequência dos comportamentos das operárias especialistas em que o comportamento ocorreu. Para as primeiras aprovisionadoras, foi verificado o intervalo entre a chegada da rainha ao favo e a chegada da operária, o intervalo entre a chegada da rainha e a primeira regurgitação de alimento, a idade das abelhas e o número de rainhas presentes. Os dados obtidos foram analisados estatisticamente pelo teste de Mann-Whitney, com nível de significância de $p < 0,05$ (Sokal & Rohlf, 1997; Green *et al.*, 2000).

TABELA I: DESCRIÇÃO DOS COMPORTAMENTOS OBSERVADOS NAS 1^{AS} REGURGITADORAS DE ALIMENTO DE *M. BICOLOR*.

	Nº	COMPORTAMENTO	DESCRIÇÃO
INTERAÇÃO DIRETA COM A RAINHA	1	ANTENA RAINHA	A OPERÁRIA TOCA O ABDOME, A CABEÇA, A FACE OU O TÓRAX DA RAINHA COM SUAS ANTENAS (FIG.1A ATÉ 1C).
	2	CHAMA RAINHA	RAINHA E OPERÁRIA TOCAM SUAS ANTENAS, A OPERÁRIA ANDA PARA TRÁS E A RAINHA A SEQUE (FIG. 1D).
	3	RAINHA ANTENA	A RAINHA SE DIRIGE À OPERÁRIA E A TOCA COM SUAS ANTENAS.
	4	TROFALAXIS	A OPERÁRIA OFERECE ALIMENTO VIA TROFALÁXIS À RAINHA.
	5	VAI E VEM	A OPERÁRIA VAI PARA FRENTE E PARA TRÁS, COM SUA FACE VOLTADA PARA A RAINHA. ELA NÃO SAI DO LUGAR E PODE OU NÃO TOCAR A RAINHA COM AS ANTENAS.
	6	“DART”	COMPORTAMENTO AGRESSIVO; A OPERÁRIA BATE RÁPIDA E INTENSAMENTE NA RAINHA COM SUAS PERNAS DIANTEIRAS, AFASTANDO-SE EM SEGUIDA.
INTERAÇÃO INDIRETA COM A RAINHA	7	BATE ASAS	A OPERÁRIA BATE SUAS ASAS.
	8	ANTENA DE LONGE	A OPERÁRIA BATE AS ANTENAS EM DIREÇÃO DA RAINHA, SEM TOCÁ-LA.
	9	CORTE	A OPERÁRIA PERMANECE PARADA COM A CABEÇA VOLTADA PARA A RAINHA.
INTERAÇÃO COM OPERÁRIAS	10	ANTENA ABELHA NA CÉLULA	A OPERÁRIA BATE AS ANTENAS NA ABELHA QUE ESTÁ INSERIDA NA CÉLULA DO POP.
	11	ANTENA ABELHA NO FAVO	A OPERÁRIA TOCA SUAS ANTENAS NAS ANTENAS DE OUTRA OPERÁRIA QUE ESTÁ SOBRE O FAVO.
INTERAÇÃO COM A CÉLULA	12	ANTENA CÉLULA	A OPERÁRIA TOCA O COLAR DA CÉLULA DE CRIA COM SUAS ANTENAS.
	13	INSERE	A OPERÁRIA INSERE A CABEÇA OU TÓRAX NA CÉLULA DO POP.
	14	AFUNDA	A OPERÁRIA INSERE TOTALMENTE SEU CORPO NA CÉLULA DE CRIA (FIG. 1E E 1F).
OUTROS	15	ANDA	A OPERÁRIA ANDA PELO FAVO, SEM DEIXÁ-LO.
	16	SE VAI	A OPERÁRIA DEIXA O FAVO.
	17	VOLTA	A OPERÁRIA RETORNA AO FAVO.
	18	CONSTRÓI	A OPERÁRIA OCUPA-SE EM CONSTRUIR OU TERMINAR UMA CÉLULA.
	19	LIMPA ANTENAS	A OPERÁRIA PASSA AS PERNAS ANTERIORES NAS ANTENAS.

A. A OPERÁRIA U2 TOCA O ABDÔMEN DA RAINHA COM AS ANTENAS.

B. A OPERÁRIA U2 TOCA O TÓRAX DA RAINHA COM AS ANTENAS.

C. A OPERÁRIA U2 BATE COM AS ANTENAS NA FRONTE DA RAINHA.

**D. COMPORTAMENTO DE CHAMAR A RAINHA.
NOTE QUE A OPERÁRIA U2 AFASTA-SE DA RAINHA, DIRIGINDO-SE PARA TRÁS.**

**E. COMPORTAMENTO DE AFUNDAR NA CÉLULA.
NOTE QUE A RAINHA TOCA A OPERÁRIA U2 COM AS SUAS ANTENAS.**

**F. A OPERÁRIA U2 REGURGITA O ALIMENTO.
NOTE SEU ABDOME RETRAÍDO E A RAINHA BATE-A COM SUAS ANTENAS.**

FIGURA 01A ATÉ 01F

INTERAÇÕES ENTRE RAINHA E UMA OPERÁRIA ESPECIALISTA NA 1^{RA} REGURGITAÇÃO DE ALIMENTO EM *M. BICOLOR*.

RESULTADOS

Análise dos intervalos de início do POP

Numa análise inicial, verificamos se haveria diferença entre especialistas e aleatórias quanto aos seguintes parâmetros: a percepção da rainha, o intervalo entre a chegada da rainha e a realização da primeira regurgitação, a faixa etária das operárias e o número de rainhas presentes. Nenhum desses parâmetros apresentou diferença significativa pelo teste de Mann Whitney (Fig. 02).

FIGURA 02: COMPARAÇÃO PARA:

A. INTERVALO ENTRE A CHEGADA DA RAINHA E A CHEGADA DA OPERÁRIA (SEG);

B. INTERVALO ENTRE A CHEGADA DA RAINHA E A PRIMEIRA REGURGITAÇÃO DE ALIMENTO (SEG);

C. IDADE DAS OPERÁRIAS (DIAS);

D. NÚMERO DE RAINHAS PRESENTES EM *M. BICOLOR*.

A primeira provisionadora

A seguir verificamos se existiam padrões comportamentais diferentes para as abelhas especialistas em comparação com as aleatórias. A primeira diferença observada foi que as abelhas aleatórias não chamam a rainha nem têm trofalaxis com ela. Foram obtidas diferenças significativas para dez dos 19 comportamentos listados (Tabela II, coluna A), incluindo todos os comportamentos de interação direta com a rainha. Os 12 comportamentos significativos apresentaram frequência maior para as operárias especialistas do que para as aleatórias (Fig. 03). Os principais comportamentos estão

relacionados com o contato direto com a rainha (Fig. 03, comportamentos 1 até 5), participação na corte (Fig. 03, comportamento 9) e com uma alta mobilidade (Fig. 03, comportamentos 11 até 17) que se apresenta constante, dando uma aparência de agitação para as abelhas especialistas.

FIGURA 03: COMPARAÇÃO ENTRE AS PRIMEIRAS APROVISIONADORAS EM *M. BICOLOR*.

COMPORTAMENTOS LISTADOS NA TABELA I. A BARRA VERMELHA SEPARA OS COMPORTAMENTOS SIGNIFICATIVOS (ESQUERDA) DOS NÃO SIGNIFICATIVOS; VALORES P NA TABELA II.

A segunda provisionadora

Quando observamos a segunda provisionadora, notamos que também parece haver uma especialização quanto à segunda regurgitação. Dos POP observados neste estudo, 47 abelhas diferentes realizaram a segunda regurgitação, dentre as quais oito abelhas realizaram quatro ou mais regurgitações no período, sendo responsáveis por 47% das regurgitações. Destas oito abelhas “especialistas” na segunda regurgitação de alimento, cinco já estavam dentro do grupo das especialistas na primeira regurgitação, mostrando que a especialização destas abelhas pode estar em regurgitar o alimento, independente de fazê-lo em primeiro ou em segundo lugar. Cabe ressaltar que, pelo menos uma vez para essas cinco especialistas, a primeira e a segunda regurgitação foram feitas no mesmo POP.

O comportamento dessas oito especialistas foi analisado, em comparação às oito abelhas que realizaram apenas uma segunda

regurgitação. Nenhum comportamento foi adicionado à lista, porém, nenhuma abelha apresentou os comportamentos de chamar ou fazer ou “*dart*” à rainha. As abelhas aleatórias não realizaram batimento de asas, trofalaxis com a rainha, não bateram com as antenas nas operárias no favo, nem foram batidas com as antenas pela rainha. Nenhuma abelha aleatória inseriu o corpo nas células. Foi então obtida diferença significativa para cinco dos 10 comportamentos restantes (Tabela II, coluna B). Para as especialistas da segunda regurgitação, a atenção da rainha continuou sendo importante (Fig. 04, comportamentos 1 e 5), mas em menor grau; a mobilidade no favo e na célula desaparece, indo a operária diretamente regurgitar. As especialistas interagem mais com a operária inserida na célula (Fig. 04, comportamentos 10) e participam na corte (Fig. 04, comportamento 9).

FIGURA 04: COMPARAÇÃO ENTRE AS SEGUNDAS APROVISIONADORAS EM *M. BICOLOR*. COMPORTAMENTOS LISTADOS NA TABELA I. A BARRA VERMELHA SEPARA OS COMPORTAMENTOS SIGNIFICATIVOS (ESQUERDA) DOS NÃO SIGNIFICATIVOS; VALORES P NA TABELA II.

Primeiras vs. segundas provisionadoras

Para verificar as possíveis diferenças comportamentais entre as primeiras e segundas provisionadoras, comparamos os comportamentos de todas as abelhas observadas entre si: n=18 das primeiras provisionadoras versus n=16 das segundas.

Vimos que as primeiras aprovisionadoras se diferenciam das segundas principalmente na atenção à rainha (Fig. 05, comportamentos 1 até 8) e na sua mobilidade (Fig. 05, comportamentos 13 até 18). Obtivemos diferença estatística para 12 comportamentos (Tabela II, coluna C).

FIGURA 05: COMPARAÇÃO ENTRE TODAS AS PRIMEIRAS E SEGUNDAS APROVISIONADORAS EM *M. BICOLOR*.

COMPORTAMENTOS LISTADOS NA TABELA I. A BARRA VERMELHA SEPARA OS COMPORTAMENTOS SIGNIFICATIVOS (ESQUERDA) DOS NÃO SIGNIFICATIVOS; VALORES P NA TABELA II.

Especialistas das primeiras aprovisionadoras vs. especialistas das segundas

Finalmente, também comparamos as especialistas na primeira regurgitação com as especialistas na segunda regurgitação, e novamente obtivemos diferença estatística para 9 comportamentos (Tabela II, coluna D). Já foi dito que as segundas especialistas não se arremessem contra a rainha, nem a chamam.

Assim, vemos que mesmo entre especialistas, continuamos obtendo diferenças significativas e maiores para as primeiras aprovisionadoras, novamente na atenção à rainha (Fig. 06, comportamentos 1 até 6) e na sua mobilidade (Fig. 06, comportamentos 13 até 18).

FIGURA 06: COMPARAÇÃO ENTRE AS ESPECIALISTAS DAS PRIMEIRAS E SEGUNDAS APROVISIONADORAS EM *M. BICOLOR*.

COMPORTAMENTOS LISTADOS NA TABELA I. A BARRA VERMELHA SEPARA OS COMPORTAMENTOS SIGNIFICATIVOS (ESQUERDA) DOS NÃO SIGNIFICATIVOS; VALORES P NA TABELA II.

TABELA II. VALORES SIGNIFICATIVOS (P, MÉDIA E DESVIO PADRÃO) PARA OS COMPORTAMENTOS OBSERVADOS EM *M. BICOLOR*:

A. PRIMEIRAS APROVISIONADORAS;

B. SEGUNDAS APROVISIONADORAS;

C. PRIMEIRAS APROVISIONADORAS VS. SEGUNDAS APROVISIONADORAS;

D. ESPECIALISTAS DAS PRIMEIRAS APROVISIONADORAS VS. ESPECIALISTAS DAS SEGUNDAS.

			A	B.	C.	D.
COMPORTAMENTO			0 $\pm$ 1 ^a ESP. VS 1 ^a ALE.	0 $\pm$ 2 ^a ESP. VS 2 ^a ALE	0 $\pm$ 1 ^a VS 2 ^a	0 $\pm$ ESP 1 ^a . VS ESP 2 ^a
INTERAÇÃO DIRETA COM RAINHA	1	ANTENA RAINHA	>0,05 11 $\pm$ 2,3 / 6 $\pm$ 4,8	>0,005 4,8 $\pm$ 1,8 / 1 $\pm$ 1,1	>0,0005 8,5 $\pm$ 4,5 / 2,9 $\pm$ 2,4	> 0,0005 11 $\pm$ 2,3 / 4,8 $\pm$ 1,7
	2	CHAMA RAINHA	0,8 $\pm$ 0,6 / 0	NENHUMA	0,4 $\pm$ 0,6 / 0	0,8 $\pm$ 0,6 / 0
	3	RAINHA ANTENA	>0,05 0,9 $\pm$ 0,6 / 0,1 $\pm$ 0,3	0,3 $\pm$ 0,5 / 0	>0,05 0,5 $\pm$ 0,7 / 0,1 $\pm$ 0,3	>0,05 0,9 $\pm$ 0,6 / 0,3 $\pm$ 0,5
	4	TROFALAXIS	1 $\pm$ 0,9 / 0	0,5 $\pm$ 0,5 / 0		
	5	VAI E VEM	>0,05 13,8 $\pm$ 6 / 7,7 $\pm$ 5,7	>0,05 3,8 $\pm$ 2,1 / 1,6 $\pm$ 1,4	> 0,0005 10,7 $\pm$ 6,5 / 2,7 $\pm$ 1,1	>0,05 13,8 $\pm$ 6 / 3,8 $\pm$ 2,1
	6	"DART"		NENHUMA	0,3 $\pm$ 0,6 / 0	0,4 $\pm$ 0,5 / 0
INTERAÇÃO INDIRETA COM RAINHA	7	BATE ASAS		0,5 $\pm$ 1,1 / 0		
	8	ANTENA DE LONGE			>0,05 2,3 $\pm$ 2 / 0,9 $\pm$ 0,8	
	9	CORTE	>0,005 2,3 $\pm$ 1,7 / 0,4 $\pm$ 0,7	>0,005 1,3 $\pm$ 0,7 / 0,1 $\pm$ 0,4		
INTERAÇÃO COM OPERÁRIAS	10	ANTENA ABELHA NA CÉLULA		>0,005 1,8 $\pm$ 1 / 0,4 $\pm$ 0,5		
	11	ANTENA ABELHA NO FAVO	>0,05 1,1 $\pm$ 0,9 / 0,4 $\pm$ 1	0,6 $\pm$ 0,9 / 0		
INTERAÇÃO COM A CÉLULA	12	ANTENA CÉLULA				
	13	INSERE	>0,05 2,3 $\pm$ 1,4 / 0,6 $\pm$ 0,7	1,1 $\pm$ 0,8 / 0	>0,05 1,4 $\pm$ 1,4 / 0,6 $\pm$ 0,7	0,047 2,3 $\pm$ 1,4 / 1,1 $\pm$ 0,8
	14	AFUNDA	>0,05 4,5 $\pm$ 2,1 / 2,6 $\pm$ 1,5		>0,0005 3,5 $\pm$ 2,1 / 1,5 $\pm$ 0,7	>0,0005 4,5 $\pm$ 2,1 / 1,4 $\pm$ 0,7
OUTROS	15	ANDA	>0,05 3 $\pm$ 1,4 / 2,4 $\pm$ 2,2		>0,0005 2,7 $\pm$ 1,8 / 0,6 $\pm$ 0,5	>0,0005 3 $\pm$ 1,4 / 0,8 $\pm$ 0,7
	16	SE VAI	>0,005 1,9 $\pm$ 0,5 / 0,4 $\pm$ 0,5		>0,05 1,1 $\pm$ 0,9 / 0,4 $\pm$ 0,5	>0,005 1,9 $\pm$ 0,5 / 0,5 $\pm$ 0,5
	17	VOLTA	>0,005 1,8 $\pm$ 0,5 / 0,4 $\pm$ 0,5		>0,05 1,1 $\pm$ 0,9 / 0,4 $\pm$ 1,4	>0,005 1,8 $\pm$ 0,5 / 0,5 $\pm$ 0,5
	18	CONSTRÓI			>0,005 4,4 $\pm$ 3,4 / 1,4 $\pm$ 0,4	>0,005 5,4 $\pm$ 2,3 / 1,6 $\pm$ 1,2
	19	LIMPA ANTENAS		1,1 $\pm$ 1 / 0		

DISCUSSÃO

A especialização, segundo Bershers e col. (1999), é o desempenho de algumas poucas atividades por um indivíduo, que as realiza com grande frequência. Assim, um indivíduo é comportamentalmente especializado se, dentro de sua faixa etária, ele desempenhar um determinado comportamento mais freqüentemente que o esperado, com base na atividade dos outros indivíduos similares. “Elite” é outro termo usado para definir diferenças individuais, levando em conta o indivíduo com um nível de atividade mais persistente do que outros (Robson & Traniello, 1999). Nossos dados mostraram que a primeira regurgitação de alimento em *M. bicolor* é realizada com alta frequência por um pequeno grupo de indivíduos, que apresentam um conjunto próprio de comportamentos, indicando que existe uma especialização nesta tarefa. A especialização, contudo, parece não estar ligada à faixa etária das abelhas, pois não encontramos diferenças significativas entre especialistas e aleatórias. Pensou-se que a faixa etária poderia ser um indicativo indireto de tempo para aprendizagem, o que não foi confirmado.

Por ser uma colônia poligínica, verificamos se a participação das especialistas no POP poderia estar relacionada com o número de rainhas presentes, pois acreditávamos que um número maior de rainhas na célula inibiria a participação de indivíduos menos “engajados”, mas novamente não obtivemos diferença significativa. As operárias realizaram a primeira regurgitação independentemente do número de rainhas no favo.

A literatura menciona a subfase chamada “*arousal*” característica em muitas espécies de meliponíneos (e.g., Sakagami & Oniki, 1963; Sakagami & Zucchi, 1963; Sakagami *et al.*, 1964). Nesta subfase, as operárias congregam-se agitadamente ao redor de uma célula pronta, comportamento que atrai a rainha. Em *M. bicolor*, da mesma forma que em *M. subnitida* (Zucchi, 1970), é a rainha quem atrai as operárias. Nos nossos resultados, encontramos que o tempo que a operária leva para perceber que a rainha chegou ao favo não apresentou diferença significativa entre especialistas e aleatórias, o que contrariou nossas expectativas com relação à eficiência. Como a presença da rainha aumenta a agitação das operárias em diversas espécies de *Melipona*

(e.g., Sakagami & Oniki, 1963; Sakagami & Zucchi, 1963; Sakagami *et al.*, 1964), incluindo *M. bicolor*, esperávamos que as especialistas pudessem perceber a rainha antes das aleatórias, mas não foi o que obtivemos. Isto pode indicar duas possibilidades: ou que o número amostral foi muito pequeno para detectar diferença, ou que a especialização está relacionada a outro fator, que não a percepção da rainha. O mesmo vale para o intervalo entre a chegada da rainha ao favo e a realização da primeira regurgitação.

