

Expressão de genes em abelhas com comportamentos parasíticos

Paulo Cseri Ricardo



USP

São Paulo

2023

Capa: Fêmea de *Coelioxoides waltheriae*. Adaptado de: Engel MS, Gonzalez V, Rasmussen C. 2020. An overlooked family-group name among bees: Availability of Coelioxoidini (Hymenoptera: Apidae). *J Melittology*:1–3. doi: 10.17161/jom.vi94.13385

Paulo Cseri Ricardo

Expressão de genes em abelhas com
comportamentos parasíticos

Gene expression in bees with parasitic
behaviors

São Paulo

2023

Paulo Cseri Ricardo

Expressão de genes em abelhas com
comportamentos parasíticos

Gene expression in bees with parasitic
behaviors

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

Orientadora: Dra. Maria Cristina
Arias

Coorientadora: Dra. Natália de Souza
Araujo

São Paulo

2023

Ficha catalográfica elaborada pelo Serviço de Biblioteca do Instituto de Biociências da USP,
com os dados fornecidos pelo (a) autor (a) no formulário:
'<https://biblioteca.ib.usp.br/ficha-catalografica/src/ficha.php>'

Paulo Cseri, Ricardo

Expressão de genes em abelhas com comportamentos
parasíticos / Paulo Cseri Ricardo ; orientadora
Maria Cristina Arias ; coorientadora Natália de
Souza Araujo -- São Paulo, 2023.

125 p.

Tese (Doutorado) -- Instituto de Biociências da
Universidade de São Paulo. Programa de Pós-Graduação
em Ciências Biológicas (Biologia Genética).

1. Abelhas parasitas. 2. Cleptoparasitismo. 3.
Cleptobiose. 4. Transcriptômica comparativa. I.
Arias, Maria Cristina, orient. II. Araujo, Natália
de Souza, coorient. Título.

Bibliotecária responsável pela catalogação:
Elisabete da Cruz Neves - CRB - 8/6228

A todos que me acompanharam nesta jornada,
apoiando e encorajando-me, inclusive e
principalmente nos momentos mais difíceis.

Eines habe ich in einem langen Leben gelernt, nämlich, dass unsere ganze Wissenschaft, an den Dingen gemessen, von kindlicher Primitivität ist—und doch ist es das Köstlichste, was wir haben.

Uma coisa que aprendi em uma longa vida é que toda a nossa ciência, em comparação às coisas ou fatos, é de uma primitividade infantil—e, no entanto, é o mais precioso que temos.

Albert Einstein
(Carta para Hans Mühsam, datada de 9 de julho de 1951.)

Agradecimentos

Primeiramente gostaria de expressar minha profunda gratidão às minhas orientadoras, Cris e Natália, que ofereceram todo o suporte possível para o desenvolvimento deste trabalho de doutorado. Sem a orientação, o auxílio e incentivo delas, eu não teria condições para concluir este trabalho.

Não posso deixar de agradecer aos meus pais, cujo apoio e encorajamento incondicionais foram fundamentais, especialmente nos momentos de maior dificuldade. Eles nunca descreditaram do meu potencial, e sempre deram seu melhor para me ajudar a alcançar meus objetivos.

Também gostaria de agradecer imensamente à Nathalie, minha companheira, cujo apoio inabalável e incentivo me ajudaram a superar as adversidades e seguir em frente na minha jornada acadêmica, mesmo que isso tenha significado compartilhar momentos de dificuldade, angústia e ansiedade. Seu amor e carinho foram fundamentais para a conclusão de mais essa etapa.

Aos membros do LGEA, recentes e de longa data, que compartilharam, presencialmente e virtualmente, muitos momentos alegres e complicados ao longo dessa jornada, além das várias discussões científicas e cotidianas. Gostaria de expressar minha gratidão a todos, em especial à Priscila, Susy, Larissa Nunes, Larissa Cont, Felipe, Eduardo e Elaine. Cada um teve uma contribuição, mesmo que inconsciente, para que eu seguisse em frente. Também agradeço ao Thiago, que é praticamente um membro do nosso laboratório, e me ajudou sempre, mas em especial nos momentos em que todos estavam em regime remoto.

Agradeço também ao pessoal do BeeLab, especialmente a Prof. Isa, que proporcionou a possibilidade de desenvolvermos esse trabalho, abrindo as portas do BeeLab para nós, além é claro da Sheina e do Sérgio, que sempre estiveram dispostos a ajudar como fosse preciso, sendo a Sheina a responsável por me ensinar a marcar e coletar as espécies de abelhas sem ferrão.

Aos meus amigos que carrego desde a graduação, Ana Rúbia, Fábio, Felipe, Livia, Lais, Mayara, Pamela e especialmente ao Vinícius, com quem tive várias conversas importantes de troca de experiências, e que me ajudaram a superar momentos difíceis, gostaria de agradecer por tudo. Vocês sempre estiveram comigo, emanando desejos de sucesso independente do canto do mundo onde estejam.

Também agradeço aos meus companheiros de apartamento Andre, Bruna e Rafael, com quem compartilhei, ao menos até o início do período pandêmico (e um pouco ao longo da pandemia), o convívio diário, com vários momentos descontraídos e discussões sobre diversos aspectos da vida. Sou muito grato pela possibilidade de ter dividido esses momentos com vocês. Espero que cada um tenha muito sucesso em seus caminhos.

Por fim, agradeço às agências CAPES, pela concessão da bolsa de doutorado (Proc. 1783961 e 88882.377416/2019-01), e FAPESP, pelo suporte financeiro para a realização desta pesquisa (Proc. 2013/12530-4, 2016/24669-5, 2019/23186-9 e 2022/09046-2). Sem esse suporte este trabalho não teria condições de ser concretizado. Ainda, gostaria de agradecer, de um modo geral, a todas as pessoas que participam das organizações que financiam o desenvolvimento da ciência em nosso país, pois contribuem de uma forma importante para nosso desenvolvimento como nação.