Comportamentalmente, as especialistas formam um grupo particular, uma vez que 12 dos 19 comportamentos observados foram mais freqüentes para as especialistas. Desses, seis fazem parte dos comportamentos que envolvem interação direta entre operária e rainha.

Os comportamentos de “afundar” e “inserir” são semelhantes, variando a proporção do corpo que a abelha introduz na célula. Esses comportamentos foram descritos para vários meliponíneos durante a fase de pré-aprovisionamento. Sakagami e col. (1977) sugeriram que esses seriam comportamentos de intenção de regurgitar ou de descarga subliminar. Isso poderia indicar que as especialistas apresentariam uma intenção de regurgitar maior que as aleatórias. Encontrou-se correlação para o comportamento de inserir e a realização da regurgitação de alimento também para o restante da fase de aprovisionamento (Capítulo. 4). Assim, quando a operária realiza a inserção provavelmente para verificar o nível de alimento na célula, decidiria por realizar ou não outra regurgitação.

Muitos dos comportamentos de interação direta que observamos durante o início do POP para *M. bicolor* haviam sido observados para *M. favosa* por Sommeijer e Bruijn (1984), durante a “corte” no período extra-oviposição. Para eles, esse conjunto de comportamentos, apresentado pelas operárias “*build-provisioning workers, BP*” (e, na maior parte das vezes, iniciado por elas), teria um significado para a comunicação entre rainha e operária, sinalizando para esta que haveria células de cria prontas e estimulando-a a iniciar o POP. Tais comportamentos foram sugeridos como sendo estímulos ao início do POP para outras espécies de meliponíneos (e.g., Sakagami *et al.*, 1977). Nesse conjunto enquadram-se, por exemplo, os comportamentos de vai e vem e bater com as antenas na rainha, indicando

que a especialização na primeira regurgitação está ligada ao aumento da agitação da operária especialista, podendo sugerir que a operária especialista tem uma capacidade maior que a aleatória em atrair a rainha para iniciar o POP.

O comportamento de bater com as antenas na rainha em *M. bicolor* é muito freqüente na fase de pré-aprovisionamento, principalmente entre as especialistas. Neste gênero, a primeira regurgitação de alimento larval requer estímulo nas operárias por parte da rainha (caracterizado pelo batimento das antenas da rainha no abdômen da operária que está totalmente inserida na célula). Para que este estímulo ocorra, a rainha deve estar atenta à operária. Como os resultados indicam que as operárias especialistas apresentam uma intenção maior em realizar a primeira regurgitação e como precisam de estímulo para isso, é possível que elas precisem chamar a atenção da rainha para si. Neste caso, o comportamento de bater com as antenas na rainha poderia estar servindo para sinalizar que a operária está preparada para regurgitar, mas que precisa do estímulo da rainha.

O comportamento denominado de “chamar a rainha”, no qual a operária vai para trás com a rainha seguindo-a, parece ter a mesma função do comportamento de tocar à rainha com as antenas. Um comportamento semelhante foi observado por Breed e Gamboa (1977) para a abelha primitivamente eussocial *Lasioglossum zephyrum* (Halictidae), mas de maneira invertida: a rainha faria com que a operária a seguisse. Embora esses autores tenham proposto que a rainha faz isso para conduzir a operária à célula de cria, Buckle (1984) mostrou que o objetivo da rainha é chamar a atenção da operária para si. O comportamento de chamar a rainha apresentado por *Melipona* pode ter uma analogia com relação à origem evolutiva do comportamento que ocorre em *Lasioglossum*. Um conjunto de comportamentos é resultado da expressão de alguns genes e da supressão de outros. Halictidae é um grupo mais basal que Apidae. Ao longo da evolução, a expressão dos genes que desencadeiam o comportamento de “fazer-se seguir” pode ser uma plesiomorfia expressada nas rainhas de *Lasioglossum*, mas com a aparição e definição de castas, pode agora

somente aparecer nas operárias de *Melipona*. Mas para testar essa hipótese devem ser feitos estudos de expressão gênica em ambos os gêneros.

Os comportamentos de deixar o favo durante a fase de pré-aprovisionamento e de retornar depois, podem indicar duas possibilidades: ou a operária não está pronta para regurgitar alimento, ou não existe estímulo suficiente por parte da rainha para a realização da regurgitação. Durante as observações, notamos que este comportamento era apresentado após sucessivas tentativas de chamar a atenção da rainha, batendo com as antenas, ou após inserir ou afundar o corpo na célula várias vezes. Isso indica que o comportamento de deixar o favo pode estar relacionado com a falta de estímulo da rainha e que o início do POP depende de uma co-estimulação entre rainha e operária. Contudo, quando a operária retorna ao favo, também pode indicar a “necessidade”, o “*drive*” que tem de regurgitar.

Os comportamentos que não apresentaram diferença significativa entre especialistas e aleatórias estão basicamente relacionados a interações indiretas com a rainha (ex., antenar de longe), a atividades não relacionadas diretamente com a fase de pré-aprovisionamento (ex., construção de células) e a reações agressivas à rainha (“*dart*”). Este último comportamento seria antítese à intenção de chamar a atenção da rainha, por tratar-se de um comportamento de repulsão à mesma. Portanto, o “*darting*” pode estar ilustrando a natureza paradoxal da relação operária-rainha.

Na segunda regurgitação de alimento a agitação das operárias tende a diminuir (Sakagami & Zucchi, 1966). A segunda regurgitação pode ou não ocorrer com o estímulo da rainha, portanto a necessidade da operária em chamar-lhe a atenção já não é tão intensa. A primeira regurgitação de alimento tem que ser realizada mediante o estímulo direto da rainha, mas da segunda regurgitação em diante, a presença ou cheiro de alimento na célula podem servir como estímulo para as sucessivas regurgitações (Sakagami & Zucchi, 1966). Dessa forma, a intensidade dos comportamentos de chamar a atenção da rainha tende a diminuir à medida que o estímulo da rainha passa a ser menos necessário. Isso pode explicar as menores freqüências obtidas para as segundas aprovisionadoras em relação às primeiras, principalmente para os comportamentos que atraem a atenção da rainha para si. Quando

comparamos as especialistas na primeira com as especialistas na segunda regurgitação, notamos que os comportamentos que buscam a atenção da rainha são muito mais intensos para as especialistas na primeira regurgitação. Mesmo quando a operária que realizava a segunda regurgitação era uma especialista na primeira regurgitação, sua agitação era menor para a segunda.

Comparando somente segundas aprovisionadoras, porém, notamos que há uma diferença comportamental entre especialistas e aleatórias. Mesmo em menor frequência que as primeiras aprovisionadoras, as especialistas na segunda regurgitação de alimento apresentavam alguns dos comportamentos que buscam a atenção da rainha, mas as aleatórias não apresentavam ou apresentavam-nos em frequência muito baixa. Cinco das oito especialistas na segunda regurgitação eram especialistas na primeira regurgitação também. Isso nos leva a pensar que a especialização seria principalmente em regurgitar alimento, propriamente dita.

A divisão de castas e a especialização de um indivíduo em uma determinada tarefa foram discutidas por Bershers e Fewel (2001), que apresentaram seis modelos para a escolha do trabalho pelo indivíduo. A especialização na primeira regurgitação de alimento pode se encaixar, *a priori*, em quatro (limiar de resposta, auto-reforço, inibição social e rede de alocação de tarefa) dos seis modelos apresentados, podendo ser resultado da interação de estímulos internos (como a bagagem genética) e externos (como a necessidade de realização da tarefa ou sucesso na realização da mesma). O que notamos nos nossos resultados, porém, é que seis das nove especialistas na primeira regurgitação, sobretudo nas que também se especializavam na segunda regurgitação, viriam a colocar ovos reprodutivos em algum momento da sua vida, indicando que teriam ovários desenvolvidos. O interesse dessas operárias em participar do POP estaria, então, ligado aos estímulos gerados pelo desenvolvimento ovariano. Mas como algumas operárias aleatórias, cujos comportamentos não foram analisados também colocavam ovos reprodutivos (embora a proporção de especialistas realizando esta atividade fosse maior), a hipótese requer maiores observações.

Dessa forma, a especialização na primeira regurgitação pode ser importante para estimular a rainha em termos comportamentais. As primeiras aprovisionadoras especialistas podem ter um limiar de resposta mais baixo que as demais para esvaziar o papo na primeira oportunidade (Beshers *et al.*, 1999), desencadeando os comportamentos preliminares à primeira regurgitação tão logo percebessem a possibilidade de início de um POP. Elas podem ainda ser indivíduos-chave na realização da primeira regurgitação, especializando-se nessa atividade pela convivência inicial com especialistas mais velhas (Robson & Traniello, 1999). Influi também para a economia da colônia, porque a especialização poderia alocar um número reduzido de operárias para iniciar o POP, deixando mais operárias para outras funções. Para verificar isto, seria interessante remover as especialistas e observar o efeito no POP. A especialização pode ter também uma causa interna, não necessariamente ligada à eficiência do POP, mas sim uma participação intencional da operária na tarefa, seja por exemplo, resultado de seu desenvolvimento ovariano. De qualquer forma, nossos dados indicam que existe um conjunto de abelhas que se especializam em regurgitar alimento, sendo que as primeiras aprovisionadoras especialistas apresentam um repertório comportamental próprio.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Dr. Hayo H.W. Velthuis e ao Dr. Dirk Koedam pela colaboração durante a filmagem e à Dra. Adriana M. Fidalgo pelo auxílio na obtenção das fotos. Agradecemos também aos colegas Márcia F. Ribeiro, Sergio Dias Hilário e Felipe Contrera pelas sugestões e pela revisão do português. Este trabalho foi financiado pela FAPESP (Processo 99/00180-0).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BEGO, L.R. Padrão geral de oviposição em *Melipona bicolor*. **Ciência e Cultura**, v.41, n.7, p.920, 1989.
- BESHES, S.N.; ROBINSON, G.E. & MITTENTHAL, J.E. Response thresholds and division of labor in insect colonies. In: DETRAIN, C., DENEUBORG, J. L. & PASTEELS, J. M. (Eds.). **Information processing in social insects**. Basel, Boston, Berlin: Birkhäuser Verlag, 1999, p.115-140.
- BESHES, S.N. & FEWELL, J.H. Models of division of labor in social insects. **Annual Review of Entomology**, v.46, p.413-420, 2001.
- BREED, M.D. & GAMBOA, G.J. Control of worker activities by queen behavior in a primitively eusocial bee. **Science**, v.195, p.694-696, 1977.
- BUCKLE, G.R. A second look at queen-forager interactions in the primitively eusocial halictid, *Lasioglossum zephyrum*. **Journal of the Kansas Entomological Society**, v. 57, n.1, p.1-6, 1984.
- DARAKJIAN, P. **Aspectos da variabilidade do comportamento de postura nas células em *Melipona quadrifasciata***. Dissertação, Instituto de Biociências - USP, 1991.
- GREEN, S.B.; SALKIND, N.J. & AKEY, T.M. **Using SPSS for windows. Analyzing and understanding data**. 2nd Edition, Prentice Hall, New Jersey, 430pp, 2000.
- KERR, W.E. Algumas comparações entre a abelha europeia (*Apis mellifera*, L.) e as abelhas nativas brasileiras (Meliponini). **O solo**, p.39-47, 1949.
- ROBSON, S.K. & TRANIELLO, F.A Key individuals and the organization of labor in ants. In: DETRAIN, C., DENEUBORG, J. L. & PASTEELS, J. M. (Eds.). **Information processing in social insects**. Basel, Boston, Berlin: Birkhäuser Verlag, 1999, p 239-260.
- SAKAGAMI, S.F. Stingless bees In: **Social insects Vol III** Ed. By Henry Hermann Academic Press, 1982, p.361-423.
- SAKAGAMI, S.F. & ONIKI, Y. Behavioral studies of the stingless bees, with special reference to the oviposition process. I. *Melipona compressipes manaosensis* Schwarz. **Journal of the Faculty of Science, Hokkaido University, Series VI, Zoology**, v.15, p.300-318, 1963.
- SAKAGAMI, S.F. & ZUCCHI, R. Oviposition process in a stingless bee *Trigona (Scaptotrigona) postica* Latreille (Hymenoptera). **Studia Entomologica**, v.6, p.497-510, 1963.
- SAKAGAMI, S.F. & ZUCCHI, R. Estudo comparativo do comportamento de várias espécies de abelhas sem ferrão, com especial referência ao processo de aprovisionamento e postura das células. **Ciência e Cultura**, v.18, n.3, p.283-295, 1966.
- SAKAGAMI, S.F.; BEIG, D. & KYAN, C. Behavioral studies of the stingless bees, with special reference to the oviposition process. IV. *Cephalotrigona femorata* (Smith). **Kontyû**, v.32, n.4, p.464-471, 1964.
- SAKAGAMI, S.F.; MONTENEGRO, M.J. & KERR, W.E. Behavioral studies of the stingless bees, with special reference to the oviposition process. V. *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lepeletier. **Journal of the Faculty of Science, Hokkaido University, Series VI, Zoology**, v.15, p.578-607, 1965.

- SAKAGAMI, S.F.; ZUCCHI, R. & ARAÚJO, V.P. Oviposition behavior of an aberrant African stingless bee *Meliponula bocandei*, with notes on the mechanism and evolution of oviposition behavior in stingless bees. **Journal of the Faculty of Science, Hokkaido University, Series VI, Zoology**, v.20, n.4, p.647-690, 1977.
- SILVA, D.L.N.; ZUCCHI, R. & KERR, W.E. Biological and behavioral aspects of the reproduction in some species of *Melipona*. **Animal Behavior**, v.20, p.123-132, 1972.
- SOKAL, R.R. & ROHLF, F.J. **Biometry. The principles and practice of statistics in biological research**. 3rd Edition, W.H. Freeman and Company, New York, USA, 887p. 1997.
- SOMMEIJER, M.J.; BEUVENS, F.T. & VERBEEK, H.J. Distribution of labor among workers of *Melipona favosa* F.: construction and provisioning of brood cells. **Insectes Sociaux**, v.29, n.2, p.222-237, 1982.
- SOMMEIJER, M.J. & BRUIJN, L.L.M. Social behavior of stingless bees: "bee-dances" by workers of the royal court and the rhythmicity of brood cell provisioning and oviposition behavior. **Behaviour**, v.89, p.299-315, 1984.
- ZUCCHI, R. **Aspectos etológico-evolutivos da bionomia dos Meliponinae**. Tese de Livre Docência, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 1970.
- ZUCCHI, R.; SILVA-MATOS, E.V. DA; NOGUEIRA-FERREIRA, F.H. & AZEVEDO, G.G. On the cell provisioning and oviposition process (POP) of the stingless bees – nomenclature reappraisal and evolutionary considerations (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). **Sociobiology**, v.34, n.1, p.65-86, 1999.

CAPÍTULO 6

PAPEL DAS OPERÁRIAS NA DETERMINAÇÃO DAS CASTAS EM
Melipona bicolor: UMA NOVA ABORDAGEM DO PROBLEMA

CAPÍTULO 6

PAPEL DAS OPERÁRIAS NA DETERMINAÇÃO DAS CASTAS EM *Melipona bicolor*: UMA NOVA ABORDAGEM DO PROBLEMA

ABSTRACT

Caste determination is a complex topic that has received much attention but remains elusive, leaving many questions to be solved. However, there are some facts that have been comprehended. It is recognized the influence of external factors such as the amount and/or the quality of the food ingested by the larvae, interacting with hormones and genes. Since the workers administrate the larval food, caste determination is socially controlled. Could it happen that among the nurse bees there are individuals that would prefer to raise sister queens than sister workers? To answer this question, it would be necessary to establish the presence or absence of glandular secretions of high nutritional value in the larval food, together with techniques to follow and assess the food dischargers.

Through video recordings made on the Provisioning and Oviposition Process (POP) in *Melipona bicolor*, we recognized two types of food discharges: the first fluid and shiny and another discharge dense and opaque. From each cell filmed we compiled its historical plus the caste in formation. We did not find any relation between the resulting caste and the number of solid or liquid discharges it had received. We discuss why our method may not be an accurate technique to study this difficult and complex topic, but may support future investigations.

RESUMO

A determinação de castas é um tema amplamente estudado, mas que continua deixando muitas questões a serem solucionadas. Contudo, compreendemos alguns fatos. Reconhece-se a influência de fatores externos como a quantidade e/ou a qualidade do alimento, atuando com hormônios e genes. Já que são as operárias as responsáveis pela administração da quantidade ou da qualidade do alimento, a determinação de castas é socialmente controlada e talvez, entre as aprovisionadoras, existam indivíduos que prefiram criar irmãs rainhas ao invés de irmãs operárias. Para esclarecer esta pergunta, há necessidade de estabelecer a presença ou ausência de secreções glandulares nutritivas no alimento larval, além de técnicas para examinar e acompanhar as operárias aprovisionadoras de alimento larval.

Em filmagens feitas sobre o processo de aprovisionamento e postura (POP) em *Melipona bicolor*, reconheceram-se dois tipos de regurgitações: uma fluida e brilhante e outra densa e opaca. Para cada célula filmada foi registrado seu histórico, além de verificar a casta em formação. Não encontramos relação entre a casta resultante e o número de regurgitações líquidas ou sólidas que a célula recebeu. Acompanhar os tipos de regurgitações com filmes, provavelmente não seja a técnica mais adequada para esclarecer este tema tão difícil e complexo, mas poderá se tornar uma boa ferramenta em pesquisas futuras.

INTRODUÇÃO

As diferenças de castas em abelhas altamente sociais, tais como nas espécies do gênero *Apis*, assim como nas diversas abelhas sem ferrão, encontram-se separadas tanto no nível morfológico, como fisiológico e comportamental. Estas divergências se definem no nível pós-embrionário e dependem de condições externas, principalmente da alimentação larval; portanto, estão relacionadas com as operárias nutridoras da colônia. A qualidade e balanço de nutrientes (Weaver, 1974 *apud* Sakagami, 1982) para abelhas *Apis*, ou no grupo Trigonini, a quantidade de alimento abastecido pelas operárias, são a base principal do mecanismo proximal de diferenciação de castas (Engels & Imperatriz-Fonseca, 1990).

Nas abelhas *Apis*, a produção de rainhas virgens é sazonal e está relacionada com a produção de enxames. Entretanto, no caso de perda ou substituição da rainha vigente, as operárias podem produzir rainhas de emergência. Tendo larvas jovens, modificam-lhes o tamanho da célula e lhes enriquecem a nutrição para obter a transformação destas larvas, que normalmente teriam sido operárias, em rainhas (e.g. Sakagami, 1982, Bourke & Ratnieks, 1999). Em abelhas sem ferrão, o sistema de aprovisionamento em massa e o imediato selamento da célula, possivelmente favorecem a produção de rainhas virgens ao longo do ano, sendo o número dependente do estado da colônia. Nas abelhas do grupo Trigonini, as células são de diferentes tamanhos e é a quantidade de alimento regurgitado para cada larva o principal determinador da casta, produzindo fêmeas diferenciadas morfológicamente em células maiores e programadas para funções reprodutivas (Sakagami, 1982). Com relação ao tamanho das células, o sistema é parecido ao mecanismo presente em halictídeos sociais e em *Bombus*, onde as larvas que comem mais, são maiores. Contudo, nestes dois grupos as diferenças entre fêmeas são relacionadas apenas ao seu tamanho, e castas propriamente ditas não existem. Como conclusão geral, para os grupos eusociais até aqui resumidos, podemos dizer que as operárias são fêmeas subalimentadas.

Mas sempre aparecem exceções: encontraram-se rainhas miniaturas nascidas de células de menor tamanho (e que portanto, consumiram menos

alimento) em abelhas dos gêneros *Cephalotrigona* (Nogueira Neto, 1951), *Nannotrigona* (Imperatriz-Fonseca *et al.*, 1997), duas espécies de *Plebeia* (Juliani, 1962; Imperatriz-Fonseca *et al.* 1975; Ribeiro *et al.*, 2003) e *Schwarziana* (Camargo, 1974; Costa, 1977). Estas descobertas são semelhantes à situação encontrada para *Melipona*. Estudos realizados com rainhas-miniaturas de *Schwarziana quadripunctata* demonstraram que estas rainhas podem-se acasalar, pôr ovos e produzir colônias normais. (Ribeiro & Alves, 2001). Para esta mesma espécie, também foi demonstrado que o tamanho das células muda com o tamanho dos indivíduos construtores, e foi verificado, que a qualidade do alimento larval muda com o estado populacional da colônia (Castilho-Hyodo, 2001).

Nas abelhas do gênero *Melipona*, as larvas de rainhas recebem provisões iguais, nascem de células indiferenciadas das demais, e são de menor tamanho. Propôs-se um mecanismo genético envolvendo uma dupla heterozigose que seria a responsável pela determinação de castas neste grupo de abelhas (Kerr, 1950). Também observou-se que, evidentemente, condições ambientais influenciavam a produção de rainhas em *Melipona*, levando a supor que rainhas geneticamente determinadas poderiam ser operárias (Kerr & Nielsen, 1966). Velthuis e Sommeijer (1991) adicionam ao modelo de dupla heterozigose um mecanismo sensorial para a quantidade de alimento, que influenciaria a produção de hormônio juvenil, e que por sua vez atuaria sobre a atividade metabólica nas últimas fases de desenvolvimento do indivíduo.

O alimento larval é composto por água, açúcares, proteínas e aminoácidos livres. Sua variação pode ser de três tipos: 1º a quantidade, 2º a proporção em que carboidratos, proteínas e aminoácidos livres se encontram, e 3º, a concentração destes componentes (Velthuis & Sommeijer, 1991). Hartfelder e Engels (1989) analisaram o alimento larval de sete espécies de abelhas sem ferrão. Para o gênero *Melipona*, fizeram amostras individuais e não encontraram variações dos maiores constituintes solúveis em água que pudessem estar relacionados com diferenciação de castas. Contudo, Van Veen (2000) estudando *Melipona beecheii*, verificou que células para rainhas virgens receberam uma quantidade de regurgitações de alimento

significativamente menor que a de operárias, indicando que estas larvas conseguem aproveitar melhor esta quantidade de alimento, ou que é de melhor qualidade. Além disso, alguns autores sugeriram que uma mudança nas proporções dos três componentes, assim como em sua concentração (conteúdo de água), podem traduzir-se em padrões diferentes de desenvolvimento da larva (Velthuis & Sommeijer; 1991).

Em algumas vespas sociais, quando a rainha original envelhece, acredita-se que ela libere algum feromônio que influencia o comportamento das operárias que passam a construir células maiores. Destas células nascem rainhas que também receberam mais alimento. Experimentalmente moveram-se larvas de células pequenas para maiores, mas estas não se desenvolveram em rainhas. Aparentemente, para aproveitar a abundância de alimento, há necessidade de “algo” que deveriam ter recebido em estágios iniciais (Eduards, 1980). Em *Melipona beecheii*, Darchen e Delage (1977, *apud* Sakagami, 1982) postularam a existência de uma substância glandular que seria diferentemente administrada por operárias. Eles conseguiram obter um maior número de operárias e rainhas miniatura diminuindo a quantidade de alimento larval, e ao aumentar este, obtiveram um maior número de rainhas, além de operárias gigantes. Em ambos os casos, obtiveram “intercastas”. Em condições naturais, intercastas foram vistas em colônias de *Melipona seminigra*. (Mateus *et al.*, 2002). Esta substância "G", seria comparável ao controvertido "fator determinante" da geléia real das abelhas *Apis* (Velthuis & Sommeijer; 1991).

A mais moderna hipótese sobre a determinação de castas em Hymenoptera é que ela está provavelmente sujeita tanto à seleção individual, como no nível colonial e no possível conflito entre fêmeas. Esta hipótese propõe modelos para espécies em que o dimorfismo entre operária e rainha é pequeno, e no que a larva pode controlar a quantidade de alimento que ingere. Neste modelo, toda larva é totipotente, ou seja, pode escolher a casta em que se desenvolve (chamada auto-determinação). O modelo prediz a produção excessiva de rainhas que "egoisticamente" escolheram sua casta, e o controle das operárias que as matam sistematicamente (Bourke & Ratnieks, 1999), como acontece em *Melipona* (Ratnieks, 2001). É uma proposta

interessante, mas ainda lida com a influência trofогênica e com a perda da totipotência da larva, em um processo de várias etapas.

Existem muitos estudos relacionados com a determinação de castas, mas o tema é complicado, como o presente resumo ilustra, e os resultados ainda distam de nos dar uma clara compreensão sobre o assunto. Sakagami (1982) postulou sobre a necessidade de estabelecer a presença ou ausência de secreções glandulares no alimento larval, além de técnicas para examinar as operárias aprovisionadoras. Durante as nossas sessões de gravações, percebemos que as regurgitações feitas pelas operárias não eram da mesma natureza: apareciam diferenças visuais na composição do alimento. Fez-se um acompanhamento quantitativo dos tipos de regurgitações em células que produziram tanto rainhas como operárias, e assim analisou-se se as operárias de *M. bicolor* apresentam um papel importante na determinação de castas. As perguntas que surgiram foram: “São as operárias as responsáveis pela definição de castas em *Melipona*, ao administrar uma alimentação diferente durante o POP?” “Estará esta diferença baseada no tipo de regurgitação, líquida ou sólida, e nesse caso, a quantidade destas regurgitações é relacionada com a casta resultante?” Se a resposta for positiva: “existirão indivíduos especializados em realizar este tipo de regurgitação?”

MATERIAIS E MÉTODOS

O registro das atividades de oviposição foi feito através de gravações de 24 horas em vídeo ao longo de 10 dias consecutivos. As filmagens foram feitas em uma colônia poligínica com três rainhas de *M. bicolor* mantida em uma caixa incubadora cuja temperatura era $27\pm3^{\circ}\text{C}$. Para não causar alterações comportamentais pela presença de luz, a colônia foi mantida em uma câmara escura, iluminada apenas com lâmpada vermelha fria. O reconhecimento individual das operárias era feito através da etiqueta que recebiam no dia em que emergiam da célula de cria, colada no dorso do seu tórax. As fotos apresentadas neste trabalho foram obtidas a partir das filmagens.

Durante o processo de filmagem, a construção contínua de células foi acompanhada através de um mapeamento, onde cada célula era devidamente numerada. Isto possibilitou, quando da análise dos vídeos, uma descrição individualizada do que aconteceu durante o processo de provisionamento e postura (POP, do inglês *Provisioning and Oviposition Process*) de cada célula, assim como sua relação com o indivíduo que ali se desenvolvera. Quando as células do favo estavam no estágio de casulo, retirou-se o opérculo de cada uma para verificar a casta em formação (Koedam, 1999) e compará-la com seu histórico. Baseado na filmagem, para cada célula se registrou o número de regurgitações e a sua consistência (líquida ou pastosa), como se observa nas figuras abaixo.

FIGURA 01: DOIS TIPOS DE REGURGITAÇÃO NO MESMO POP EM *M. BICOLOR*
A. REGURGITAÇÃO PASTOSA, ASSEMELHA-SE A UM PURÊ
B. REGURGITAÇÃO LÍQUIDA, BRILHA NA SUPERFÍCIE.

Tipos de regurgitações

Para cada POP registraram-se:

- Número total de regurgitações, independentemente se forem líquidas ou sólidas;
- O número de regurgitações líquidas e o número de regurgitações sólidas por POP.

Mortalidade da cria

Como uma grande quantidade de cria morreu, analisou-se se esta mortalidade poderia estar relacionada com os seguintes parâmetros:

- Número total de regurgitações;
- Número de regurgitações líquidas;
- Rainha mãe (uma rainha específica poderia apresentar algum tipo de enfermidade);

Aplicou-se o Teste U de Mann-Whitney para comparar estas variáveis (Sokal & Rohlf, 1997; Green, *et al.*, 2000).

Especialização

Caso existisse evidência sobre o tipo de regurgitação com a casta produzida, registrou-se;

- Identidade do indivíduo que realizava cada regurgitação;
- Idade do indivíduo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta espécie é comum aparecer uma doença dos favos que debilita a colônia, e ocasiona perdas de dados nas pesquisas. Das 508 células, 214 (42%) morreram encontrando-se as células vazias ou com restos de pólen (Fig. 02). Não foram encontradas correlações da morte das larvas com nenhum dos parâmetros analisados.

FIGURA 02: CRIA MORTA EM *M. BICOLOR*: A. VISTA DO FAVO AFETADO. B. LARVA AFETADA E LARVA SAUDÁVEL. C. CÉLULA COM RESTOS DE PÓLEN E LARVA DESSECADA. D. LARVA SECA SOBRE RESTOS DE PÓLEN.

A distribuição das células mortas, rainhas, operárias e machos, foi aparentemente aleatória como pode ser observada na figura 03. Na Tabela I, encontram-se os resultados para cada um dos três favos:

TABELA I: QUANTIDADE DE INDIVÍDUOS RESULTANTES EM CADA FAVO DE *M. BICOLOR*.

	FAVO A	FAVO B	FAVO C	TOTAL
TOTAL DE CÉLULAS	164	201	144	509
MORTAS	91	78	45	214
MACHOS FILHOS DE RAINHA	0	2	3	5
MACHOS PROVAVELMENTE FILHOS DE OPERÁRIAS	0	1	6	7
RAINHAS VIRGENS	10	21	11	42
VIRGENS DE CÉLULAS COM DOIS OVOS	0	1	1	2
OPERÁRIAS	62	95	78	235
OPERÁRIAS DE CÉLULAS COM DOIS OVOS	1	3	0	4

FIGURA 03: DISTRIBUIÇÃO DA POSTURA POR FAVO EM *M. BICOLOR*.

É notável o fato de que algumas células com ovo reprodutivo de operária não resultaram em machos como seria de se esperar, segundo os resultados publicados nesta área (e.g. Beig, 1972). Na nossa colônia, só sete dos doze machos originaram-se de ovos de operária. Em seis células de cria fechada com ovos de operária e de rainha resultaram quatro operárias e duas rainhas virgens, o que sugere a mesma probabilidade de eclodir primeiro para o ovo de rainha e para o de operária, ao contrário do postulado por Beig (1972) para *Scaptotrigona postica*. Aparentemente neste conflito entre rainha e operária, o ovo da rainha ganhou seis vezes do ovo da operária. Assim, pelo menos em *M. bicolor*, em células que contêm dois ovos, um da rainha e o segundo de operária, pode existir competição pela sobrevivência, com igual probabilidade de sucesso pelas duas larvas. Considerações adicionais sobre o assunto encontram-se em Koedam, e col. (em prep.).

De um total de 215 POP o número de regurgitações variou entre 9 e 22 (média 14 ± 2). As líquidas variaram entre 0 e 6 (média 2 ± 1). Para a comparação

estatística, contabilizaram-se as regurgitações de 40 POP que resultaram em rainhas em contraste com 53 POP que resultaram em operária para o teste (Fig. 04). Compararam-se os três parâmetros mencionados anteriormente, entre células que continham rainhas e operárias. Os resultados tanto para rainhas quanto para operárias, não variaram com relação às médias obtidas nos 215 POP onde a casta produzida não foi considerada.

FIGURA 04: COMPARAÇÃO DOS TIPOS DE REGURGIÇÕES DE ALIMENTO EM *M. BICOLOR*.

Van Veen (2000) estudando *M. beecheii*, verificou que as células que continham rainhas virgens receberam uma quantidade de regurgitações de alimento significativamente menor que as de operárias. Para *M. bicolor*, há uma situação semelhante com a regurgitações sólidas como apresentado na figura 04b; contudo o teste de Mann-Whitney não foi significativo para nenhum dos três parâmetros analisados (total regurgitações: $p=0,7$; regurgitações líquidas: $p=0,6$ e regurgitações sólidas: $p=0,5$ Fig. 02b). Uma amostra maior de regurgitações em célula produtoras de rainhas pode ser necessária para termos uma melhor definição desse fenômeno.

Contudo, constatou-se que o reconhecimento das regurgitações líquidas é incerto, pois às vezes um brilho (para nós representava líquido) surgia na superfície nos momentos em que nenhuma abelha descarregava. Ocorria também que era difícil saber se haviam descarregado duas ou mais

regurgitações líquidas em seqüência. Por isso, a técnica de filmar os POP não é suficiente para determinar a natureza das regurgitações de alimento larval. Seria uma boa ferramenta de acompanhamento, mas cada regurgitação teria que ser recolhida imediatamente.

O alimento larval é composto por pólen, carboidratos (glicose e frutose) e secreções das glândulas hipofaríngeas das nutridoras. Ainda se desconhece se existem secreções mandibulares, como também as funções das secreções glandulares no alimento (Velthuis & Sommeijer, 1991). Hartfelder e Engels (1989) estudaram as frações solúveis em água, e na metodologia não especificaram o número de células utilizadas para a análise química. Velthuis e col. (2003) compararam a composição do alimento larval para quatro espécies de *Melipona*. Verificaram que o conteúdo de carboidratos, grãos de pólen e aminoácidos é aproximadamente constante entre espécies. O conteúdo de água variou de 41% até 62%. Entretanto a amostra coletada pelos pesquisadores era pequena, de 6 a 20 células e se supusermos que para cada 100 células, 25 são de rainhas (Kerr, 1950), nestas investigações teríamos apenas de 1 a 5 amostras com alimento de célula produtora de rainha. Além disso, se estas amostras tivessem alguma diferença no nível nutricional, esta não poderia ser detectada. Mas ainda, muitos pesquisadores constataram que 25% de produção de rainhas em *Melipona*, postulado por Kerr (1950), é um número elevado (Engels & Imperatriz-Fonseca, 1990) e que esta percentagem depende muito das condições da colônia. Desse modo, este tipo de acompanhamento específico para cada célula e o tipo de casta produzida, dificilmente poderá ser feito no gênero *Melipona*, mas sim em outros gêneros de abelhas sociais, nas quais as células de rainha são identificáveis.

Engels e Imperatriz-Fonseca (1990) e Velthuis & Velthuis (1998) ressaltaram como o alimento larval é segregado verticalmente na célula ficando os componentes mais leves (e líquidos) na superfície, deixando por último os grãos de pólen mais pesados e difíceis de digerir para o final. O líquido visto em nossas filmagens, freqüentemente era absorvido pelo mais pastoso. Isto poderia representar simplesmente a homogeneização de regurgitações que continham quantidades diferentes de mel e/ou de água,

mas também poderiam ser secreções glandulares de natureza mais densa, cuja finalidade seria mesclar-se com o pólen. Em outras palavras, poderia tratar-se de enzimas necessárias para a digestão do pólen. Campos e col. (1979) sugeriram a existência de hormônio juvenil exógeno agregado ao alimento (*apud* Velthuis & Sommeijer; 1991).

Em resumo, ainda existem muitas dúvidas com relação ao mecanismo de determinação de castas no gênero *Melipona*. Para esclarecer algumas destas dúvidas, seria recomendável identificar quimicamente as regurgitações coletando-as diretamente dos favos sem misturar células, ou das operárias, na hora em que são regurgitadas.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Dr. Hayo H.W. Velthuis e ao Dr. Dirk Koedam pela colaboração durante a filmagem. Agradecemos também aos colegas Sergio Dias Hilário e Felipe Contrera pelas sugestões e pela revisão do português. Este trabalho foi financiado pela FAPESP (Processo 99/00180-0).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BOURKE, A.F.G. & RATNIEKS, F.L.W., Kin conflict over caste determination in social Hymenoptera. **Behavioral Ecology & Sociobiology**, v.46, p.287-297, 1999.
- BEIG, D. The production of males in queenright colonies of *Scaptotrigona postica*. **Journal of Apicultural Research**, v.11, n.1, p.33-39, 1972.
- CAMARGO, J.M.F. Notas sobre a morfologia e biologia de *Plebeia (Schwarziana) quadripunctata* (Hymenoptera, Apidea: Meliponinae). **Studia Entomologica**, v. 17, n. 1-4, p.433-470, 1974.
- CASTILHO-HYODO, V.C. **Rainha ou operária? Um ensaio sobre a determinação de castas em *Schwarziana quadripunctata* (Lepeletier, 1936) (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)**. Tese, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, 2001.
- COSTA, L.M. Estudos em rainhas de *Schwarziana quadripunctata*. **Ciência & Cultura**, v.49, p.706, 1977.
- EDUARDES, R. **Social wasps: their biology and control**. Great Britain: The Rentokil Library 1980, p. 398.
- ENGELS, W. & IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. Caste development, reproductive strategies, and control of fertility in honey bees and stingless bees. In: W. ENGELS (Ed) **Social Insects: An evolutionary approach to castes and reproduction** Berlin: Springer Verlag, 1990, p.265.
- GREEN, S.B.; SALKIND, N.J. & AKEY, T.M. **Using SPSS for windows. Analyzing and understanding data**. 2nd Edition, Prentice Hall, New Jersey, 430pp, 2000.
- HARTFELDER, K. & ENGELS, W. The composition of larval food in stingless bees: evaluating nutritional balance by chemosystematic methods. **Insectes Sociaux**, v.36, n.1, p.1-14, 1989.
- IMPERATRIZ-FONSECA, V.L.; OLIVEIRA, M.A.C., & IWAMA, S. Notas sobre o comportamento de rainhas virgens de *Plebeia (Plebeia) remota* Holmberg (Apidae, Meliponinae). **Ciência & Cultura**, v.27, p.665-669, 1975.
- IMPERATRIZ-FONSECA, V.L.; CRUZ-LANDIM, C., & MORAES, R.L.M.S. Dwarf gynes in *Nannotrigona testaceicornis* (Apidae, Meliponinae, Trigonini). Behavior, exocrine gland morphology and reproductive status. **Apidologie**, v.28, p.113-122, 1997.
- JULIANI, L. O aprisionamento de rainhas virgens em Trigonini. **Boletim da Universidade do Paraná, Zoologia**, v.20, p.1-11, 1962.
- KERR, W.E. Evolution of the mechanism of caste determination in the genus *Melipona*. **Evolution**, v.4, p.7-14, 1950.
- KERR, W.E. & NIELSEN, R.A. Evidences that genetically determined *Melipona* queens can become workers. **Genetics**, v.54, n.3, p.859-866, 1966.
- KOEDAM, D. Production of queens, workers and males in the stingless bee *Melipona favosa* (Apidae: Meliponinae): patterns in time and space. **Netherlands Journal of Zoology**, v.49, n.4, p.289-302, 1999.
- KOEDAM, D.; CEPEDA, O.I.; VELTHUIS, H.H.W. & IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. Inter- and Intra-caste conflict over the production of males in *Melipona bicolor* (Hymenoptera, Meliponinae). Manuscrito a ser submetido.