Índice

Introdução Geral	9
Aspectos gerais sobre o parasitismo	9
Parasitismo em Hymenoptera	11
Abelhas e o comportamento parasítico	15
Abelhas parasitas sociais.....	17
Abelhas cleptoparasitas.....	18
Cleptobiose em abelhas.....	21
Justificativa	24
Referências.....	25
Discussão Geral e Conclusões	33
Referências.....	34
Resumo	35
Abstract.....	36

Introdução Geral

Aspectos gerais sobre o parasitismo

O parasitismo é uma interação ecológica que ocorre entre organismos de diferentes espécies, onde um deles, o parasita, se beneficia à custa de outro organismo, o hospedeiro (Schmidt e Roberts 2009; Phillips 2012). Esse tipo de interação é considerado uma forma de simbiose, uma vez que envolve a associação íntima entre as duas espécies, pelo menos durante um dos estágios da vida dos organismos envolvidos (Parmentier e Michel 2013). Os organismos e as interações parasíticas apresentam grande relevância médica e econômica, uma vez que essa interação não é harmoniosa, acarretando danos ou prejuízos ao hospedeiro. Por exemplo, várias patologias estão associadas a infecções parasitárias em diversos organismos, inclusive nos seres humanos, e figuram como uma das principais causas de mortes (Crompton 1999; Engels et al. 2002; de Silva et al. 2003). Ainda, existem parasitas que atacam animais e plantas economicamente relevantes, causando diminuição na produtividade e consequentes impactos econômicos (Steelman 1976; Corwin 1997; Chitwood 2003). Não obstante, espécies parasitas também desempenham um importante papel na dinâmica de populações naturais, afetando, por exemplo a suscetibilidade de seus hospedeiros à predação, modificando padrões de reprodução, e levando a alterações na abundância de espécies endêmicas e introduzidas (Dobson e Hudson 1986; McCallum e Dobson 1995; Lefèvre et al. 2009).

Existem estratégias distintas dentro do parasitismo e diferentes denominações são aplicadas para classificá-las. As mais simples delas incluem divisões dicotômicas, como por exemplo a classificação entre endoparasitas, que são parasitas confinados dentro do organismo dos hospedeiros, e os ectoparasitas, que são espécies parasíticas

que vivem no exterior do corpo do organismo (Bush et al. 2001). Outra divisão dicotômica muito utilizada é a divisão entre parasitas obrigatórios e parasitas facultativos. Os parasitas obrigatórios são organismos que não conseguem completar seu ciclo de vida na ausência de pelo menos um período de relacionamento parasita, enquanto os facultativos utilizam dessa estratégia oportunamente (Schmidt e Roberts 2009). Para além dessas classificações dicotômicas, existem várias definições que levam em consideração outros aspectos da biologia dos organismos parasitas, como, por exemplo o parasitoidismo, onde a larva do parasita se desenvolve dentro de seu hospedeiro, extraíndo nutrientes até emergir como um adulto de vida livre, o que resulta na morte do hospedeiro como consequência direta ou indireta do seu desenvolvimento (Eggleton e Gaston 1990; Labandeira e Li 2021).

A transição de um modo de vida não parasítico para o parasitismo evoluiu independentemente em vários grupos de organismos (Blaxter et al. 1998; Phillips 2002; Poulin 2011), sendo que esse tipo de relacionamento é considerado um dos modos de vida mais comuns no planeta (Windsor 1998; Dobson et al. 2008; Poulin 2014). Além disso, esse tipo de interação provavelmente é antigo na história evolutiva. Registros fósseis datados do Paleozoico sugerem que alguns gastrópodes já apresentavam comportamento parasítico (Leung 2017). Não obstante, é possível que relações parasíticas já ocorressem em espécies de procariontes e eucariontes unicelulares no Pré-Cambriano, embora não haja evidências fósseis que corroborem essa hipótese até o momento (De Baets e Littlewood 2015).

Dentre os animais, estimativas conservadoras sugerem que o parasitismo tenha evoluído ao menos 223 vezes em 15 filos diferentes (Weinstein e Kuris 2016). Estima-se que um terço das espécies descritas é parasita (de Meeûs e Renaud 2002), sendo a maioria invertebrados (Phillips 2012). Em especial, destaca-se o Arthropoda,

onde praticamente todos os tipos conhecidos de parasitismo são observados (Schmidt e Roberts 2009). Dentro dos artrópodes, a ordem Hymenoptera é uma das mais diversas, tanto em relação às estratégias, quanto em número de espécies parasitas (Pennacchio e Strand 2006).

Parasitismo em Hymenoptera

A ordem Hymenoptera é composta por duas subordens: Symphyta que é um grupo parafilético que agrega membros mais ancestrais (como, por exemplo, as superfamílias Tenthredinoidea, Megalodontoidea e Orussoidea); e Apocrita, um grupo monofilético que contém mais de 95% das espécies de himenópteros (Pennacchio e Strand 2006). Estima-se que os primeiros himenópteros surgiram há aproximadamente 220 milhões de anos, e que o parasitismo dentro dessa ordem tenha surgido por volta de 160 milhões de anos atrás, com o ancestral comum de Orussoidea+Apocrita (Figura 1) (Rasnitsyn 1988; Whitfield 1998).