- MATEUS, S.; HRNCIR, M.; FAUSTINO, C.D. & ZUCCHI, R. Ocorrência de intercastas adultas em colônias de *Melipona seminigra*: Aspectos morfo-etológicos preliminares (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). In: **Anais do V Encontro sobre Abelhas** FFCLRP – FMRP – USP, Ribeirao Preto, Sao Paulo, 2002, p.211-216.
- NOGUEIRA NETO, P. Stingless bees and their study **Bee World**, v. 32, p.3-76, 1951.
- RATNIEKS, F.L.W. Heirs and spares: caste conflict and excess queen production in *Melipona* bees. **Behavioral Ecology & Sociobiology**, v.50, n.5, p.467-473, 2001.
- RIBEIRO, M. DE F. & ALVES, D. DE A. Size variation in *Schwarziana quadripunctata* queens (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). **Revista de Etologia**, v.3, n.1, p.59-65, 2001.
- RIBEIRO, M. DE F.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. & SANTOS FILHO, P DE S.S. Exceptional high queen production in the brazilian stingless bee *Plebeia remota*. **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, v.38, n.2, p.111-114, 2003.
- SAKAGAMI, S.F. Stingless bees In: **Social insects Vol III**. H.R. Hermann (Ed.) Academic Press Inc. 1982, p.272-423.
- SOKAL, R.R. & ROHLF, F.J. Biometry. **The principles and practice of statistics in biological research**. 3rd Edition, W.H. Freeman and Company, New York, USA, 887p. 1997.
- VEEN, J.W. VAN Cell provisioning and oviposition in *Melipona beecheii* (Apidae, Meliponinae) with a note on caste determination. **Apidologie** v.31, n.3, p.411-419, 2000.
- VELTHUIS, H.H.W.; M.J. SOMMEIJER, M.J. Roles of Morphogenetic hormones in caste polymorphism in stingless bees In: A.P. GUPTA (Ed.) **Morphogenetic hormones of arthropodes** New Jersey: Rutgers University Press, 1991, p. 346-383.
- VELTHUIS, H.H.W.; CORTOPASSI-LAURINO, M.; PEREBOOM, J. & IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. Speciation, development, and the conservative egg of the stingless bee genus *Melipona*. **Proceedings of the Section Experimental and Applied Entomology of the Netherlands Entomological Society (NEV)**, v.14, p.53-57, 2003.
- VELTHUIS, B.J. & VELTHUIS, H.H.W. Columbus surpassed: biophysical aspects of how stingless bees place an egg upright on their liquid food. **Naturwissenschaften**, v.85, p.330-333, 1998.

Denise de Araujo Alves

CAPÍTULO 7

DESENVOLVIMENTO DOS OVÁRIOS E SUA RELAÇÃO COM OS
NÍVEIS DE ATIVIDADE DAS OPERÁRIAS DURANTE O PROCESSO
DE APROVISIONAMENTO E POSTURA EM *Melipona bicolor*:
SIGNIFICADO EVOLUTIVO

CAPÍTULO 7

DESENVOLVIMENTO DOS OVÁRIOS E SUA RELAÇÃO COM OS NÍVEIS DE ATIVIDADE DAS OPERÁRIAS DURANTE O PROCESSO DE APROVISIONAMENTO E POSTURA EM *Melipona bicolor*: SIGNIFICADO EVOLUTIVO

ABSTRACT

Ovary development in social insects has been found to be correlated with dominance relationships, levels of activity and production of juvenile hormone. In the follicular epithelium of ovaries, juvenile hormone stimulates the absorption of nutrients; however, oogenesis is a nutrient limited process. The above roughly summarizes the interrelated causes and effects involved in the reproduction of an individual.

One of the biggest differences between *Apis* bees and stingless bees, is that in queenright conditions, stingless bee workers develop their ovaries retaining their capacity to lay eggs (although most are of a trophic nature). Ovary development is common among young bees attending the provisioning and oviposition process (POP). The several tasks that are involved in the POP are carried on with different levels of intensity by the individuals participating in the process. As we demonstrated in the previous chapter, the individuals that are egg layers are most involved in the POP contributing efficiently to the process. Dissections revealed that there is a significant correlation between the area of the ovaries and the levels of activity presented by the workers of a monogynous colony of *Melipona bicolor*. Since nutritional factors also play an important role, our method of correlating the final weight of the bees with activity, proved to be adequate to indirectly test the influence of food in oogenesis.

In this chapter we discuss the meaning of retaining the capacity to produce eggs in an evolutionary scenario related to division of labor in eusocial insects.

RESUMO

Nos insetos sociais, demonstrou-se que o grau de desenvolvimento dos ovários está correlacionado com relações de dominância, níveis de atividade e com a produção de hormônio juvenil. No epitélio folicular dos ovários, o hormônio juvenil estimula a absorção de nutrientes, mas ao mesmo tempo sabemos que a oogênese é um processo limitado pela disponibilidade de nutrientes. Estas são as causas e efeitos inter-relacionados na reprodução de um indivíduo.

Uma das diferenças maiores entre as abelhas do gênero *Apis* e os meliponíneos, é que as abelhas sem ferrão conseguem desenvolver os ovários e reter a capacidade de botar ovos (embora comumente de natureza trófica) em colônias com rainha. As operárias jovens normalmente desenvolvem seus ovários, principalmente aquelas atendendo ao processo de provisionamento e postura (POP). As diversas tarefas relacionadas ao processo são realizadas com diferentes níveis de intensidade por cada indivíduo participando dele. Como demonstramos no capítulo quatro, as operárias que colocam ovos são os indivíduos mais envolvidos no POP contribuindo eficientemente ao processo. Quando em uma colônia monogínica de *Melipona bicolor* dissecamos as participantes do POP, revelamos que há uma correlação significativa entre a área dos ovários de cada indivíduo com o grau de atividade por ele apresentada. Já que os fatores nutricionais tem um papel importante no desenvolvimento dos ovários, nosso método de correlacionar o peso final com a atividade das abelhas, demonstrou ser adequado para testar indiretamente a influência do alimento na oogênese.

Neste capítulo discutimos o significado evolutivo de manter a capacidade de produzir ovos, em relação com a divisão de trabalho em insetos eussociais.

INTRODUÇÃO

Uma das características marcantes da eussocialidade é a diferenciação morfológica e comportamental das castas, culminando na ultra-especialização da rainha como indivíduo reprodutor. Mas a produção destas castas é regulada pela qualidade e/ou quantidade de alimento larval (e. g. Sakagami, 1982), conjugados com caracteres genéticos (Kerr & Nielsen, 1966).

O desenvolvimento dos ovários das operárias em colônias com rainha está documentado em todos os himenópteros sociais (Sakagami, *et al.*, 1963; Holldobler & Wilson, 1990; Eduards, 1980). Em formigas, a condição dos ovários foi utilizada para estimar a idade da operária. Neste grupo, os ovários das operárias alcançam seu desenvolvimento máximo em idades jovens e gradualmente se atrofiam à medida que as formigas envelhecem e exercem trabalhos longe da região de cria (Holldobler & Wilson, 1990). Em numerosos insetos tanto solitários quanto sociais, correlacionou-se a atividade ovariana com hierarquias (West-Eberhard, 1978; Roseler *et al.* 1980), com o volume da *corpora allata* (Roseler *et al.* 1980; Mathias & Caetano, 1995) e com a concentração de hormônio juvenil na hemolinfa (Sledge; *et al.*, 2001). Na vespa social *Polistes dominulus*, ovários mais desenvolvidos estão correlacionados com uma *corpora allata* mais ativa, que está, por sua vez correlacionada com os níveis de hormônio juvenil (Sledge *et al.* 2001). Para fechar o círculo, sabe-se que o hormônio juvenil estimula a absorção de nutrientes no epitélio folicular dos ovários. Sledge e col. (2001) também conseguiram correlacionar a atividade ovariana com diversos níveis de comportamentos de dominância.

Em insetos, a oogênese ocorre somente se houver disponibilidade de alimento; portanto é um processo limitado pelos nutrientes. A aquisição destes nutrientes pode ocorrer na etapa larval ou adulta (Wheeler, 1996). Em abelhas sem ferrão, esta aquisição pode ser principalmente durante a etapa larval quando acontece a determinação de castas, embora se saiba que as operárias jovens consomem pólen: as que participam do POP apresentam muito pólen no sistema digestivo (Bego, 1983).

Nas espécies de abelhas do gênero *Apis*, a rainha e as larvas produzem alguma substância que inibe o desenvolvimento dos ovários nas

operárias (Le Conte, *et al.*, 1990; Winston & Slessor 1992; Wossler & Crewe, 1999). Contudo umas poucas conseguem desenvolver os ovários e colocam um número substancial de ovos (Bourke, 1988; Ratnieks & Visscher, 1989). Operárias de *Apis* também podem desenvolver seus ovários quando confinadas em grupos (Butler & Fairlay, 1963; Velthuis, 1970). O trabalho de Sakagami e col. (1963), revelou que as operárias alimentadoras de várias espécies de abelhas sem ferrão apresentam ovários desenvolvidos na presença da rainha. Os autores acima citados examinaram 17 espécies de abelhas das quais 15 eram de meliponíneos e duas eram espécies de *Apis*. Nas abelhas sem ferrão, quase 100% das operárias encarregadas de cuidar a cria tinham ovários desenvolvidos. Eles concluíram que este desenvolvimento era facultativo, uma vez que nem todas as operárias tinham ovários desenvolvidos. O desenvolvimento de ovários estava correlacionado com produção de cera. Eles também perceberam que até os ovários mais rudimentares nos meliponíneos, eram maiores que os de operárias das duas espécies de *Apis* examinadas. Nos meliponíneos, somente os gêneros *Trigonisca* (Sakagami & Zucchi, 1974), *Tetragonula* (Sakagami & Inoue 1990 *apud.* Crespi, 1992), *Duckeola* (Sakagami & Zucchi, 1968) e *Frieseomelitta* (Terada, 1970) apresentam operárias completamente estéreis; em *Frieseomelitta* a esterilidade é devida à regressão dos ovidutos na etapa de pupa que continua com a degeneração dos ovaríolos (Boleli, *et al.* 1999; Boleli, *et al.* 2000). Embora a regressão dos ovidutos também aconteça tanto em operárias quanto em rainhas de outras espécies de meliponíneos (Tambasco, 1975 *apud.* Boleli, *et al.* 2000), os ovários continuam desenvolvendo-se e serão funcionais durante a vida adulta.

A maioria dos meliponíneos possui operárias que produzem ovos, alguns claramente tróficos, mas em algumas espécies as operárias também produzem uma boa percentagem dos machos da colônia (Beig, 1972, Contel & Kerr, 1976; Koedam, *et al.* 1999; Sommeijer, *et al.* 1999; Toth, *et al.* 2002; Paxton, *et al.* 2002; Toth, *et al.* 2003) ilustrando o conflito de interesses que existe nas abelhas sem ferrão (Wenseleers, *et al.* 2003). Lin & Michener (1972) discutem a evolução de um comportamento “benfeitor” sempre que uma fêmea tenha a “esperança” de reproduzir-se, enquanto que West-Eberhard (1981, *apud.* Crespi, 1993) propõe que a função dos ovos tróficos é de manter ativos os ovários.

Estas idéias são bases interessantes sobre as quais vamos discutir nossos resultados.

O processo de provisionamento e postura (POP) em meliponíneos apresenta oviposição tanto de operárias como de rainhas, e envolve rituais estereotipados nas interações rainha-operária, com as operárias evitando a rainha, e em algumas espécies com a rainha batendo com as antenas (atacismo agressivo) naquelas operárias participantes no POP, mas aparentemente sem machucá-las. Sakagami e col. (1973), explicam que no centro deste processo está o conflito da operária entre o temor da rainha e a necessidade de defender a célula para colocar seus próprios ovos.

Em *Melipona bicolor*, Bego (1983) acompanhou a divisão de trabalho em operárias marcadas por grupos de idades. Analisou também as glândulas hipofaríngeas, glândulas de cera, desenvolvimento ovariano e conteúdo estomacal. Concluiu que as operárias na etapa de provisionamento de células de cria apresentavam o maior desenvolvimento de suas glândulas hipofaríngeas, das glândulas de cera e de seus ovários, além de conter grande quantidade de pólen no sistema digestivo.

Nossos resultados nos fazem acreditar que, para que as operárias trabalhem eficientemente com a cria, este desenvolvimento ovariano é necessário. Comprovamos que em *M. bicolor*, os indivíduos que colocam ovos têm um maior interesse no processo de provisionamento e postura (POP) e conseqüentemente contribuem de maneira significativa ao processo (Capítulo 4). Alguns autores chamam a este interesse de “inclinação idiossincrática para atender a cria” (Oster & Wilson, 1978). As diferenças na eficiência de seus comportamentos permite que as operárias sejam separadas em dois grupos: operárias produtoras ou não produtoras de ovos, sejam estes de natureza trófica ou reprodutiva (Capítulo 4). Esta diferenciação pode estar indicando que o desenvolvimento ovariano, e, portanto, os níveis hormonais, têm papéis importantes na partição de tarefas entre os membros da colônia. Nós tratamos de desvendar a base fisiológica deste mecanismo. Neste capítulo relacionamos os diversos graus de desenvolvimento ovariano e o peso individual com os níveis de atividade apresentados pelas operárias. Nossa hipótese é que aqueles indivíduos que se envolvem mais formalmente no processo de provisionamento e postura têm ovários desenvolvidos e são mais pesadas. Os diferentes graus de desenvolvimento dos ovários entre os

indivíduos podem ser a causa dos diferentes graus de interesse que cada indivíduo apresenta para esta atividade. Tratamos também de correlacionar o peso do indivíduo com a atividade realizada, e assim indiretamente medir a influência da nutrição.

MATERIAIS E MÉTODOS

Método geral

Para filmar o comportamento, uma colônia monogínica foi transferida para a caixa de observação e colocada dentro de uma caixa incubadora que mantinha a temperatura a 27 ± 3 °C. As operárias tinham livre acesso ao exterior via um tubo plástico. Também foram alimentadas diariamente com uma mistura de pólen e mel de *Apis*, oferecida em pequena quantidade.

A colônia tinha uma população de 581 operárias adultas, considerado como bom. Ao começar a observação, a idade da rainha era de 80 dias considerada como muito jovem, já que conseguem viver até sete anos quando não são perturbadas (Drummond; com. per.).

As observações do processo de aprovisionamento e postura (POP, do inglês *Provisioning and Oviposition Process*), foram feitas do dia 21 de abril até 11 de maio de 2002. Para registrar a atividade de oviposição, filmaram-se continuamente todos os POP ocorridos no favo. As filmagens eram feitas dentro de uma câmara escura, iluminada apenas com lâmpada vermelha fria que aparentemente não perturba a atividade das abelhas.

Para conhecer a identidade das operárias, colocou-se um favo amadurecido em uma caixa conectada ao ninho principal que permite às operárias adultas auxiliar nos nascimentos. Três vezes por dia coletávamos as abelhas recém-nascidas. Estas eram marcadas com uma etiqueta colada ao tórax, permitindo assim a identificação individual.

Para registrar o comportamento das operárias marcadas durante o POP, as filmagens foram de 24 horas contínuas. Das 8:00h até a meia noite, um pesquisador acompanhava cada POP e provia as melhores condições

para a filmagem. Da meia noite até as 8:00h era focalizado o favo completo e a câmara ficava no automático. Isto causou a perda de alguma informação, pois ao aumentar a distância focal, perdia-se resolução e algumas etiquetas não podiam ser lidas. Estes POP foram eliminados da análise. Durante o processo de filmagem, a construção contínua de células foi acompanhada através de um mapeamento, onde cada célula era devidamente numerada.

A análise estatística incluiu o teste de Kruskall Wallis, o teste U de médias de Mann Whitney, e o teste de correlação de Spearman. Quando o teste de Kruskall Wallis resultava em diferença significativa, utilizava-se o teste U como post hoc, mudando o nível de significância de acordo com o número de variáveis examinadas (Sokal & Rohlf, 1997; Green, *et al.* 2000).

Informação sobre os componentes comportamentais

Nas fitas, acompanhamos cada POP. Durante este processo qualquer ação dirigida para uma célula era chamada de “evento” e possui a seguinte informação:

- Data.
- Número do POP (ou de célula).
- Identificação da operária participante.
- Duração (em segundos) do comportamento básico:
 - **Inserção do corpo** (completo ou parcial) ou inspecionar a célula.
 - **Aprovisionamento** o seja colocar alimento larval na célula.
 - **Ovipositar** (trófico ou reprodutivo).
 - **Selamento da célula** (Opercular a célula).
- Para cada indivíduo e cada comportamento básico foi calculada:
 - **Assiduidade:** número total de eventos comportamentais realizados por indivíduo para cada célula, para a totalidade do período de observação.

- **Constância:** número total de POP em que um indivíduo participou durante todo o período de observação.
- **Tempo investido:** somatória por indivíduo da duração total de tempo investido para cada comportamento durante todo o período de observação.

Informação sobre os componentes físicos

Antes das filmagens, realizou-se um ensaio dissecando-se quatro abelhas jovens e quatro mais velhas. O critério de “jovem” ou “velha” apoiou-se nas características tanto morfológicas quanto comportamentais que as abelhas selecionadas exibiram. As abelhas jovens fogem quando se abre a colônia e sua quitina é clara por não estar completamente pigmentada. Por outra parte, as operárias mais amadurecidas são escuras e atacam.

No exame das figuras 01 *a* até *h* podemos comparar os ovários desenvolvidos de uma operária jovem (Fig. 01b) com os ovários degenerados de uma operária velha (Fig. 01c). Os ovários podem ser: não desenvolvidos (câmara do folículo com gema em formação e elementos do germarium completos), desenvolvidos, ou degenerados (câmara do folículo virtualmente ausente, núcleos das células nutridoras desintegrando-se) (Sakagami, *et al.*, 1963; Buning, 1994). Nos ovários desenvolvidos, vemos claramente os ovaríolos com a câmara de trofócitos na parte distal de cada um (Figs. 01e & 01f). Os ovócitos se vêem em diferentes etapas de desenvolvimento, e em alguns se pode observar a corpora lútea (corpos amarelos), que são cicatrizes de ovos já colocados. Nos ovários degenerados estas cicatrizes são facilmente detectáveis (Figs. 01d, 01g & 01h).

FIGURA 01A. OVÁRIOS DEGENERADOS DE UMA ABELHA “VELHA”.

FIGURA 01B. OVÁRIOS DESENVOLVIDOS DE UMA ABELHA “JOVEM”.

FIGURA 01C. DETALHE DE UM OVÁRIO DEGENERADO.

FIGURA 01D. REMANESCENTES DAS CÉLULAS NUTRIDORAS LOGO APÓS UM OVO SER COLOCADO (CORPORA LUTEA).

FIGURA 01E. TRÊS OVARIÓLOS. NA PARTE SUPERIOR SE VÊEM AS CÂMARAS DE TROFOCITOS (A) COM OVOS INCIPIENTES (B).

FIGURA 01F. DOIS OVARIÓLOS. OBSERVE UM OOCITO QUASE COMPLETO.