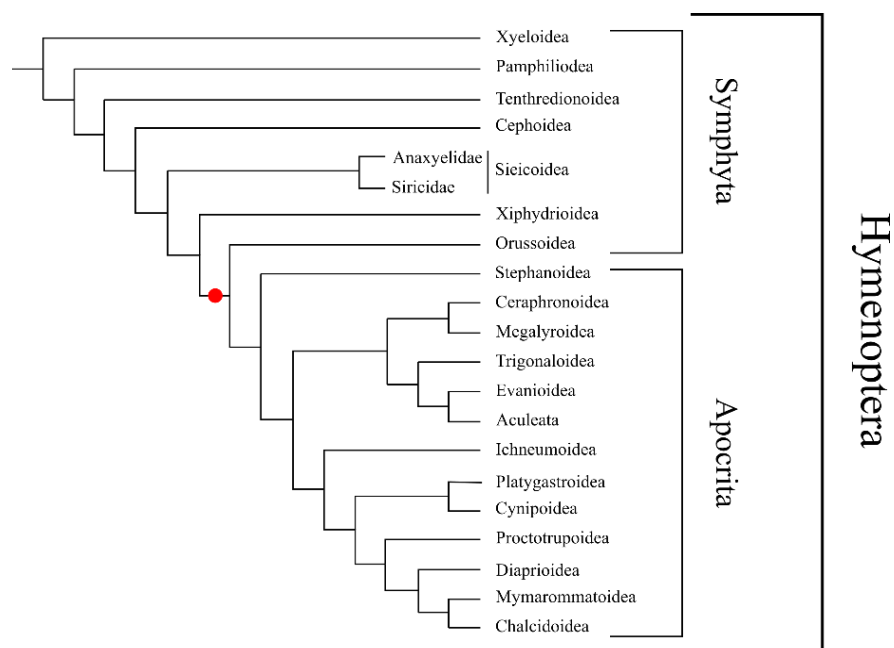


Figura 1. Filogenia simplificada das superfamílias de Hymenoptera adaptada de Sharkey et al. (2012). O ponto vermelho representa o posicionamento filogenético do ancestral comum que deu origem ao parasitismo em Orussoidea+Apocrita.

Dentro de Apocrita, que inclui as abelhas, formigas e vespas, mais de 75% das espécies apresentam comportamento parasítico, sendo a maioria delas parasitóides (Pennacchio e Strand 2006; Santos e Quicke 2011). Não obstante, existem outras estratégias de parasitismo observadas em himenópteros que não envolvem a exploração do corpo do hospedeiro. Um ponto crítico em relação a essas estratégias de parasitismo é a terminologia empregada, pois apresenta algumas ambiguidades que podem interferir na distinção desses comportamentos. Por exemplo, o termo parasitismo social pode receber diferentes conotações na literatura. Uma definição mais ampla, que aqui designaremos como parasitismo social *latu senso*, envolve o conceito de um parasita se incorporar ao sistema social de um hospedeiro e explorá-lo sem ser detectado (Schmid-Hempel 1998; Huang e Dornhaus 2008). Em teoria, essa definição de parasitismo social *latu senso* compreende a maioria das estratégias parasitas em Hymenoptera. No entanto, cada uma apresenta especificidades importantes. Sendo assim, a seguir é apresentada uma descrição dos diferentes tipos de parasitismo em espécies de himenópteros e sua respectiva terminologia.

Além da aceção mais ampla do parasitismo social (*latu senso*), existe uma estratégia específica que recorrentemente também é denominada como parasitismo social, ou ainda parasitismo permanente, que aqui designaremos como parasitismo social *stricto sensu*. Este é um comportamento observado em espécies com comportamento social, onde o parasita entra no ninho de outra espécie e utiliza a força de trabalho das operárias hospedeiras para cuidar de sua prole, tornando-se inteiramente dependente dos hospedeiros para completar seu ciclo de vida (Cervo 2006; Michener 2007; Buschinger 2009; Lhomme e Hines 2018). Frequentemente o parasita não produz nenhuma operária, investindo principalmente na geração de machos e fêmeas reprodutivas (Talbot 1976; Ward 1996; Cini et al. 2019). Alguns

autores sugerem a utilização do termo inquilinismo para designar esse comportamento (Wilson 1971; Breed et al. 2012). No entanto, esse termo também é utilizado para determinar outra forma de simbiose, o comensalismo, que no contexto do inquilinismo, ocorre quando o simbiote convive no refúgio (por exemplo, no ninho) ou no próprio corpo do hospedeiro, sem resultar necessariamente em prejuízo para o hospedeiro (discutido em Parmentier e Michel 2013). O termo parasitismo temporário, é utilizado quando o parasita invade uma colônia hospedeira e mata ou esteriliza sua rainha. Assim como nos casos mais extremos do parasitismo social *stricto sensu*, após a invasão as operárias hospedeiras remanescentes cuidam de prole da rainha parasita (Bourke e Franks 1991). No entanto, como o nome sugere, não existe uma dependência permanente da espécie parasita em relação à espécie hospedeira, uma vez que nessa estratégia a rainha parasita produz suas próprias operárias, que substituem as operárias hospedeiras à medida que essas perecem pela idade (Hölldobler e Wilson 1990). Ou seja, nessa relação o parasita depende de seu hospedeiro apenas na fase de fundação da colônia (Buschinger 1986; Buschinger 2009). Ainda, algumas espécies de formigas exibem um tipo de parasitismo denominado xenobiose, onde a rainha e operárias parasitas se estabelecem em algum material ou nas paredes do ninho da espécie hospedeiras (Buschinger 1986). Esse comportamento se difere dos demais porque a prole de ambas as espécies é mantida separada, mas os cuidados ficam a cargo da espécie parasita (Hölldobler e Wilson 1990). O que caracteriza essa associação como parasítica, é que a espécie parasita depende nutricionalmente da espécie hospedeira, não forrageando por conta própria, além de provavelmente depender da proteção fornecida pelo ninho (Buschinger 1986; Buschinger 2009). De fato, essas espécies xenobióticas são parasitas obrigatórios, não sobrevivendo por muito tempo sem hospedeiros (Buschinger 1986; Buschinger 2009).

Em formigas, um outro tipo de parasitismo conhecido é a dulose, podendo ser uma estratégia obrigatória ou facultativa. A espécie parasita captura e cria as pupas de operárias de outras espécies para utilizar como força de trabalho (Wilson 1971; Alloway 1980; Ward 1996). Por esse motivo, essas espécies parasitas também são frequentemente denominadas como formigas “escravagistas” (do inglês, *slave-making*) ou com outros termos relacionados à escravidão. O próprio termo dulose, apesar da aparente neutralidade cultural, tem raízes na palavra *doulos* do grego antigo, que faz referência a escravo (Trager 2013; Breed 2020). Considerando a carga cultural representada por palavras relacionados à escravidão alguns autores sugerem termos alternativos, como “comportamento leístico” (proveniente de *leistos*, referente à pirata) (Herbers 2007) e “cleptotectônico” (do grego *klepto*, roubar, e *tekon*, artesão) (Breed 2020). Ainda, muitas espécies de formigas dulotícas iniciam suas colônias por parasitismo temporário (De La Mora et al. 2020). Esse é um bom exemplo sobre controvérsias quanto à classificação do tipo de parasitismo.

Há ainda outros dois tipos de parasitismo observados em espécies de himenópteros, a cleptobiose e o cleptoparasitismo, os quais são o foco de investigação deste trabalho. A cleptobiose é um comportamento parasítico caracterizado pela pilhagem de recursos alimentares de outros indivíduos ou colônias (Breed et al. 2012). Esse é um comportamento comum entre espécies animais, especialmente em sua forma facultativa (Iyengar 2008). Embora ocorra entre espécies solitárias de himenópteros, a cleptobiose é mais associada a espécies de formigas e abelhas sociais, onde tem sido observada em relações intra e interespecífica (Hölldobler 1986; Perfecto e Vandermeer 1993; Yamaguchi 1995; Richard et al. 2004; Grüter et al. 2016; Ronque et al. 2018). Já o cleptoparasitismo é caracterizado pela oviposição feita pelo parasita em ninhos de espécies solitárias, sendo que a prole, ao emergir, se

alimenta dos recursos provisionados anteriormente pelo hospedeiro adulto (Michener 2007; Danforth et al. 2019). Em Hymenoptera, o cleptoparasitismo ocorre em espécies de abelhas e vespas solitárias (O'Neill 2001; Michener 2007; Danforth et al. 2019).

O termo cleptoparasitismo é frequentemente utilizado de forma genérica para se referir a comportamentos distintos de parasitismo, principalmente em relação ao comportamento cleptobiótico (Breed et al. 2012). Neste sentido, alguns autores defendem que o termo parasitismo de ninhada (do inglês *brood parasitism*) seja mais adequado para denominar o comportamento cleptoparasítico (Breed et al. 2012). No entanto, o termo parasitismo de ninhada por vezes tem sido empregado como sinônimo de parasitismo social *latu sensu* (Soler 2019; Stoldt e Foitzik 2021). Também é frequente a utilização de termos que fazem referência aos pássaros cuco (como, por exemplo, abelhas-cuco, do inglês *cuckoo bees*), pois várias dessas aves apresentam comportamento cleptoparasítico (Krüger e Pauli 2017). Entretanto, esses termos também geram problemas, especialmente no caso das abelhas do subgênero *Bombus (Psithyrus)* (Apidae: Bombini), que são frequentemente denominadas como abelhas-cuco, embora apresentem comportamento de parasitismo social *stricto sensu* (Lhomme e Hines 2019). Ao longo deste trabalho optou-se por utilizar o termo cleptoparasitismo para designar a estratégia de oviposição em ninhos de outras espécies, e cleptobiose para a pilhagem de recursos alimentares.

Abelhas e o comportamento parasítico

As abelhas constituem um grupo monofilético (Anthophila) dentro da superfamília Apoidea que compreende mais de 20.700 espécies descritas (Ascher e Pickering 2023). Anthophila atualmente é dividido em sete famílias: Apidae (6.090

espécies), Halictidae (4.510), Megachilidae (4.123), Andrenidae (3.077), Colletidae (2.731), Melittidae (207), e Stenotritidae (21) (Michener 2007; Hedtke et al. 2013; Ascher e Pickering 2023). Apesar do senso comum atribuído às abelhas, pouco mais de 5% das espécies são eussociais (Engel et al. 2020). A vasta maioria apresenta comportamento solitário ou comunal (Wcislo e Fewell 2017). No geral, as abelhas apresentam comportamento florívoro, coletando pólen e néctar nas flores para alimentação própria e provisionamento para sua prole (Engel et al. 2020). Devido a esse comportamento, as abelhas constituem um dos grupos mais importantes na polinização de plantas silvestres e cultivadas (Potts et al. 2016). No Brasil, por exemplo, 66,3% de todas as espécies de polinizadores são abelhas, sendo essas associadas a 92% dos cultivos agrícolas (Wolowski et al. 2019).