FIGURA 01H. CORPORA LUTEA NA BASE OVARIÓLO.

FIGURA 01G. CORPORA LUTEA E DO OVIDUCTO COMUM.

No dia 12 de maio de 2002 as operárias marcadas foram sacrificadas em um congelador e foram pesadas individualmente. Para as dissecções e fixação dos ovários, seguimos o método de Akahira. Separadamente para cada abelha, os ovários foram fixados durante 72 horas em solução do Dietrich, preservados em álcool 70%, e refrigerados. Infelizmente, não foi possível detectar a presença dos corpos amarelos na base dos ovários (corpora lútea), pois parece que o método de fixação não foi adequado para o tempo (seis meses) em que os ovários se mantiveram refrigerados.

Para medir o desenvolvimento dos ovários para cada indivíduo, estes foram fotografados e a área total medida utilizando o programa SCION (www.scioncorp.com), especializado para a análise de imagens médicas. As foram tiradas em branco/preto; e incluíam uma escala e a identificação da abelha (Fig. 02).

ÁREA: 1,76

1,68

1,05

0,96

0,68 mm²

FIGURA 02: OVÁRIOS DE CINCO OPERÁRIAS DE *M. BICOLOR*, NASCIDAS EM 19 DE ABRIL/02.

NOTE-A GRANDE VARIEDADE DE TAMANHOS E A ASSIMETRIA APRESENTADA EM ALGUNS INDIVÍDUOS.

O programa se calibrou apoiado em fotos de figuras de área conhecida, desenhadas em papel milimetrado (Fig. 03). Como vemos no gráfico na figura 03, o programa é muito preciso apresentando um desvio padrão de apenas 0,071 cm². Esta diferença pode dever-se a imperfeições de nossa foto de referência, pois não foi fácil selecionar as áreas com precisão.

FIGURA 03: FOTO DE REFERÊNCIA DAS ÁREAS, E CURVA DE REGRESSÃO PARA O PROGRAMA DE MEDIÇÃO DE ÁREA.

RESULTADOS

Considerações gerais

Esta análise somente foi feita na colônia monogínica na qual ao terminarmos os 20 dias de filmagem, recapturamos e sacrificamos as operárias marcadas. Como sempre acontece que uma percentagem das operárias perde suas etiquetas (nos vídeos podiam se ver restos de cola sobre o tórax de várias abelhas), esta inconveniência redundou que os grupos de idades tivessem tamanhos amostrais diferentes variando entre 4 e 20 operárias.

Recapturamos 224 das 286 operárias marcadas, as quais foram pesadas. Infelizmente tivemos alguns problemas com a dissecação, perdendo ou rompendo algumas das amostras, de modo que somente $n=168$ (66,4%) são ovários completos. As amostras por grupos de idades, pesadas e com fotos dos ovários completos, variaram entre 1 e 18 operárias. Das 224 operárias, 30 não participaram do POP.

Para as correlações entre as variáveis relacionadas com atividade e as variáveis morfológicas, selecionamos somente aqueles indivíduos a respeito dos quais tivéssemos informação tanto para a área de seus ovários como seu peso corporal ($n=168$), e destas, três *outliers* foram extraídos. Por isso a mostra ficou reduzida a 165 abelhas. Destas, de 21 desconhecemos a idade,

mas as informações sobre peso, área dos ovários e atividade foram utilizadas na correlação entre atividade e variáveis morfológicas, onde o fator idade não é considerado.

Os diversos tamanhos amostrais para os análises foram:

Operárias que não participaram do POP:

- n=18: operárias que não participaram com informação completa
- n=126: operárias que sim participaram com informação completa

Resultados gerais das operárias que participaram do POP

- n=126: operárias que participaram do POP com informação completa

Operárias poedeiras *versus* não poedeiras

- n=82: não poedeiras (não poedeiras *sensu strictu*),
- n=8: não poedeiras que realizaram os movimentos intencionais para botar ovo, assentando-se na célula (Quase poedeiras). Este grupo foi considerado indicativo da presença de um ovo amadurecido porque de 40 operárias que o realizaram, 29 (73%) botaram ovo trófico.
- n=27: poedeiras que botaram um ovo trófico (poedeiras *sensu strictu*),
- n=9: poedeiras que botaram dois ovos tróficos. Quase poedeiras e poedeiras de 1 ou dois ovos tróficos se unificaram para um n total de 44 (poedeiras *latu sensu*).

Correlações entre as variáveis morfológicas e as variáveis comportamentais

POEDEIRAS “*SENSU STRICTU*”

- n=36: operárias poedeiras quando se analisa o efeito da idade
- n=48: pois quando analisamos o efeito das variáveis morfológicas incluímos as 12 abelhas das quais

desconhecemos sua idade mas que apresentavam as demais variáveis com informação completa.

NÃO POEDEIRAS “*SENSU STRICTU*”

- n=108 operárias poedeiras quando se analisa o efeito da idade (as 82 não poedeiras, adicionamos as oito quase poedeiras, pois de fato estas não tinham colocado ovo trófico, mas para cumprir o sentido “estrito” da amostra, incluímos 18 operárias que não participaram do POP).
- n=117 pois quando analisamos o efeito das variáveis morfológicas incluímos nove abelhas das quais desconhecemos sua idade mas que apresentavam as demais variáveis com informação completa.

NÃO POEDEIRAS JOVENS “*SENSU STRICTU*”

- n=51 consideramos somente as operárias não poedeiras maiores e iguais a quatro e menores e iguais a 12 dias de idade

Não houve operárias poedeiras de ovos reprodutivos nesta colônia.

Operárias que não participaram do POP

Temos informação sobre variáveis morfológicas para 30 operárias que apesar de estarem vivas, não participaram do POP. Temos informação completa para somente 18 destas operárias e é com este grupo que trabalhamos. Usando o teste do Mann Whitney, comparamos a área dos ovários e o peso corporal entre as abelhas que não participaram do POP em relação aquelas que participaram e de idade conhecida (n=126). Não encontramos diferença significativa entre os pesos ($p=0,1$; Fig. 04a), entre as que participaram ($0,08 \pm 0,008$ g. n=126) e as que não participaram do POP ($0,077 \pm 0,007$ g. n=18). Já analisando a área dos ovários, encontramos diferença significativa ($p < 0,005$ Fig 04b) entre as abelhas que não participaram ($0,9 \pm 0,5$ mm² n=18) e as que participaram do POP ($1,4 \pm 0,6$ mm² n=126). Das abelhas que não participaram, 6 tinham menos de cinco dias de idade, fato que diminuiu a

idade média a $6,9 \pm 4,5$ dias. As operárias que participaram no POP em média tinham $15,6 \pm 5,3$ dias de idade.

FIGURA 04: COMPARAÇÃO DAS VARIÁVEIS MORFOLÓGICAS ENTRE OPERÁRIAS QUE NÃO PARTICIPARAM (N=18) E AS QUE PARTICIPARAM (N=126) DO POP EM *M. BICOLOR*.

Resultados gerais das operárias que participaram do POP

A idade das operárias que participaram do POP (n=126) variou entre quatro e 25 dias; a área dos ovários apresentou uma média de $1,4 \pm 0,6$ mm² com 71% variando entre 1,2 e 2 mm² (Fig. 05a). Já quanto ao peso (n=126) este foi de $0,08 \pm 0,008$ g. 81% pesando entre 0,075 e 0,09 g. (Fig. 05b).

FIGURA 05: DISTRIBUIÇÃO DA ÁREA DOS OVÁRIOS (A) E DO PESO CORPORAL (B) PARA AS OPERÁRIAS QUE PARTICIPARAM DO POP EM *M. BICOLOR* (N=126).

Quando comparamos a idade das operárias contra as variáveis tanto morfológicas quanto de comportamento, obtivemos significância para todas exceto para área dos ovários (Fig. 06a até d).

Para o peso corporal, a correlação de Spearman revela uma alta significância ($p < 0,005$) com correlação inversa (Coef. corr. -0,33) embora baixa.

Apesar da grande variação também podemos observar uma não linearidade na relação entre peso e idade e pode-se distinguir, em relação ao peso corporal, dois grupos de idades: um primeiro grupo um pouco mais pesado até aproximadamente os 14 dias de idade e as restantes em geral mais leves (Figura 06b).

FIGURA 06: CORRELAÇÃO ENTRE IDADE DAS OPERÁRIAS E AS VARIÁVEIS MORFOLÓGICAS: ÁREA DOS OVÁRIOS [A] E PESO CORPORAL [B], E AS VARIÁVEIS COMPORTAMENTAIS ASSIDUIDADE E CONSTÂNCIA [C] E TEMPO INVESTIDO [D] (N=126) EM *M. BICOLOR*. AS RETAS APRESENTADAS SOMENTE ILUSTRAM TENDÊNCIAS.

Para as variáveis relacionadas com a atividade comportamental, encontramos uma correlação significativa e positiva ($p < 0,005$) para todas, embora os coeficientes de correlação não sejam muito altos (Fig. 06c & d).

Já quando comparamos a área dos ovários *versus* o peso corporal, não encontramos significância ($p = 0,3$, Coef. corr. 0,09; Fig. 07) apesar de haver

um certo grau de autocorrelação já que os ovários se encontravam dentro do corpo pesado.

FIGURA 07: CORRELAÇÃO ENTRE A ÁREA DOS OVÁRIOS E PESO CORPORAL DAS OPERÁRIAS EM *M. BICOLOR* (N=126).

Operárias poedeiras versus não poedeiras

Inicialmente dividimos as operárias em quatro grupos: não poedeiras (n=82), não poedeiras que realizaram os movimentos intencionais para botar ovo, sentando-se na célula (Quase poedeiras n=8), poedeiras que botaram um ovo trófico (n=27), e poedeiras que botaram dois ovos tróficos (n=9). Ao serem comparadas estatisticamente, o teste de Kruskal Wallis encontrou diferenças significativas entre esses grupos de operarias para as diversas variáveis aqui analisadas (Tabela I) excetuando-se para a área dos ovários. Para procurar os grupos semelhantes, usamos o teste de Mann Whitney como post hoc (nível de significância $p < 0,0125$). Não houve diferença significativa entre as poedeiras de um ou dois ovos tróficos, e por esta razão, estes dados foram unificados. Dentro do grupo das operárias que não botaram ovo trófico, encontramos que as 8 abelhas que fizeram movimentos intencionais para botar pertenciam comportamentalmente ao grupo das poedeiras, mas possuíam os ovarios significativamente maiores do que o das operárias que botaram 2 ovos. Este resultado possivelmente está refletindo que os ovários daquelas operárias que tinham botado dois ovos tróficos, já se encontravam em estado de degeneração.

TABELA I: COMPARAÇÃO ENTRE OS QUATRO GRUPOS DE OPERÁRIAS PARA AS VARIÁVEIS COMPORTAMENTAIS (ASSIDUIDADE, CONSTÂNCIA E TEMPO INVESTIDO) E AS VARIÁVEIS MORFOLÓGICAS (ÁREA DOS OVÁRIOS E PESO CORPORAL) EM *M. BICOLOR*.

NA PARTE SUPERIOR DA TABELA ESTÃO AS SIGNIFICÂNCIAS DOS TESTES ESTATÍSTICOS APLICADOS.

NA PARTE INFERIOR ESTÃO A MÉDIA, O DESVIO PADRÃO E O TAMANHO AMOSTRAL.

	ASSIDUIDADE	CONSTÂNCIA	TEMPO INVESTIDO (SEG)	ÁREA DOS OVÁRIOS (MM ²)	PESO CORPORAL (G)	N
KRUSKAL WALLIS	0,0005	0,0005	0,0005	0,08	0,008	
TESTE U (SIG.<0,0083)						
[A] X [B]	0,0005	0,001	0,001	0,052	0,3	
[A] X [C]	0,0005	0,0005	0,0005	0,7	0,001	
[A] X [D]	0,0005	0,0005	0,001	0,1	0,5	
[B] X [C]	0,1	0,2	0,2	0,6	0,6	
[B] X [D]	0,7	0,7	0,8	0,006	0,5	
[C] X [D]	0,09	0,2	0,3	0,3	0,06	
[A] NÃO POEDEIRAS	41,3±40,1	15,6±12,8	242,6±340,4	1,4±0,7	0,081±0,0009	82
[B] QUASE POEDEIRAS	176,6±104	41,9±19,2	721,4±477,5	1,8±0,6	0,078±0,003	8
[C] POE 1 OVO TRÓFICO	104,7±64,8	32,1±17,5	533,3±490,4	1,4±0,7	0,076±0,0009	27
[D] POE 2 OVOS TRÓFICOS	139,0±45,6	40,9±13,0	836,3±919,9	1,1±0,2	0,079±0,004	9
TOTAL						126

Com base nestes resultados unificamos as quase poedeiras com as poedeiras totalizando n=44 para esta análise, e as comparamos com as abelhas que não botaram ovos nem fizeram movimentos intencionais (n=82). Encontramos que não há diferença significativa entre a área dos ovários (p=0,9; poedeiras média 1,40±0,6 mm²; não poedeiras média 1,41±0,6 mm², Fig. 08a). Porém, para as demais variáveis as diferenças foram significativas: não poedeiras são mais pesadas (p<0,05; poedeiras média 0,077±0,006 g.; não poedeiras média 0,081±0,008 g, Fig. 08b), mas são menos assíduas (p<0,005; poedeiras média 124,8±74; não poedeiras média 41,3±40,1, Fig. 08d), menos constantes (p<0,005; poedeiras média 35,7±17,1; não poedeiras média 15,6±12,8, Fig. 08e) e investem uma menor quantidade de tempo no POP (p<0,005; poedeiras média 629,5±596,9 seg; não poedeiras média 242,8±340,4 seg, Fig. 08e). Como vimos no capítulo 4, necessita-se de um período de maturação para poder botar ovos. Por esta

razão, não é surpreendente que as poedeiras sejam significativamente mais velhas que as não poedeiras ($p<0,005$; poedeiras média $20,2\pm2,9$ dias; não poedeiras média $13,1\pm4,1$ dias; Fig. 08c) embora exista dentro deste grupo operárias velhas que nunca botaram ovo trófico.

FIGURA 08: COMPARAÇÃO ENTRE OPERÁRIAS POEDEIRAS (N=44) E NÃO POEDEIRAS (N=82) COM RELAÇÃO À VARIÁVEIS MORFOLÓGICAS (ÁREA DOS OVÁRIOS [A], PESO CORPORAL [B]) E VARIÁVEIS COMPORTAMENTAIS (ASSIDUIDADE [D], CONSTÂNCIA [E], E TEMPO INVESTIDO [F]). TAMBÉM CONSIDERAMOS O FATOR TEMPORAL IDADE [C] EM *M. BICOLOR*.

Correlações entre as variáveis morfológicas e as variáveis comportamentais

Poedeiras “*sensu strictu*”

Para analisar a relação que cada operária poedeira teria com o grau de atividade apresentada, prosseguimos com a correlação das variáveis morfológicas com as comportamentais, e com a idade. Tivemos que reorganizar a amostra da seguinte maneira: primeiro extraímos as oito operárias que “quase” botaram ovo trófico apesar de ser comportamentalmente semelhantes a poedeiras, ficando uma amostra de $n=36$ operárias poedeiras “*sensu strictu*”. A razão para a extração das “quase” poedeiras, foi o fato de possuírem seus ovários significativamente

mais desenvolvidos que operárias que já tinham expulsado dois ovos tróficos, demonstrando que a deposição dos ovos afeta o tamanho dos ovários, assim mascarando o efeito que estes exercem no comportamento, como se discutirá mais adiante. Também tivemos que aumentar o tamanho amostral incluindo as 12 abelhas das quais desconhecemos sua idade mas que apresentavam as demais variáveis com informações completas. Por tanto o tamanho amostral tornou-se $n=36$ operárias quando se analisou o efeito da idade, e de $n=48$ quando analisamos o efeito das variáveis morfológicas.

Examinamos primeiro se a área dos ovários poderia influenciar a atividade das operárias poedeiras e não encontramos nenhuma correlação (Assiduidade $p=0,3$, coef. corr. 0,15; Constância $p=0,2$, coef. corr. 0,17; Tempo investido $p=0,6$ coef. corr. -0,07). Concluímos que estas abelhas por já terem botado seus ovos, teriam seus ovários com aparência não desenvolvida ou que até alguns ovários haviam começado a degenerar.

Com relação a possível influência do peso individual das operárias poedeiras ($n=48$) encontramos correlação significativa e positiva para a assiduidade e constância totais (Tabela II, Fig. 09a). Um exame mais detalhado considerando cada um dos comportamentos básicos concluiu que o peso corporal está correlacionado com todas as variáveis comportamentais medidas para inserir o corpo (Assiduidade e Constância, Fig. 09b; e para Tempo investido Fig. 09c, Tabela II) e para botar os ovos tróficos (Assiduidade e Constância, Fig. 09d; e Tempo investido Fig. 09e, Tabela II). Como nenhuma abelha bota mais de um ovo trófico por célula, assiduidade e constância são iguais.

TABELA II: CORRELAÇÃO DA IDADE E O PESO CORPORAL DAS OPERÁRIAS POEDEIRAS “*SENSU STRICTU*” COM AS VARIÁVEIS COMPORTAMENTAIS E MORFOLÓGICAS EM *M. BICOLOR*.

PESO CORPORAL (G)					IDADE (DIAS)		
	SIGNIFICÂNCIA	COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO	N		SIGNIFICÂNCIA	COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO	N
	ASSIDUIDADE TOTAL	P<0,05	0,34	48			
	CONSTÂNCIA TOTAL	P<0,05	0,32	48	p=0,049	0,33	36
	TEMPO TOTAL INVESTIDO (SEG)						
INSERIR O CORPO NA CÉLULA	ASSIDUIDADE	P<0,05	0,39	48	P<0,05	0,45	36
	CONSTÂNCIA	P<0,05	0,36	48			
	TEMPO INVESTIDO (SEG)	P<0,05	0,28	48			
APROVISIONAR ALIMENTO	ASSIDUIDADE						
	CONSTÂNCIA						
	TEMPO INVESTIDO (SEG)						
BOTAR OVO TRÓFICO	CONSTÂNCIA	P<0,05	0,34	48	P<0,05	0,35	36
	TEMPO INVESTIDO (SEG)	P<0,05	0,39	48	P<0,05	0,34	36
	ÁREA DOS OVÁRIOS			48			
	PESO CORPORAL			48			

A idade das operárias poedeiras está correlacionada com a constância total (Tabela II, Fig. 10a); A análise detalhada com os comportamentos básicos do POP revelou que idade correlacionou-se com a constância para inserir o corpo (Tabela II, Fig. 10b), e com a constância e o tempo investido em colocar os ovos (Assiduidade e Constância Fig. 10c; e Tempo investido Tabela II, Fig. 10d). Como nenhuma operária bota mais de um ovo trófico por célula, a constância e a assiduidade são iguais. As operárias mais velhas são mais constantes em inserir o corpo (que provavelmente tem como objetivo inspecionar o nível de alimento nas células) para botar seus ovos.