Em relação às espécies de abelhas parasitas, apesar de existirem registros de visitas a flores (Bogusch 2005; Machado e Sazima 2008; Campolo et al. 2016; Venâncio et al. 2016), sua significância na polinização provavelmente é menor que a de espécies não parasitas. Essas abelhas possuem menos pelos distribuídos pelo corpo, diminuindo sua capacidade de transferência de pólen (Michener 2007). Ainda, elas geralmente são menos abundantes em relação às não parasitas (Oertli et al. 2005; Danforth et al. 2019), e para algumas espécies não há nenhum registro de visita floral, indicando que não utilizam nenhum recurso floral de forma direta (Michener 1946; Sakagami e Laroca 1963). Apesar disso, é sugerido que as abelhas parasitas desempenhem outro importante papel ecossistêmico, o de manutenção da estabilidade das comunidades de abelhas não parasitas através do controle populacional de seus hospedeiros (Sheffield et al. 2013). Ainda, é possível que pressões provenientes de interações parasíticas tenham influenciado na evolução de características das espécies hospedeiras (Grüter et al. 2017). A seguir são apresentadas algumas considerações

sobre a evolução dos três comportamentos parasíticos presentes em abelhas.

Abelhas parasitas sociais

O parasitismo social (*stricto sensu*), até o momento, foi descrito em poucas espécies de abelhas. No entanto, estima-se que esse comportamento provavelmente evoluiu de forma independente nas famílias Apidae e Halictidae (Michener 2007). A maioria dessas prováveis origens ocorreu em espécies da tribo Allodapini (Apidae: Xylocopinae). Essas abelhas parasitam apenas espécies próximas filogeneticamente, e estima-se que esse comportamento evoluiu de forma independente ao menos oito vezes em Allodapini, sendo que cinco origens ocorreram entre espécies do gênero *Braunsapis*, uma em espécies de *Macrogalea*, e as demais nos respectivos ancestrais dos gêneros *Inquilina* e *Eucondylops* (Smith et al. 2013; Packer 2018). No entanto, outros potenciais parasitas sociais não foram avaliados (Michener et al. 2003; Michener 2007), então é possível que origens adicionais possam ainda ser reveladas em estudos futuros. Além disso, com exceção de *Inquilina*, nenhuma das linhagens de parasitas da tribo Allodapini compreende mais que duas espécies (Michener 2007), ou seja, mesmo considerando as múltiplas origens, ainda são poucas as espécies que apresentam esse tipo de parasitismo. As demais espécies de parasitas sociais da família Apidae pertencem ao gênero *Bombus* (mamangavas), sendo o subgênero *Psithyrus* um dos exemplos mais conhecidos de parasitismo social, uma vez que é composto apenas por espécies parasitas (Lhomme e Hines 2019). Além do subgênero *Psithyrus*, o parasitismo social também evoluiu de forma independente em outras espécies de mamangavas dos subgêneros *Thoracobombus* e *Alpinobombus* (Hines e Cameron 2010). Todas as espécies de *Bombus* parasitas têm como hospedeiro outras espécies do mesmo gênero (Michener 2007; Lhomme e Hines 2019). Na família

Halictidae algumas espécies de *Lasioglossum* (*Dialictus*) (Halictini), *Microsphecodes* (Sphecodini) e *Sphecodes* (Sphecodini) também são classificadas como potenciais parasitas sociais (Eickwort e Eickwort 1972; Bogusch et al. 2006; Michener 2007; Gibbs et al. 2012; Gonçalves 2021). No entanto, a evolução do parasitismo nesse grupo ainda é pouco compreendida, pois a distinção entre parasitas sociais e cleptoparasitas não é clara (Michener 2007; Danforth et al. 2019).

Há ainda um comportamento facultativo observado em operárias de *Apis mellifera capensis* que também é denominado como parasitismo social, apesar de ser caracterizado por interações intraespecíficas. As operárias invadem outras colônias de *A. m. capensis* bem como de outras subespécies de *Apis mellifera* para depositar seus ovos (Härtel et al. 2006), especialmente em células de rainhas (Jordan et al. 2008). Essa subespécie possui a capacidade de se reproduzir através de partenogênese telítoca (Oldroyd et al. 2021). Sendo assim, a prole dessas operárias é cuidada pelas operárias hospedeiras (Neumann 2001). O parasitismo por operárias de *A. m. capensis* leva ao fenótipo colonial denominado "Síndrome do declínio da colônia", caracterizado por uma redução inicial na atividade de forrageamento, seguida por lutas entre operárias invasoras e hospedeiras, o nascimento da prole de *A. m. capensis*, a perda da rainha hospedeira, e a eventual morte da colônia hospedeira (Neumann e Hepburn 2002).

Abelhas cleptoparasitas

O cleptoparasitismo é de longe o comportamento parasítico mais comum em abelhas, sendo estimado que aproximadamente 13% das espécies exibam esse comportamento (Danforth et al. 2019). Existem registros de espécies cleptoparasitas em 4 famílias de abelhas (Figura 2): Apidae, Halictidae, Megachilidae e Colletidae.