Não poedeiras “*sensu strictu*”

Para analisar as operárias não poedeiras “*sensu strictu*”, também modificamos a amostra da seguinte maneira: ao grupo das 82 não poedeiras, adicionamos as oito quase poedeiras, pois de fato estas não tinham colocado ovo trófico. Incluímos nove indivíduos dos quais desconhecemos a idade mas temos completos os demais dados e finalmente, para cumprir o sentido “estrito” da amostra, incluímos as 18 operárias que não participaram do POP. Por tanto no total temos $n=108$ quando correlacionamos as variáveis com a idade, e $n=117$ com as demais correlações.

Encontramos que a idade (Tabela III; Figs. 11a até h) e o desenvolvimento dos ovários (Tabela III, Figs. 11a até f) têm altíssima correlação com todas as variáveis, como aparece na tabela III. Os coeficientes de correlação com a idade são em geral bastante altos. Já os coeficientes da área dos ovários são em geral mais baixos.

Quando comparamos as variáveis comportamentais das operárias não poedeiras com peso corporal, a correlação foi positiva somente com relação à idade (Tabela III).

Em resumo, vemos que as operárias que não colocaram ovo trófico são mais ativas à medida que envelhecem e que esta atividade está correlacionada com a área dos ovários. De uma vez, há uma tendência a diminuir o peso corporal à medida que se envelhece

TABELA III: CORRELAÇÃO DA IDADE E O DESENVOLVIMENTO OVARIANO DAS OPERÁRIAS NÃO POEDEIRAS “*SENSU STRICTU*” COM AS VARIÁVEIS COMPORTAMENTAIS E MORFOLÓGICAS EM *M. BICOLOR*

IDADE (DIAS)				ÁREA DOS OVÁRIOS		
	SIGNIFICÂNCIA	COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO	N	SIGNIFICÂNCIA	COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO	N
ASSIDUIDADE TOTAL	P<0,005	0,58	108	P<0,05	0,24	117
CONSTÂNCIA TOTAL	P<0,005	0,54	108	P<0,05	0,29	117
TEMPO TOTAL INVESTIDO (SEG)	P<0,005	0,44	108	P<0,05	0,22	117
INSERIR O CORPO NA CÉLULA	ASSIDUIDADE	P<0,005	0,59	P<0,05	0,22	117
	CONSTÂNCIA	P<0,005	0,58	P<0,05	0,28	117
	TEMPO INVESTIDO (SEG)	P<0,005	0,56	P<0,005	0,32	117
APROVISIONAR ALIMENTO	ASSIDUIDADE	P<0,005	0,38	P<0,005	0,36	117
	CONSTÂNCIA	P<0,005	0,40	P<0,005	0,37	117
	TEMPO INVESTIDO (SEG)	P<0,005	0,38	P<0,005	0,33	117
OPERCULAR A CÉLULA	CONSTÂNCIA	P<0,05	0,22	P=0,54		117
	TEMPO INVESTIDO (SEG)	P<0,05	0,22	P=0,54		117
ÁREA DOS OVÁRIOS	P<0,005	0,31	108			
PESO CORPORAL	P<0,05	-0,23	108			

Não poedeiras jovens “*sensu strictu*”

Numa outra análise consideramos somente as operárias não poedeiras maiores e iguais a 4 e menores e iguais a 12 dias de idade (n=51). A razão para restringir esta análise a esta faixa de idades foi o fato de que durante esta faixa se localizam os picos dos comportamentos de inserir o corpo, aprovisionar alimento e opercular células do POP, em contraposição ao começo da atividade reprodutiva, como já se descreveu e analisou no capítulo 4. Nestas abelhas jovens há uma alta correlação da idade com o

desenvolvimento dos ovários ($p < 0,005$; Coef corr. 0,42 r^2 , 0,17) provavelmente indicando a maturação dos ovos. A idade destas operárias jovens, também tem correlação com assiduidade e constância totais e tempo total investido. A idade se correlaciona também com os comportamentos básicos de inserir o corpo na célula e aprovisionar alimento. A área dos ovários também está muito correlacionada com todas as variáveis comportamentais como se vê na tabela IV. Assim notamos que a medida que a abelha envelhece, aumenta, o tamanho de seus ovários junto com os níveis de atividade (Tabela IV).

TABELA IV: CORRELAÇÃO DA IDADE, DO PESO CORPORAL E O DESENVOLVIMENTO OVARIANO DAS OPERÁRIAS NÃO POEDEIRAS JOVENS “*SENSU STRICTU*” COM AS VARIÁVEIS COMPORTAMENTAIS E MORFOLÓGICAS EM *M. BICOLOR*. N=51

IDADE (DIAS)				ÁREA DOS OVÁRIOS		PESO CORPORAL (g)	
	SIGNIFICÂNCIA	COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO		SIGNIFICÂNCIA	COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO	SIGNIFICÂNCIA	COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO
ASSIDUIDADE TOTAL	$P < 0,005$	0,40		$P < 0,005$	0,44	$P < 0,05$	0,36
CONSTÂNCIA TOTAL	$P < 0,005$	0,43		$P < 0,005$	0,48	$P < 0,05$	0,37
TEMPO TOTAL INVESTIDO (SEG)	$P < 0,05$	0,33		$P < 0,005$	0,45	$P < 0,05$	0,38
INSERIR O CORPO NA CÉLULA	ASSIDUIDADE	$P < 0,005$	0,40	$P < 0,05$	0,39	$P < 0,05$	0,37
	CONSTÂNCIA	$P < 0,005$	0,44	$P < 0,005$	0,44	$P < 0,05$	0,38
	TEMPO INVESTIDO (SEG)	$P < 0,005$	0,40	$P < 0,05$	0,38	$P < 0,05$	0,37
APROVISIONAR ALIMENTO	ASSIDUIDADE	$P < 0,005$	0,39	$P < 0,005$	0,48	$P < 0,005$	0,34
	CONSTÂNCIA	$P < 0,005$	0,40	$P < 0,005$	0,49	$P < 0,005$	0,33
	TEMPO INVESTIDO (SEG)	$P < 0,05$	0,38	$P < 0,005$	0,43	$P < 0,005$	0,38
ÁREA DOS OVÁRIOS	$P < 0,005$	0,42					
PESO CORPORAL	$P = 0,057$	0,27					

Apesar da oogênese estar fortemente limitada pela disponibilidade de alimento, o peso que a abelha apresentou no dia de sua morte, não representa a maturação e crescimento dos ovários (Idade vs. Peso corporal, $p=0,057$ Coef. corr. 0,27). Analisando esta faixa de idades conseguimos ver que as operárias mais pesadas estão mais envolvidas com o POP pois são mais assíduas, mais constantes e investem mais tempo (Tabela IV)

Na tabela V apresentamos as correlações significativas para cada comparação.

TABELA V: CORRELAÇÕES SIGNIFICATIVAS PARA TRÊS GRUPOS DE OPERÁRIAS COM AS VARIÁVEIS MORFOLÓGICAS E COMPORTAMENTAIS EM *M. BICOLOR*.

		Poedeiras	n	Não Poedeiras (Todas)	n	Não Poedeiras (4 até 12 dias de idade)	n
IDADE	TOTAL A	Peso corporal		-0,23	108	0,27	
		Área dos ovários		0,31	108	0,42	51
		Assiduidade		0,58	108	0,40	51
		Constância	0,33 36	0,54	108	0,43	51
		Tempo Investido		0,44	108	0,33	51
	INSERIR O CORPO B	Assiduidade	0,45 36	0,59	108	0,40	51
		Constância		0,58	108	0,44	51
		Tempo Investido		0,56	108	0,40	51
	APROVISIONAR ALIMENTO C	Assiduidade		0,38	108	0,39	51
		Constância		0,40	108	0,40	51
		Tempo Investido		0,38	108	0,38	51
	BOTAR OVOS TRÓFICOS D	Constância	0,35 36				
		Tempo Investido	0,34 36				
	OPERCULAR A CÉLULA	Constância		0,22	108		
		Tempo Investido		0,22	108		
ÁREA DOS OVÁRIOS	A	Peso corporal					
		Idade		0,31	117		
		Assiduidade		0,24	117	0,44	51
		Constância		0,29	117	0,48	51
		Tempo Investido		0,22	117	0,45	51
	B	Assiduidade		0,22	117	0,39	51
		Constância		0,28	117	0,44	51
		Tempo Investido		0,32	117	0,38	51
	C	Assiduidade		0,36	117	0,48	51
		Constância		0,37	117	0,49	51
		Tempo Investido		0,33	117	0,43	51
	D	Constância					
		Tempo Investido					
PESO CORPORAL	A	Área dos ovários		-0,23	117		
		Idade					
		Assiduidade	0,34 48			0,36	51
		Constância	0,32 48			0,37	51
		Tempo Investido				0,38	51
	B	Assiduidade	0,39 48			0,37	51
		Constância	0,36 48			0,38	51
		Tempo Investido	0,28 48			0,37	51
	C	Assiduidade				0,34	51
		Constância				0,33	51
		Tempo Investido				0,38	51
	D	Constância	0,34 48				
		Tempo Investido	0,39 48

FIGURA 09: CORRELAÇÃO ENTRE O PESO CORPORAL DAS OPERÁRIAS POEDEIRAS (N=48) COM AS VARIÁVEIS COMPORTAMENTAIS TOTAIS (ASSIDUIDADE E CONSTÂNCIA [A]) E OS COMPORTAMENTOS BÁSICOS DE INSERIR O CORPO NA CÉLULA (ASSIDUIDADE, CONSTÂNCIA [B] E TEMPO INVESTIDO [C]) E BOTAR OVO TRÓFICO (CONSTÂNCIA [D] E TEMPO INVESTIDO [E]) EM *M. BICOLOR*.

FIGURA 10: CORRELAÇÃO ENTRE A IDADE DAS OPERÁRIAS POEDEIRAS (N=36) COM AS VARIÁVEIS COMPORTAMENTAIS TOTAIS (CONSTÂNCIA [A]) E OS COMPORTAMENTOS BÁSICOS DE INSERIR O CORPO NA CÉLULA (ASSIDUIDADE, [B]) E BOTAR OVO TRÓFICO (CONSTÂNCIA [C] E TEMPO INVESTIDO [D]) EM *M. BICOLOR*.

FIGURA 11: CORRELAÇÃO ENTRE A IDADE DAS OPERÁRIAS NÃO POEDEIRAS (N=108) COM AS VARIÁVEIS COMPORTAMENTAIS TOTAIS (ASSIDUIDADE E CONSTÂNCIA [A] E TEMPO INVESTIDO [B]) E OS COMPORTAMENTO BÁSICOS DE INSERIR O CORPO NA CÉLULA (ASSIDUIDADE, CONSTÂNCIA [C] E TEMPO INVESTIDO[D]), E APROVISIONAR ALIMENTO NA CÉLULA (ASSIDUIDADE, CONSTÂNCIA [E] E TEMPO INVESTIDO[F]) EM *M. BICOLOR*.

FIGURA 11: CORRELAÇÃO ENTRE A IDADE DAS OPERÁRIAS NÃO POEDEIRAS (N=108) COM AS VARIÁVEIS COMPORTAMENTAIS RELACIONADAS COM OPERCULAR AS CÉLULAS (ASSIDUIDADE, CONSTÂNCIA [G] E TEMPO INVESTIDO [H]), E COM AS VARIÁVEIS MORFOLÓGICAS ÁREA DOS OVÁRIOS [I] E O PESO CORPORAL [J] EM *M. BICOLOR*.

FIGURA 12: CORRELAÇÃO ENTRE ÁREA DOS OVÁRIOS DAS OPERÁRIAS NÃO POEDEIRAS (N=117) COM AS VARIÁVEIS COMPORTAMENTAIS TOTAIS (ASSIDUIDADE, CONSTÂNCIA [A], E TEMPO INVESTIDO [B]) E OS COMPORTAMENTOS BÁSICOS DE INSERIR O CORPO NA CÉLULA (ASSIDUIDADE, CONSTÂNCIA [C] E TEMPO INVESTIDO[D]) E APROVISIONAR ALIMENTO NA CÉLULA (ASSIDUIDADE, CONSTÂNCIA [E] E TEMPO INVESTIDO [F]) EM *M. BICOLOR*.

DISCUSSÃO

Nossos resultados demonstram que realmente as operárias poedeiras são muito diferentes das operárias não poedeiras. Uma comparação geral nos confirma que as abelhas poedeiras são mais constantes, mais assíduas e investem uma maior quantidade de tempo no POP. Porém, são significativamente menos pesadas e a área de seus ovários não difere das operárias não poedeiras. Para explicar por que as poedeiras são mais leves, pudemos ver na correlação geral que o peso das abelhas tende a diminuir com a idade. Já com relação à área dos ovários, não é surpreendente que não houvesse diferença, pois entre as poedeiras poderia haver dois tipos de abelhas: aquelas que, se tivessem vivido mais tempo, teriam colocado mais ovos tróficos e, portanto quando sacrificadas apresentariam seus ovários desenvolvidos; mas também temos as operárias que, uma vez feitas suas contribuições de ovos tróficos teriam seus ovários com aparência de não desenvolvidos ou até em vias de degeneração (provavelmente as mais velhas). Um exame microscópico do material armazenado poderia confirmar nossas inferências. Na vespa primitivamente social *Macrostigmus come*, um ovo ocupa grande parte do abdômen da fêmea, por isso ela produz só um ovo de cada vez. Quando se dissecava uma fêmea que acabava de botar ovo, seus ovários apareciam com os não desenvolvidos (West-Eberhard, 1978). É provável que este seja o caso de *M. bicolor*, pois naquelas operárias que conseguem botar mais de um ovo, há um intervalo em média de três a oito dias entre cada postura (Capítulo 4).

Como já se disse, à medida que a operária envelhece, a tendência é a de perder peso. Já um exame mais metucioso revelou que, entre as operárias poedeiras, as mais velhas e mais pesadas são mais constantes, ou seja, participam de um número maior de POP e nestes inserem o corpo e colocam seus ovos (Capítulo 4). Embora a tendência geral de todas as operárias seja a de perder peso com a idade, é claro que entre as poedeiras são as operárias mais pesadas as mais envolvidas no POP.

Já entre as operárias não poedeiras, a idade teve um papel muito importante. Enquanto a idade aumentava, o peso apresentou uma correlação negativa, e a área dos ovários crescia. Entre as abelhas não poedeiras a

idade foi responsável por 0,38 até 0,59 das correlações para os comportamentos de inserir o corpo e aprovisionar as células. Existe correlação de apenas 0,22 para a constância e o tempo investido em opercular a células. A correlação entre a área dos ovários e os comportamentos de inserir o corpo e aprovisionar as células, embora não apresente um coeficiente de correlação muito alto, pelo fato de que ser significativa, é uma corroboração da relação da área dos ovários e idade, ou seja, vemos que com a aproximação da maturação dos ovos, a contribuição no POP aumenta. Entre as abelhas jovens não poedeiras, poderia haver várias que, se tivessem vivido mais tempo, muito provavelmente teriam colocado ovos tróficos. Estas abelhas apresentaram uma alta correlação da área de seus ovários com a idade, e entre estas abelhas, refletiu-se o efeito do peso individual na contribuição ao POP. As operárias mais pesadas entre as que ainda não tinham colocado ovo, mostraram grande interesse em inspecionar e encher as células com alimento. Este fator ficou mascarado quando se analisou a totalidade das operárias não poedeiras, onde se encontravam operárias velhas, com pesos em declínio. Como vemos, conseguimos demonstrar que o peso individual pode indiretamente estar pondo em evidência o vigor nutricional adquirido, seja como larva, ou como receptora de trofalaxis, e embora não vejamos sua influência por correlação com a oogênese.

Sendo que os coeficientes de correlação significativas só atingem até 0,59, concluímos que pode haver complexas relações de “*feedback*” entre peso, desenvolvimento ovariano, níveis hormonais, interações sociais e até capacidade de aprendizagem.

O comportamento de opercular células mostrou correlação fraca com a idade das operárias não poedeiras, mas com nenhuma das variáveis morfológicas, sendo aparentemente independente de influências hormonais. Porém, apresenta altas correlações (Coeficientes de correlação de 0,44 até 0,51, dados não publicados) em com os comportamentos básicos de inserir o corpo e aprovisionar as células em operárias jovens não poedeiras, e correlações (Coeficientes de correlação de 0,29 até 0,33, dados não publicados) em com os comportamentos básicos de inserir o corpo, e botar ovo trófico nas operárias

poedeiras. Esta última é uma interessante relação entre colocar ovo e protegê-lo.

A correlação entre dominância e desenvolvimento ovariano vem sendo demonstrada para vespas nos trabalhos de Pardi (1948 *apud.* West-Eberhard, 1978). Por exemplo, na vespa primitivamente social *Belanogaster griseus*, dissecções mostraram uma alta variabilidade no desenvolvimento ovariano tanto de fêmeas inseminadas quanto naquelas não inseminadas (West-Eberhard, 1978). Na procura por explicações fisiológicas, encontrou-se correlação com diversos hormônios e com morfometria de glândulas. Nas vespas *Polistes gallicus*, Roseler e col. (1980) comprovaram por meios volumétricos e radioquímicos, que durante o período de maturação de ovos o volume da *corpora allata* estava bem correlacionado com a produção de hormônio juvenil; também encontraram que as operárias subordinadas tinham uma *corpora allata* menor e menos ativa. Porém, não conseguiram explicar por que fêmeas que tinham sofrido extração de seus ovários apresentavam *corpora allata* grandes e pouca produção de hormônio juvenil. Pode ser que depois de certo ponto metabólico, as diferenças se encontrem a nível histológico. Um exemplo são os estudos realizados na *corpora allata* de rainhas e operárias de formigas *Pachycondyla striata*; não se encontraram diferenças a nível volumétrico, mas o exame microscópico mostrou que as rainhas possuíam vesículas citoplasmáticas secretoras, entre outras diferenças (Figueira & Mathias, 2002). Em meliponínos, existe um interessante estudo em *M. quadrifasciata* onde comparou-se os níveis de hormônio juvenil e ecdisteróides com a divisão de trabalho (Hartfelder, 2000; Santana, 2002). Esta pareceria ser a base hormonal que explicaria o comportamento geral das operárias participantes do POP como se discute no capítulo quatro.

Assim evidenciam-se os mecanismos proximais que poderiam muito bem explicar nossos resultados sobre os diversos “esforços” individuais investidos no POP pelas operárias de *M. bicolor*. A concentração de hormônios varia com a idade e influi no desenvolvimento ovariano, mas atuando preferencialmente nos indivíduos melhor alimentados. O fator nutricional se reflete no peso individual e muito provavelmente também no tamanho das operárias poedeiras. Mas nossos resultados, também nos

permitem considerações sobre a evolução dos ovos tróficos. Além disso, podemos discutir sobre o significado das operárias terem retido sua capacidade reprodutiva, pois o que podemos ver na base do comportamento das operárias de *M. bicolor* no POP, são fêmeas tratando de se reproduzir.