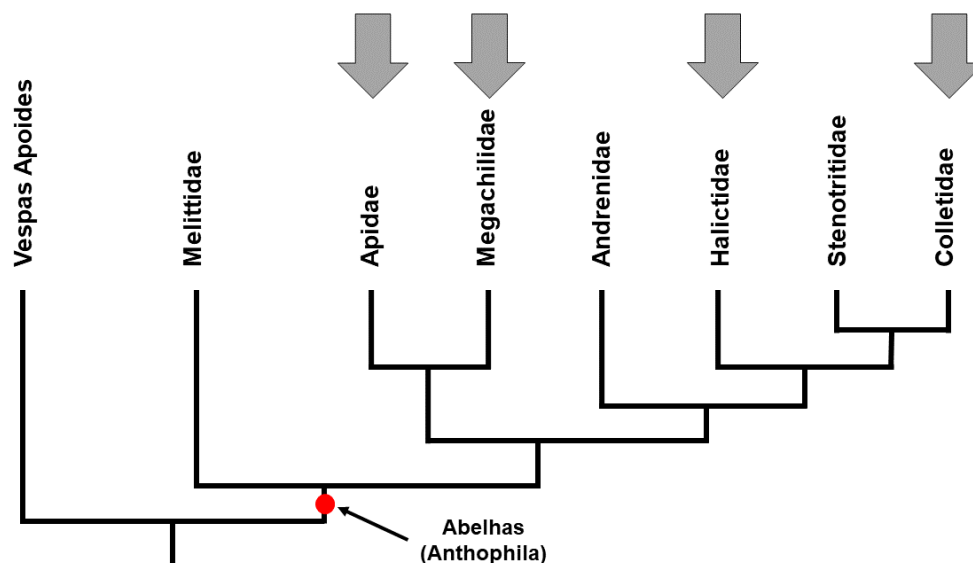


Figura 2. Filogenia simplificada das famílias de abelhas de acordo com a topologia proposta por Hedtke et al. (2013). O ponto vermelho representa o ancestral das abelhas. As setas indicam as famílias de abelhas com registro de espécies cleptoparasitas.

A família Apidae apresenta a maior diversidade de espécies cleptoparasitas (28% das suas espécies) (Cardinal et al. 2010). Uma de suas subfamílias, Nomadinae, é composta unicamente por espécies cleptoparasitas. Esse é o maior grupo de abelhas parasitas e que, provavelmente, derivou de um ancestral comum cleptoparasita (Straka e Bogush 2007; Cardinal et al. 2010; Bossert et al. 2019; Sless et al. 2022a). Existem registros de ataques de espécies de Nomadinae a ninhos de abelhas de ao menos cinco famílias: Apidae, Colletidae, Melittidae, Andrenidae e Halictidae (Danforth et al. 2019). Além de Nomadinae, é sugerido que o cleptoparasitismo tenha evoluído pelo menos mais duas vezes em Apidae, uma vez na tribo Ctenoplectrini (gênero *Ctenoplectrina*), e a outra na tribo Euglossini (no ancestral comum dos gêneros *Exaerete* e *Aglae*) (Bossert et al. 2019; Sless et al. 2022a). Esses cleptoparasitas parasitam apenas espécies de suas próprias tribos (Michener 2007; Danforth et al. 2019).

A família Megachilidae é a segunda maior em relação ao número de gêneros cleptoparasitas (15% das suas espécies) (Michener 2007). Estima-se que o cleptoparasitismo tenha evoluído de forma independente provavelmente 5 vezes nessa família: uma vez no ancestral da tribo Dioxyini; duas vezes na tribo Anthidiini (ancestral de *Hoplostelis*+*Austrostelis*; e no ancestral dos gêneros *Stelis*, *Euaspis* e *Afrostelis*); uma vez em Osmiini (no subgênero *Hoplitis* (*Hoplitis*)); e pelo menos uma vez na tribo Megachilini (no ancestral de *Coelioxys*+*Radoszkowskiana*) (Litman et al. 2013; Trunz et al. 2016; Gonzalez et al. 2019). Os cleptoparasitas dessa família costumam atacar ninhos de espécies de Megachilidae, mas espécies de *Coelioxys* e *Hoplostelis* podem parasitar ninhos de abelhas da família Apidae (Rozen 2001; Michener 2007).

A família Halictidae, por sua vez, conta possivelmente com o maior número de origens independentes do comportamento cleptoparasítico. Estima-se que o cleptoparasitismo tenha evoluído 9 vezes nessa família: cinco vezes na tribo Halictini; três em Augochlorini; e uma no ancestral comum de Sphecodini; embora, como já mencionado, exista a possibilidade de que algumas dessas linhagens parasitas constituam parasitas sociais (*stricto sensu*) (Michener 2007; Danforth et al. 2019; Gonçalves 2021). As espécies de cleptoparasitas descritas para a família Halictidae atacam principalmente ninhos de outros halictídeos, mas há registro de parasitismo a ninhos de abelhas de outras famílias (Pesenko 1999; Michener 2007; Danforth et al. 2019).

Por fim, na família Colletidae o cleptoparasitismo evoluiu apenas uma vez, dentro do subgênero *Hylaeus* (*Nesoprosopis*). Esses parasitas atacam apenas ninhos de espécies não parasitas do mesmo subgênero (Michener 2007; Danforth et al. 2019).

Existem algumas convergências adaptativas notáveis entre as espécies de abelhas cleptoparasitas. Talvez a mais característica seja a perda ou redução de estruturas relacionadas ao transporte do pólen, como as escopas e a corbícula (Michener 2007; Danforth et al. 2019). Em algumas linhagens cleptoparasitas derivadas de ancestrais que nidificavam no solo, também há a perda ou redução de estruturas que auxiliam na construção dos ninhos nesse substrato (Michener 2007). Além disso, modificações na anatomia interna, especialmente do sistema reprodutivo, permitem que várias espécies cleptoparasitas ovipositem mais rapidamente em relação às espécies hospedeiras (Rozen 2003; Michener 2007; Danforth et al. 2019).

Cleptobiose em abelhas

A cleptobiose facultativa é comumente observada entre espécies altamente sociais da família Apidae, nas tribos Apini e Meliponini, especialmente em situações de escassez de recursos tróficos (Bohart 1970; Wcislo 1987; Michener 2007). Algumas espécies da tribo Meliponini (abelhas sem ferrão) são cleptobiontes facultativos, e realizam ataques a ninhos de outras abelhas sem ferrão frequentemente (Nogueira-Neto 1970). É o caso, por exemplo, da *Melipona fuliginosa* (Camargo e Pedro 2008), que realiza ataques altamente organizados onde o nível de agressividade varia de acordo com a resposta da colônia atacada (Costa et al. 2018). No entanto, essas abelhas aparentemente tendem a realizar pilhagens apenas em situações de escassez floral (Nates-Parra 1995), mantendo o comportamento usual de forrageamento em condições favoráveis.