A origem dos ovos tróficos pode ser a canibalização de ovos (viáveis ou não) atuando como uma pressão seletiva. O benefício básico para o canibal deveria ser obter recursos para sua própria reprodução, mas em himenópteros não eussociais, onde duas ou mais fêmeas totipotentes tivessem a necessidade de conviver (por exemplo, por causa de limitantes ecológicos, como disponibilidade de ninhos) além dos benefícios nutritivos, uma das fêmeas poderia exercer sua dominância canibalizando a postura da/s outra/s. Isto é freqüentemente encontrado por exemplo, na vespa primitivamente social *Belanogaster griseus* (West-Eberhard, 1978), em vespas polistine (Jeanne, 1980), em formigas com fundação de ninho plesiométrica (Bartz & Hölldobler, 1982; Heinze, 1993). e em abelhas “quase solitárias” como *Xylocopa* (Velthuis & Gerling, 1983), e *Ceratina* (Sakagami & Maeta, 1985), e nos Euglossíneos (Garófalo, 1985). Em *Euglossa cordata* os ninhos são reutilizados por duas ou mais fêmeas todas com ovários ativos, mas uma só domina as outras. A fêmea dominante permanece guardando o ninho e aproveita as células aprovisionadas (e ovipositadas) pelas demais fêmeas. Propõe-se que este cenário poderia representar a condição ancestral precedendo a evolução de ovos tróficos nos meliponíneos (Garófalo, 1985).

Já em grupos eussociais, as diferenças tanto morfológicas como comportamentais entre rainha e operária, reduzem as opções reprodutivas das operárias, (por exemplo, uma rainha do gênero *Apis* pode ter 160-180 ovariolos enquanto que em operárias a média é de 4-6 ovariolos por ovário (Velthuis, 1970)) embora não as eliminem totalmente. Está comprovado que, em abelhas eussociais, permanece o antigo conflito entre fêmeas pela reprodução, embora limitado à produção de machos. Tomemos por exemplo às abelhas *Apis*, consideradas como o gênero que melhor representa o altruísmo entre os himenópteros sociais. Apesar dos feromônios *primer* produzidos pela rainha (por exemplo Butler & Fairey, 1963; Wossler & Crewe, 1999) e outros feromônios produzidos pela cria desoperculada (Kropáčová & Haslbacová,

1971), algumas poucas operárias conseguem desenvolver seus ovários e colocar um número substancial de ovos, embora a maioria seja consumida graças ao comportamento de policiamento de outras operárias (Ratnieks & Visscher, 1989). O desenvolvimento ovariano foi muito estudado no gênero *Apis*, e embora neste grupo haja canibalização de ovos, não existem ovos tróficos.

O fato de que grupos de operárias de abelhas *Apis mellifera* desenvolvam os ovários em condições de confinamento, permitiu uma série de experimentos onde se pôde esclarecer alguns feitos com relação ao desenvolvimento ovariano em operárias. É um fato que indivíduos da mesma idade apresentam diferenças individuais no grau de desenvolvimento ovariano (Velthuis, 1970); estas operárias reprodutoras são reconhecidas provavelmente por meios olfativos (Visscher & Dukas, 1995), e é comprovado que operárias poedeiras conseguem biosintetizar o sinal da rainha (Katzav-Gozansky, *et al.*, 2003). Para completar, operárias com ovários desenvolvidos inibiam o desenvolvimento destes em outras operárias (Velthuis, 1970). O mecanismo parece ser o de influenciar os níveis de vitelogenina na hemolinfa por meio da trofalaxis (Lin, *et al.* 1999).

De uma análise cladística de morfologia e comportamento, Michener (1990) conclui que nos caracteres relacionados com oviposição, o gênero *Melipona* apresenta os comportamentos presumivelmente ancestrais, tais como a oviposição das operárias diretamente em cima do alimento larval. Nos gêneros *Trigonisca*, *Tetragonula*, *Frieseomelitta* e *Duckeola* que apresentam operárias completamente estéreis, seus comportamentos durante o POP são “simples” caracterizados pela ausência da excitação típica de espécies onde as operárias não são estéreis (Sakagami & Zucchi, 1968; 1974; Sakagami & Inoue, 1990 *apud* Crespi, 1992). A simplicidade do POP nestas abelhas estéreis sugere que as interações ritualizadas entre operárias e rainhas estão associadas ao conflito sobre a produção de machos (Crespi, 1992). A ritualização resolve parcialmente os conflitos produzindo a cooperação (Crespi, 1992).

Lin e Michener (1972) argumentam que o comportamento de “benfeitor” sem altruísmo, pode ocorrer se houver uma significativa contribuição na

produção de machos por operárias (um tipo de poliginia). Sempre que uma fêmea tenha a “esperança” de colocar ovos, sua participação nas tarefas da colônia pode ser considerada como um investimento em sua própria futura reprodução. Na maioria dos meliponíneos, há alguma percentagem de operárias que consegue colocar ovos, e em algumas espécies contribuindo significativamente à produção de machos, principalmente no gênero *Melipona*: *M. subnitida* (Contel & Kerr, 1976), *M. favosa* (Sommeijer, et al. 1999), *M. marginata*, *M. scutellaris* e *M. quadrifasciata* (Toth, et al. 2002). Um mesmo indivíduo pode produzir tanto ovos tróficos como reprodutivos (Koedam et al. 1999; Kukuk, 1992; Capítulo 4). Isto indicaria que há seleção para manter a produção de ovos tróficos em um indivíduo que pode produzir os dois tipos de ovos (Kukuk, 1992); também indicaria que os machos produzidos por operárias devem ter um alto êxito reprodutivo. Os ovos tróficos poderiam ter a função de “enganar” a rainha, mas uma proposta mais interessante é de West-Eberhard (1981, *apud*. Crespi, 1993) que propõe que a função dos ovos tróficos é de manter ativos os ovários das operárias. Isto estaria indicando que o papel dos ovos tróficos como principal fonte de nutrientes para a rainha (Sakagami, 1982), seria um subproduto criando uma interação cooperativa entre operária e rainha.

É assim pois, que em *M. bicolor*, as operárias melhor alimentadas (não há dados sobre diferenças genéticas) conseguem manter seus ovários ativados na esperança de reproduzir-se, recriando em cada POP com seus comportamentos ritualizados, a antiga guerra entre toda fêmea pelo privilégio de reproduzir-se.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Dra. Eda Flávia L.R. Patrício pela informação sobre processos de fixação e preservação de material orgânico e pela ajuda na dissecação e extração dos ovários das operárias. Agradecemos também ao Dr. Pérsio Souza Santos Filho pela ajuda com o tratamento estatístico dos dados e na interpretação dos resultados. Aos colegas Márcia de Ribeiro,

Sergio Dias Hilário e Felipe Contrera pelas sugestões e pela revisão do português. Este trabalho foi financiado pela FAPESP (Processo 99/00180-0).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARTZ, S.H. & HOLLOBLER, B. Colony founding in *Myrmecocystus mimicus* Wheeler (Hymenoptera: Formicidae) and the evolution of foundress associations. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v.10, p.137-147, 1982.
- BEGO, L.R. On some aspects of bionomics in *Melipona bicolor bicolor* Lepeletier (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v.27, n.3/4, p.211-224, 1983.
- BEIG, D. The production of males in queenright colonies of *Trigona (Scaptotrigona) postica*. **Journal of Apicultural Research**, v.11, p.33-39, 1972.
- BOLELI, I.C.; PAULINO-SIMÕES, Z.L. & BITONDI, M.M.G. Cell death in ovarioles causes permanent sterility in *Frieseomelitta varia* worker bees. **Journal of Morphology**, v. 242, p. 271-282, 1999.
- BOLELI, I.C.; PAULINO-SIMÕES, Z.L. & BITONDI, M.M.G. Regression of the lateral oviducts during the larval-adult transformation of the reproductive system of *Melipona quadrifasciata* and *Frieseomelitta varia*. **Journal of Morphology**, v. 243, p. 141-151, 2000.
- BOURKE, A.F.G. Worker reproduction in the higher eusocial hymenoptera. **Quaternary Review of Biology**, v.63, p.291-311, 1988.
- BUNING, J. **The insect ovary**. Chapman & Hall, London, 1994.
- BUTLER, C.G. & FAIREY, E.M. The role of the queen in preventing oogenesis in the worker honey bees. **Journal of Apicultural Research**, v.2, p.14-18, 1963.
- CONTEL, E.P.B. & KERR, W.E. Origin of males in *Melipona subnitida* estimated from data of an isozymic polymorphic system. **Genetica**, v.46, p.271-277, 1976.
- CRESPI, B.J. Cannibalism and trophic eggs in subsocial and eusocial insects. In: M.A. ELGAR & B.J.CRESPI (Eds), **Cannibalism, ecology and evolution among diverse taxa**. Oxford Science Publication, U.S.A., Cap. 9, p.176-213, 1992.
- EDWARDS, R. **Social wasps: their biology and control** Great Britain The Rentokil Library, 1980, p 201-206.
- FIGUEIRA, C.R.F. & MATHIAS, M.I.C. Histological, histochemical and morphometric study of female corpora allata of *Pachycondyla striata* ants Hymenoptera: Ponerinae). **Sociobiology**, v.39, n.1, p.77-87, 2002.
- GARÓFALO, C.A. Social structure of *Euglossa cordata* nests (Hymenoptera: Apidae: Euglossini). **Entomologia Generalis**, v.11, p.77-83, 1985.
- GREEN, S.B.; SALKIND, N.J. & AKEY, T.M. **Using SPSS for windows. Analyzing and understanding data**. 2nd Edition, Prentice Hall, New Jersey, 430pp, 2000.
- HARTFELDER, K. Insect juvenile hormone: from "status quo" to high society. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.33, n.2, p.157-177, 2000.

- HEINZE, J. Queen-queen interactions in polygynous ants. . In: LAURENT KELLER (Ed.) **Queen number and sociality in insects**. USA, Oxford Science Publications 1993, p.334-361. HOLLDOBLER, B. & WILSON, E.O. The Ants The Belknap Press of Harvard University Press USA 732 pp, 1990.
- JEANNE, R.L. The evolution of social behavior in the Vespidae. **Annual Review of Entomology**, v.25, p.371-396, 1980.
- KATZAV-GOZANSKY, T.; SOROKER, V.; FRANCKE, W. & HEFETZ, A. Honeybee egg laying workers mimic a queen signal. **Insectes Sociaux**, v.50, p.20-23, 2003.
- KERR, W.E. & NIELSEN, R.A. Evidences that genetically determined *Melipona* queens can become workers. **Genetics**, v.54, n.3, p.859-866, 1966.
- KOEDAM, D.; CONTRERA, F.A.L. & IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. Clustered male production by workers in the stingless bee *Melipona subnitida* Ducke (Apidae, Meliponinae). **Insectes Sociaux**, v.46, p.387-391, 1999.
- KROPÁČOVÁ, S. & HASLBACOVÁ, H. The influence of queenlessness and of unsealed brood on the development of ovaries in the worker honeybees. **Journal of Apicultural Research**, v.10, p.57-61, 1971.
- KUKUK, P.F. Cannibalism in social bees. In: M.A. ELGAR & B.J. CRESPI (Eds), **Cannibalism, ecology and evolution among diverse taxa**. Oxford Science Publication, U.S.A., Chap. 10, p.214-237, 1992.
- LE CONTE, Y.; ARNOLD, G.; TROUILLER, J. & MASSON, C. Identification of a brood pheromone in honey bees. **Naturwissenschaften**, v.77, p.334-336, 1990.
- LIN, N. & MICHENER, C.D. Evolution of society in insects. **Quarterly Review of Biology**, v.47, p.131-159, 1972.
- LIN, H.R.; WINSTON, M.L.; HAUNERLAND, N.H. & SLESSOR, K.N. Influence of age, and population size on ovarian development, and of trophallaxis on ovarian development and vitellogenin titers of queenless worker honey bee (Hymenoptera: Apidae). **Canadian Entomologist**, v.131, p.695-706, 1999.
- MATHIAS, M.I.C. & CAETANO, F.H. Corpora allata in females of *Neoponera villosa* ants (Hymenoptera Formicidae) – Relations with ovarian development. **Sociobiology**, v. 26, n.3, p.283-289, 1995.
- MICHENER, C.H. Classification of the Apidae. **University of Kansas Science Bulletin**, v.54, p.75-164, 1990.
- OSTER, G.F. & WILSON, E.O. **Caste and ecology in social insects**. Monographs in population biology-12. Ed. By R.M. May Princeton University Press Inc. USA, 1978, 352 pp.
- RATNIEKS, F.L.W. & VISSCHER, P.K. Worker policing in the honeybee. **Nature**, v. 342, p.796 – 797, 1989.
- ROSELER, P.F.; ROSELER, I. & STRAMBI, A. The activity of corpora allata in dominant and subordinate females of the wasp *Polistes gallicus*. **Insectes Sociaux**, v. 27, n.2, p.97-107, 1980.
- SAKAGAMI, S.F. Stingless bees. In: **Social insects Vol III**. H.R. Hermann (Ed.) Academic Press Inc. 1982, p.272-423.
- SAKAGAMI S.F. & ZUCCHI, R. Oviposition behavior of an Amazonic stingless bee *Trigona (Duckeola) ghilianii*. **Journal of the Faculty of Science of Hokkaido University Series VI, Zoology**, v.16, p.564-581, 1968.

- SAKAGAMI, S.F. & MAETA, Y. Multifemale nests and rudimentary castes in the normally solitary bee *Ceratina japonica*. **Journal of the Kansas Entomological Society**, v.57, p.639-656, 1985.
- SAKAGAMI, S.F. & ZUCCHI, R. Oviposition behavior of two dwarf stingless bees, *Hypotrigona (Leurotrigona) muelleri* and *Hypotrigona (Trigonisca) duckei*, with notes on the temporal articulation of oviposition process in stingless bees. **Journal of the Faculty of Science of Hokkaido University Series VI, Zoology**, v.19, p.361-421, 1974.
- SAKAGAMI, S.F.; BEIG, D.; ZUCCHI, R. & AKAHIRA, Y. Occurrence of ovary developed workers in queen right colonies of stingless bees. **Revista Brasileira de Biologia**, v.23, n.2, p.115-129, 1963.
- SAKAGAMI, S.F.; CAMILO, C.; & ZUCCHI, R. Oviposition behavior of a Brazilian stingless bee, *Plebeia (Friesella) schrottkyi*, with some remarks on the behavioral evolution in stingless bees. **Journal of the Faculty of Science of Hokkaido University Series VI, Zoology**, v.19, p.163-189, 1973.
- SANTANA, W.C. **Hormônio juvenil e ecdisteróides na vida adulta de machos, rainhas e operárias de *Melipona quadrifasciata* Lepeletier (Apidae, Meliponinae): Relação com a reprodução e divisão de trabalho**. Dissertação, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Brasil, 2002.
- SLEDGE, M.F.; BOSCARO, F. & TURILLAZZI, S. Cuticular hydrocarbons and reproductive status in the social wasp *Polystes dominulus*. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v.49, p.401-409, 2001.
- SOKAL, R.R. & ROHLF, F.J. **Biometry. The principles and practice of statistics in biological research**. 3rd Edition, W.H. Freeman and Company, New York, USA, 887p. 1997.
- SOMMIJER, M.J.; CHINH, T.X. & MEEUWSEN, F.J.A.J. Behavioral data on the production of males by workers in the stingless bee *Melipona favosa* (Apidae, Meliponinae). **Insectes Sociaux**, v.46, p.92-93, 1999.
- TERADA, Y. Estudos sobre a regulação social em colônias de *Hypotrigona* e *Friesomelitta*. **Ciência e Cultura**, v.12, p.289, 1970.
- TOTH, E.; STRASSMANN, J.E.; NOGUEIRA-NETO, P.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. & QUELLER, D.C. Male production in stingless bees: variable outcomes of queen-worker conflict. **Molecular Ecology**, v.11, p.2661-2667, 2002.
- VELTHUIS, H.H.W. Ovarian development in *Apis mellifera* worker bees. **Proceedings of the Section Experimental and Applied Entomology of the Netherlands Entomological Society**, v.13, p.377-394, 1970.
- VELTHUIS, H.H.W & GERLING, D. At the brink of sociality: interactions between adults of the carpenter bee *Xylocopa pubescens* Spinola. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v.12, p.209-214, 1983.
- VISSCHER, P.K. & DUKAS, R. Honey bees recognize development of nestmates' ovaries. **Animal Behaviour**, v.49, p.542-544, 1995.
- WEST-EBERHARD, M.J. Polygyny and the evolution of social behavior in wasps. **Journal of the Kansas Entomological Society**, v.51, n.4, p.832-856, 1978.
- WHEELER, D. The role of nourishment in oogenesis. **Annual Review of Entomology**, v.41, p.407-431, 1996.
- WINSTON, M.L. & SLESSOR, K.N. The essence of royalty: honey bee queen pheromone. **American Scientist**, v.80, p.374-385, 1992.

WOSSLER, T.C. & CREWE, R.M. Honeybee tergal gland secretion affects ovarian development in caged workers. **Apidologie**, v.30, p.311-320, 1999.

Denise de
Araujo Alves

CAPÍTULO 8

CONCLUSÕES GERAIS

Melipona bicolor: DO COLETIVO AO INDIVIDUAL

CAPÍTULO 8

CONCLUSÕES GERAIS

A principal característica das abelhas Meliponini é a alimentação maciça da cria, com alimento líquido. As células são utilizadas somente uma vez, e os processos de construção da mesma, provisão e oviposição da rainha são característicos para a espécie considerada.

Neste estudo, nos aprofundamos na análise do comportamento de rainhas e de operárias no processo de provisão e postura (POP) da abelha facultativamente poligínica *M. bicolor*. Inicialmente avaliamos o comportamento geral das abelhas em colônias monogínicas e poligínicas; depois, tratamos de operárias e rainhas individualmente. Conseguimos detectar padrões comuns aos dois tipos de colônias, e algumas diferenças causadas por mudanças no número de rainhas. O exílio natural de uma das rainhas na colônia poligínica permitiu-nos explorar mais a influência do número de rainhas no POP.

O padrão principal do POP em *M. bicolor* é igual ao de todas as espécies de *Melipona*: não importa o número de rainhas presentes, sempre se concentram os estímulos no provisão de uma célula por vez (embora ocasionalmente ocorram dois POP simultâneos). Esta é uma observação simples, mas importante porque é o primeiro passo para situações de conflito entre as rainhas.

O esforço conjunto de duas ou mais rainhas produz um aumento significativo na taxa geral de postura, mas com uma contribuição menor por cada rainha. Várias rainhas atraem um número maior de operárias que, estimuladas pela necessidade de ovipositar das rainhas, provisionam com rapidez, até em células sem colar. Este último feito obriga ao investimento de maiores esforços para o fechamento de células, representados por um número maior de operculadoras. Estas observações nos levam a concluir que poliginia

está relacionada com benefícios demográficos, como demonstrado para outros insetos sociais (e.g. Wilson, 1974; Roisin & Pateels, 1985; Packer, 1993; Peeters, 1993).

Neste caso, por que a poliginia não é encontrada em um maior número de meliponíneos, ou em mais abelhas do gênero *Melipona*? Sua ausência parece indicar que sofreu uma seleção contrária, mas em *M. bicolor* parece ser um caráter plesiomórfico, provavelmente favorecido por condições ecológicas estáveis, representando uma estratégia reprodutiva evolutivamente estável (EES) (Herbers, 1993). Se a poliginia está relacionada com demografia, pode ser que sua aparição em colônias de outras espécies de meliponíneos seja um fenômeno fugaz, não detectado nos estudos realizados até agora. Ou seja, é mais comum do que parece, mas circunscrita a condições muito específicas.