Por outro lado, algumas espécies de meliponíneos são cleptobiontes obrigatórios, ou seja, nunca visitam flores para a coleta de recursos, mas os pilham de ninhos de outras abelhas (Michener 1946; Sakagami e Laroca 1963). Esse

comportamento evoluiu independentemente em apenas dois gêneros: *Lestrimelitta* e *Cleptotrigona* (Portugal-Araújo 1958; Wittmann et al. 1990; Sakagami et al. 1993; Marchi e Melo 2006; Rech et al. 2013). O gênero *Lestrimelitta* conta com 23 espécies descritas, sendo que 14 dessas ocorrem no Brasil (Marchi e Melo 2006; Camargo e Pedro 2013). A maior parte dessas espécies ocorre na região Neotropical, mas duas delas, *Lestrimelitta chamelensis* e *Lestrimelitta niitkib*, são neárticas (Camargo e Pedro 2013). Essas abelhas atacam várias espécies de abelhas sem ferrão (Grüter et al. 2016), mas aparentemente os ataques são mais frequentes a espécies de *Plebeia*, *Nannotrigona* e *Scaptotrigona* (Nogueira-Neto 1970; Bego et al. 1991; Sakagami et al. 1993). Já a espécie *Cleptotrigona cubiceps*, a única do gênero, é encontrada apenas na região Paleotropical (Portugal-Araújo 1958; Marchi e Melo 2006). Essa espécie ataca colônias de *Hypotrigona* e provavelmente de *Liotrigona* (Eardley 2004), porém aparentemente exibe uma preferência por ninhos de *Hypotrigona braunsi* (Portugal-Araújo 1958). Ataques realizados por essas espécies cleptobióticas variam em relação à agressividade, mas potencialmente podem levar à morte de várias operárias do ninho atacado, e conseqüentemente à morte da colônia (Michener 1946; Schwarz 1948; Portugal-Araújo 1958; Nogueira-Neto 1970; Bego et al. 1991). Por fim, é possível que as duas espécies do gênero neotropical *Trichotrigona* também sejam cleptobiontes obrigatórios. A perda do pente de pólen nas tíbias traseiras, a ausência de potes de armazenamento de mel e pólen, bem com o fato de os ninhos dessas espécies estarem anexos aos de espécies de *Frieseomelitta*, suportam essa hipótese (Camargo e Moure 1983; Camargo e Pedro 2007). No entanto, esse possível comportamento cleptobiótico seria distinto do observado em *Lestrimelitta* e *Cleptotrigona*, pois não há evidências de ataques massivos realizados por espécies de

Trichotrigona, sendo mais provável que essas abelhas ajam individualmente, furtando os recursos dos ninhos das eventuais hospedeiras (Camargo e Pedro 2007).

Aspectos moleculares potencialmente relacionados ao parasitismo em abelhas

Os avanços recentes nas técnicas de sequenciamento têm propiciado a possibilidade da investigação das bases moleculares envolvidas na evolução de comportamentos parasíticos em Hymenoptera (Stoldt et al. 2022). No entanto, a maioria dos trabalhos realizados envolvem espécies de formigas e vespas (Stoldt et al. 2022). Em relação às abelhas, houve um grande interesse em investigar as operárias parasitas de *A. m. capensis* (Wallberg et al. 2016; Aumer et al. 2018), especialmente em relação às bases moleculares associadas à partenogênese telítoca (Aumer et al. 2019; Christmas et al. 2019; Yagound et al. 2020). Para além de *A. m. capensis*, recentemente, Sless et al. (2022b) realizaram um estudo de genômica comparativa incluindo um cleptoparasita da subfamília Nomadinae, *Holcopasites calliopsidis*. Esse estudo revelou uma diminuição significativa do tamanho do genoma dessa espécie em relação à média observada para as espécies de abelhas, incluindo outra espécie cleptoparasita de Nomadinae, *Nomada fabriciana*. Além disso, essas análises detectaram a expansão de famílias gênicas relacionadas a elementos transponíveis e retrovirais (Sless et al. 2022b). Estudos de genômica comparativa também foram realizados para espécies do gênero *Bombus* e foi identificado um aumento no número de cromossomos e tamanho dos genomas de espécies do subgênero de parasitas sociais *Psithyrus*, bem como a perda de 11 genes para receptores olfativos (Sun et al. 2021). É sugerido que a perda desses genes esteja relacionada ao relaxamento da seleção sob os mesmos, já que as espécies de parasitas sociais teriam uma redução de

tarefas que envolveriam a comunicação mediada por esses receptores (Stoldt et al. 2022). No entanto, genes que mediam a atividade quimiossensorial podem ter papel fundamental na localização de hospedeiros por parte dos parasitas, como observado para vespas parasitoides (Haverkamp e Smid 2020). De fato, diversos trabalhos analisando padrões de expressão em fêmeas de vespas parasitoides mostraram alta expressão de genes quimiossensoriais e conseqüentemente a presença de seus produtos (Qi et al. 2015; Zhou et al. 2015; Zhao et al. 2016; Nie et al. 2017; Liu et al. 2020; Li et al. 2021). Além disso, análises morfológicas comparativas apontaram diferenças na composição de sensilas nas antenas de espécies de abelhas cleptoparasitas e hospedeiras, sendo que as cleptoparasitas apresentaram uma predominância de estruturas olfativas (Galvani et al. 2017). Nesse sentido, a partir de observações empíricas, Cane (1983) sugere que espécies de abelhas cleptoparasitas avaliam pistas químicas na entrada dos ninhos de hospedeiros para definir se vão entrar ou não, considerando a presença do hospedeiro ou a visitaçãõ do ninho anteriormente por outro cleptoparasita. De fato, Dotterl (2008) demonstrou através de eletroantenografia que o cleptoparasita *Epeoloides coecutiens* (Apidae: Osirini) responde aos compostos emitidos por plantas utilizadas como fonte de pólen e óleo pelo seu hospedeiro, sugerindo que o parasita utiliza esses sinais para a localização dos ninhos do hospedeiro.