Já com relação aos mecanismos proximais que regulam o número de rainhas, há numerosos estudos, empíricos e teóricos a este respeito (e.g. Wilson, 1963; Fletcher & Blumm, 1983; Elmes & Keller, 1993; Reeve & Ratnieks, 1993; Velthuis *et al.*, 2001). Em nossa pesquisa, conseguimos perceber que embora não existam contatos violentos entre as rainhas (Bego, 1989), há uma grande pressão entre elas na competição pela oviposição. Esta corrida entre rainhas pela reprodução ocorre em detrimento da quantidade de ovos tróficos que podem receber e consumir. Comparando colônia poligínica com monogínica, os POPs na colônia poligínica são significativamente mais curtos, devido principalmente à fase de pós-aprovisionamento, período durante o qual os ovos tróficos são botados pelas operárias. O estudo desta fase na colônia monogínica nos permitiu confirmar quão importante é o consumo de ovos tróficos para as rainhas (Sakagami, 1982; Velthuis *et al.*, 2001; 2003). O estudo da fase de pós-aprovisionamento nos permitiu ver que uma rainha sozinha modula a duração desta fase em função ao número de ovos tróficos recebidos nos POP anteriores. Na condição poligínica, a prioridade das rainhas era a de colocar seus ovos em prejuízo de sua própria nutrição, levando ao estabelecimento de hierarquias ou *skews* reprodutivos (Velthuis *et al.*, 2001) e ao abandono das funções reprodutivas das competidoras. Na literatura se mencionam os “incentivos de permanência” (*staying incentives*) em termos de quantidade de ovos que a rainha dominante “permite” que as rainhas subordinadas coloquem (Reeve & Ratnieks, 1993). Embora este não seja totalmente nosso caso, já que a poliginia foi induzida, e as rainhas

teriam igual probabilidade de consumir ovos tróficos ou de colocar seus próprios ovos (Velthuis *et al.*, 2001), percebemos que, com o exílio das rainhas mais fracas, a rainha dominante usou os “incentivos” como se previu na teoria. As hierarquias reprodutivas puderam ser detectadas no ritual de monopolizar a célula no momento da postura, embora não esteja totalmente esclarecida a função de tal comportamento.

Mas as operárias também têm um papel indireto, mas importante, na regulação do número de rainhas. Postula-se que o crescimento populacional de uma colônia seja limitado pelo número de operárias e não de rainhas (Wilson, 1974). Propomos um efeito combinado entre rainhas e operárias. Velthuis e col. (2001) em *M. bicolor*, propõem um mecanismo regulador da ingestão de ovos tróficos pelas rainhas, controlado indiretamente pelas operárias através da taxa de construção de células. Ao aumentar o número de rainhas, aumenta a demanda de células. Esta oferta, ao ser limitada, aumenta a probabilidade de encontro das rainhas em um POP, e por conseguinte também diminui a probabilidade de receber ovos tróficos. Nos não analisamos a construção das células pelas operárias, mas obtivemos resultados que apoiam nossas observações. A oferta e demanda de células, que depende do número de operárias construtoras, pode representar o mecanismo que auto-regularia o número de rainhas, uma vez que a taxa demográfica chegasse a seu ótimo. Assim, integrando os nossos resultados, complementados por revisões bibliográficas, chegamos ao seguinte diagrama de fluxo, proposto a nível colonial:

Quando passamos a analisar o comportamento individual das operárias em *M. bicolor*, a primeira conclusão é que há uma grande variabilidade no grau de interesse que cada indivíduo pode apresentar no POP. Este interesse é determinado pelo grau de desenvolvimento ovariano, sendo que as operárias poedeiras de ovos tróficos são as que, individualmente, mais contribuem ao POP, já as operárias reprodutivas representam fêmeas extremamente ligadas ao POP, refletindo grande afã por reproduzir-se. Assim é que, também entre as operárias, encontramos um paralelismo com o visto com as rainhas da colônia poligínica. A variação no desenvolvimento ovariano tem sido encontrada em numerosos himenópteros sociais (e.g. Velthuis, 1970; West-Eberhard, 1978; Bego, 1983).

O grau de desenvolvimento ovariano pode representar o mecanismo proximal interno governado por mudanças hormonais (Santana, 2002). Estes

hormônios têm um período de produção ligados a processos etários e refletidos em longos períodos de maturação para a produção dos primeiros ovos, seguidos por períodos mais curtos, nos casos de posturas múltiplas. Quando a tecnologia o permitir, seria muito interessante poder testar as mudanças hormonais que ocorrem a nível individual em *M. bicolor*. As correlações dos comportamentos básicos com relação à idade estão na realidade sujeitos à proximidade da maturação do ovo e, por isso, apresentam esta natureza etária. A quantidade de alimento consumido também influi na oogênese (Wheeler, 1996). Cada operária apresenta diferenças na capacidade para se alimentar, refletidas em seus pesos: indivíduos mais pesados (e provavelmente também maiores) conseguem desenvolver mais seus ovários, como acontece nos himenópteros cujas castas morfológicas estão menos claramente definidas.

Os coeficientes de correlação significativos do nível de atividade com desenvolvimento ovariano só vão até 0,59. Isto demonstra que há complexas relações de “*feedback*” entre peso, desenvolvimento ovariano, níveis hormonais, interações sociais e possivelmente até capacidade de aprendizagem. Os mecanismos internos como os limiares de resposta (Theraulaz *et al.*, 1991; O'Donnell, 1998; Robson & Traniello, 1999), interligam-se com aqueles mecanismos externos relacionados com auto-reforço por repetição (Theraulaz *et al.*, 1991; 1998), e com as conseqüências das interações sociais (Huang & Robinson, 1999), que podem tanto estimular uma operária para determinada atividade, como afastá-la da mesma.

O auto-reforço por repetição pode produzir a especialização das operárias nos comportamentos básicos (Beshers & Fewell, 2001), porém esta especialização também parece estar ligada ao desenvolvimento ovariano. O estudo de um grupo destas especialistas no grupo das primeiras aprovisionadoras demonstrou que estas operárias apresentam um repertório comportamental próprio, relacionado principalmente com chamar a atenção da rainha e dirigí-la a uma célula pronta, sendo, portanto, importante para estimular a rainha em termos comportamentais, desencadeando os comportamentos preliminares à primeira regurgitação (Sommeijer & Bruijn, 1984; Darakjian, 1991). Elas podem ser indivíduos-chave (Robson & Traniello, 1999) necessários para iniciar o POP; mas, para verificar

isto, seria interessante remover as especialistas e observar o efeito de sua ausência no POP.

As provisionadoras de alimento larval podem ter um papel mais interessante que simplesmente encher uma célula? Na determinação de castas, é reconhecida a influência da quantidade ou qualidade de alimento consumido pela larva, que atua como fator determinante (e.g. Kerr & Nielsen, 1966; Engels & Imperatriz-Fonseca, 1990; Velthuis e Sommeijer, 1991). Já que são as operárias as responsáveis pela administração da quantidade ou da qualidade do alimento, é possível que também sejam responsáveis pela determinação de castas, como também existe uma probabilidade que, entre estas provisionadoras, existam indivíduos que prefiram criar irmãs rainhas ao invés de irmãs operárias. Esta poderia ser outra opção para a operária, seja poedeira de ovos ou não, promover mais diretamente em seu próprio *fitness*. Esta pergunta fica por enquanto sem resposta, até que seja estabelecida a presença ou ausência de secreções glandulares nutritivas no alimento larval, junto com o desenvolvimento de técnicas para examinar e acompanhar adequadamente as operárias provisionadoras de alimento larval.

Nossos resultados também nos permitem discutir sobre o significado das operárias terem retido sua capacidade reprodutiva. West-Eberhard (1981, *apud*. Crespi, 1993) propõe que a função dos ovos tróficos é de manter ativos os ovários das operárias, e é interessante o fato que um mesmo indivíduo possa produzir tanto ovos tróficos como reprodutivos (Koedam *et al.* 1999; Kukuk, 1992). Isto estaria indicando que o papel dos ovos tróficos como principal fonte de nutrientes para a rainha (Sakagami, 1982; Velthuis *et al.* 2001) seria um subproduto, criando uma interação cooperativa entre operária e rainha. Por isso seria muito interessante definir se o ovo trófico é em realidade um ovo especializado para a reprodução da rainha (Velthuis *et al.* 2003), ou se, ao menos em *M. bicolor*, é realmente um pacote de enzimas atuando sobre um ovo reprodutivo velho. Também podemos inferir que há seleção para manter a produção de ovos (Kukuk, 1992) e que os machos produzidos por operárias devem ter um alto êxito reprodutivo.

O consumo de um ovo, não importa sua natureza, representa um benefício direto a nível alimentar, mas também se converte em um eficiente mecanismo de controle e de dominância.(e.g. West-Eberhard, 1978; Jeanne, 1980; Bartz & Hölldobler, 1982; Heinze, 1993). Este controle da rainha continua evoluindo, pois em abelhas eussociais, ainda permanece o antigo conflito entre fêmeas pela reprodução, embora limitado à produção de machos (e.g. Contel & Kerr, 1976; Sommeijer, *et al.* 1999; Toth, *et al.* 2002). O conflito já foi superado em alguns grupos, onde as operárias são totalmente estéreis (gêneros *Trigonisca* [Sakagami & Zucchi, 1974], *Tetragonula* [Sakagami & Inoue, 1990 *apud* Crespi, 1992], *Frieseomelitta* [Sakagami & Zucchi, 1968] e *Duckeola* [Terada 1970]). Porém, a presença de operárias reprodutivas estaria representando o outro extremo neste espectro, reforçando a hipótese de Michener (1990) sobre o nível basal do gênero *Melipona*.

Em nosso estudo vemos, pois, que TODAS as fêmeas continuam tendo a “esperança” de colocar ovos (Lin e Michener, 1972), e é através de uma melhor alimentação (e provavelmente por diferenças genéticas) que conseguem manter seus ovários ativados. Para concluir, vemos que tudo gira ao redor da produção de ovos: a sociobiologia demonstra que o comportamento social dos animais, serve principalmente para promover a sobrevivência dos genes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARTZ, S.H. & HOLLODBLER, B. Colony founding in *Myrmecocystus mimicus* Wheeler (Hymenoptera: Formicidae) and the evolution of foundress associations. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v.10, p.137-147, 1982.
- BEGO, L.R. On some aspects of bionomics in *Melipona bicolor bicolor* Lepeletier (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v.27, n.3/4, p.211-224, 1983.
- BEGO, L.R. Behavioral interactions among queens of the polygynous stingless bee *Melipona bicolor bicolor* Lepeletier (Hymenoptera : Apidae). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.22, p.587-596, 1989.
- BESHERS, S.N. & FEWELL, H.J. Models of division of labor in insect societies. **Annual Review of Entomology**, v.46, p.413-430, 2001.

- CONTEL, E.P.B. & KERR, W.E. Origin of males in *Melipona subnitida* estimated from data of an isozymic polymorphic system. **Genetica**, v.46, p.271-277, 1976.
- CRESPI, B.J. Cannibalism and trophic eggs in subsocial and eusocial insects. In: M.A. ELGAR & B.J.CRESPI (Eds), **Cannibalism, ecology and evolution among diverse taxa**. Oxford Science Publication, U.S.A., Cap. 9, p.176-213, 1992.
- DARAKJIAN, P. **Aspectos da variabilidade do comportamento de postura nas células em *Melipona quadrifasciata***. Dissertação, Instituto de Biociências - USP, 1991.
- ELMES, G.W. & KELLER, L. Distribution and ecology of queen number in ants of the genus *Myrmica*. In: LAURENT KELLER (Ed.) **Queen number and sociality in insects**. USA, Oxford Science Publications 1993, p.294-307.
- ENGELS, W. & IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. Caste development, reproductive strategies, and control of fertility in honey bees and stingless bees. In: W. ENGELS (Ed) **Social Insects: An evolutionary approach to castes and reproduction** Berlin: Springer Verlag, 1990, p.265.
- FLETCHER, D.J.C. & BLUM, M.S. Regulation of queen number by workers in colonies of social insects. **Science**, 219:312-314, 1983.
- HEINZE, J. Queen-queen interactions in polygynous ants. In: LAURENT KELLER (Ed.) **Queen number and sociality in insects**. USA, Oxford Science Publications 1993, p.334-361.
- HERBERS, J.M. Ecological determinants of queen number in ants. In: LAURENT KELLER (Ed.) **Queen number and sociality in insects**. USA, Oxford Science Publications 1993, p.262-293.
- HUANG, Z.Y. & ROBINSON, G.E. Social control of division of labor in honeybee colonies. In: DETRAIN, C.; DENEUBOURG, J. & PASTEELS, J.M. (Eds). **Information processing in social insects**. Basel, Boston, Berlin: Birkhauser Verlag, 1999, p.165-186.
- JEANNE, R.L. The evolution of social behavior in the Vespidae. **Annual Review of Entomology**, v.25, p.371-396, 1980.
- KERR, W.E. & NIELSEN, R.A. Evidences that genetically determined *Melipona* queens can become workers. **Genetics**, v.54, n.3, p.859-866, 1966.
- KOEDAM, D.; CONTRERA, F.A.L. & IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. Clustered male production by workers in the stingless bee *Melipona subnitida* Ducke (Apidae, Meliponinae). **Insectes Sociaux**, v.46, p.387-391, 1999.
- KUKUK, P.F. Cannibalism in social bees. In: M.A. ELGAR & B.J.CRESPI (Eds), **Cannibalism, ecology and evolution among diverse taxa**. Oxford Science Publication, U.S.A., Chap. 10, p.214-237, 1992.
- LIN, N. & MICHENER, C.D. Evolution of society in insects. **Quarterly Review of Biology**, v.47, p.131-159, 1972.
- MICHENER, C.H. Classification of the Apidae. **University of Kansas Science Bulletin**, v.54, p.75-164, 1990.
- O'DONNELL, S. Effects of experimental forager removals on division of labor in the primitively eusocial wasp *Polistes instabilis* (Hymenoptera, Vespidae). **Behaviour**, v.135, p.174-193, 1998.

- PACKER, L. Multiple-foundress associations in sweat bees. In: LAURENT KELLER (Ed.) **Queen number and sociality in insects**. USA, Oxford Science Publications 1993, p.215-233.
- PEETERS, C. Monogyny and polygyny in ponerine ants with or without queens. In: LAURENT KELLER (Ed.) **Queen number and sociality in insects**. USA, Oxford Science Publications 1993, p.234-261.
- REEVE, H.K. & RATNIEKS, L.W. Queen-queen conflicts in polygynous societies. In: LAURENT KELLER (Ed.) **Queen number and sociality in insects**. USA, Oxford Science Publications, 1993, p.45-85.
- ROBSON, S.K. & TRANIELLO, J.F.A. Key individuals and the organization of labor in ants. In: DETRAIN, C.; DENEUBOURG, J. & PASTEELS, J.M. (Eds). **Information processing in social insects**. Basel, Boston, Berlin: Birkhauser Verlag, 1999, p.239-260.
- ROISIN, Y. & PASTEELS J.M. Imaginal polymorphism and polygyny in the neoguinian termite *Nasutitermis princeps* (Desneux). **Insectes Sociaux**, v.32, n.2, p.140-157, 1985
- SAKAGAMI, S.F. Stingless bees In: **Social insects Vol III**. H.R. Hermann (Ed.), Academic Press Inc. 1982, p.272-423.
- SAKAGAMI, S.F. & ZUCCHI, R. Oviposition behavior of an Amazonic stingless bee, *Trigona (Duckeola) ghilianii*. **Journal of the Faculty of Science, Hokkaido University, Series VI, Zoology**, v.16, p.564-581, 1968.
- SAKAGAMI, S.F. & ZUCCHI, R. Oviposition behavior of two dwarf stingless bees, *Hypotrigona (Leurotrigona) muelleri* and *Hypotrigona (Trigonisca) duckei*, with notes on the temporal articulation of oviposition process in stingless bees. **Journal of the Faculty of Science of Hokkaido University Series VI, Zoology**, v.19, p.361-421, 1974.
- SANTANA, W.C. **Hormônio juvenil e ecdisteróides na vida adulta de machos, rainhas e operárias de *Melipona quadrifasciata* Lepeletier (Apidae, Meliponinae): Relação com a reprodução e divisão de trabalho**. Dissertação, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Brasil, 2002.
- SOMMEIJER, M.J. & BRUIJN, L.L.M. Social behavior of stingless bees: "bee-dances" by workers of the royal court and the rhythmicity of brood cell provisioning and oviposition behavior. **Behaviour**, v.89, p.299-315, 1984.
- SOMMEIJER, M.J.; CHINH, T.X. & MEEUWSEN, F.J.A.J. Behavioral data on the production of males by workers in the stingless bee *Melipona favosa* (Apidae, Meliponinae). **Insectes Sociaux**, v.46, p.92-93, 1999.
- TERADA, Y. Estudos sobre a regulação social em colônias de *Hypotrigona* e *Frieseomelitta*. **Ciência e Cultura**, v.12, p.289, 1970.
- THERAULAZ, G.; GERVET, J. & SEMENOFF, S. Social regulation of forage activities in *Polistes dominilus* Christ: a systemic approach to behavioral organization. **Behaviour**, v.116, p.292-320, 1991.
- THERALAUZ, G.; BONABEAU, E. & DENEUBOURG, J.L. Response threshold reinforcement and division of labor in insect societies. **Proceedings of the Royal Society of London**, v.265, p.327,332, 1998.

- TOTH, E.; STRASSMANN, J.E.; NOGUEIRA-NETO, P.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. & QUELLER, D.C. Male production in stingless bees: variable outcomes of queen-worker conflict. **Molecular Ecology**, v.11, p.2661-2667, 2002.
- VELTHUIS, H.H.W. Ovarian development in *Apis mellifera* worker bees. **Proceedings of the Section Experimental and Applied Entomology of the Netherlands Entomological Society**, v.13, p.377-394, 1970.
- VELTHUIS, H.H.W.; M.J. SOMMEIJER, M.J. Roles of Morphogenetic hormones in caste polymorphism in stingless bees In: A.P. GUPTA (Ed.) **Morphogenetic hormones of arthropodes** New Jersey: Rutgers University Press, 1991, p. 346-383.
- VELTHUIS, H.H.W.; A. ROELING, A. & IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. Repartition of reproduction among queens in the polygynous stingless bee *Melipona bicolor*. **Proceedings of the Section Experimental and Applied Entomology of the Netherlands Entomological Society (NEV)**. v.12, p.45-49, 2001.
- VELTHUIS, H.H.W.; PEREBOOM, Z.; KOEDAM, D. & IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. Cooperation and competition in a colony of the polygynous stingless bee *Melipona bicolor*, illustrated by the two kinds of worker eggs and the behaviors of workers laying them. **Proceedings of the Section Experimental and Applied Entomology of the Netherlands Entomological Society (NEV)**, v.14, p.49-52, 2003.
- WEST-EBERHARD, M.J. Polygyny and the evolution of social behavior in wasps. **Journal of the Kansas Entomological Society**, v.51, n.4, p.832-856, 1978.
- WHEELER, D. The role of nourishment in oogenesis. **Annual Review of Entomology**, v.41, p.407-431, 1996.
- WILSON, E. O. Social modifications related to rareness in ant species. **Evolution**, v.17, p.249-253, 1963.
- WILSON, E.O. The population consequences of polygyny in the ant *Leptothorax curvispinosus*. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 67, n.5, p.781-786, 1974.