Justificativa

Os comportamentos de parasitismo, comportamentos esses de extrema complexidade, possuem grandes implicações evolutivas (Grüter et al. 2012; Grüter et al. 2017) e relevância ecológica em especial no controle populacional de diferentes espécies de abelhas (Sheffield et al. 2013). No entanto, o conhecimento sobre as bases moleculares subjacentes a esses comportamentos ainda é incipiente. O avanço recente

em métodos de análises “ômicas” tem proporcionado abordagens globais ou mesmo focadas em questões específicas. Em abelhas, vários trabalhos, utilizando esses métodos, têm contribuído para o entendimento das características moleculares relacionadas a comportamentos complexos (Berens et al. 2015; Araujo et al. 2018; Li et al. 2018; Santos et al. 2018; Araujo e Arias 2021; Fahad Raza et al. 2022; Feng et al. 2022). Neste trabalho foram utilizados dados de RNA-Seq para realizar análises comparativas entre espécies parasitas e seus respectivos hospedeiros, com a finalidade de realizar uma prospecção abrangente de genes potencialmente associados à cleptobiose e ao cleptoparasitismo, e possibilitar a abertura de perspectivas de investigação desses comportamentos complexos. Este é o primeiro trabalho a explorar dados transcriptômicos de espécies cleptoparasitas e cleptobióticas na perspectiva de compreender aspectos relacionados a esses comportamentos, propondo uma metodologia comparativa analítica para tal. Espera-se que os resultados aqui obtidos possam fundamentar novos estudos que pretendam compreender aspectos mais específicos dos comportamentos cleptoparasítico e cleptobiótico.

Referências

- Alloway TM. 1980. The Origins of Slavery in Leptothoracine Ants (Hymenoptera: Formicidae). *Am Nat* 115:247–261.
- Araujo NS, Arias MC. 2021. Gene expression and epigenetics reveal species-specific mechanisms acting upon common molecular pathways in the evolution of task division in bees. *Sci Rep* 11:3654.
- Araujo NS, Santos PKF, Arias MC. 2018. RNA-Seq reveals that mitochondrial genes and long non-coding RNAs may play important roles in the bivoltine generations of the non-social Neotropical bee *Tetrapedia diversipes*. *Apidologie* 49:3–12.
- Ascher JS, Pickering J. 2023. Discover Life bee species guide and world checklist (Hymenoptera: Apoidea: Anthophila). Available from: https://www.discoverlife.org/mp/20q?guide=Apoidea_species
- Aumer D, Mumoki FN, Pirk CWW, Moritz RFA. 2018. The transcriptomic changes associated with the development of social parasitism in the honeybee *Apis mellifera capensis*. *The Science of Nature* 105:22.
- Aumer D, Stolle E, Allsopp M, Mumoki F, Pirk CWW, Moritz RFA. 2019. A Single SNP Turns a Social Honey Bee (*Apis mellifera*) Worker into a Selfish Parasite. True J, organizador. *Mol Biol Evol* 36:516–526.

- De Baets K, Littlewood DTJ. 2015. The Importance of Fossils in Understanding the Evolution of Parasites and Their Vectors. Em: *Advances in Parasitology*. Vol. 90. Academic Press. p. 1–51.
- Bego LR, Zucchi R, Mateus S. 1991. Notas sobre a estratégia alimentar (cleptobiose) de *Lestrimelitta limao* Smith (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). *Naturalia* 16:119–127.
- Berens AJ, Hunt JH, Toth AL. 2015. Comparative Transcriptomics of Convergent Evolution: Different Genes but Conserved Pathways Underlie Caste Phenotypes across Lineages of Eusocial Insects. *Mol Biol Evol* 32:690–703.
- Blaxter ML, De Ley P, Garey JR, Liu LX, Scheldeman P, Vierstraete A, Vanfleteren JR, Mackey LY, Dorris M, Frisse LM, et al. 1998. A molecular evolutionary framework for the phylum Nematoda. *Nature* 392:71–75.
- Bogusch P. 2005. Biology of the Cleptoparasitic Bee *Epeoloides coecutiens* (Hymenoptera: Apidae: Osirini). *J Kans Entomol Soc* 78:1–12.
- Bogusch P, Kratochvíl L, Straka J. 2006. Generalist cuckoo bees (Hymenoptera: Apoidea: *Sphecodes*) are species-specialist at the individual level. *Behav Ecol Sociobiol* 60:422–429.
- Bohart GE. 1970. The Evolution of Parasitism among bees. 41 st. Utah State University
- Bossert S, Murray EA, Almeida EA b., Brady SG, Blaimer BB, Danforth BN. 2019. Combining transcriptomes and ultraconserved elements to illuminate the phylogeny of Apidae. *Mol Phylogenet Evol*.
- Bourke AFG, Franks NR. 1991. Alternative adaptations, sympatric speciation and the evolution of parasitic, inquiline ants. *Biological Journal of the Linnean Society* 43:157–178.
- Breed MD. 2020. The importance of words: revising the social insect lexicon. *Insectes Soc* 67:459–461.
- Breed MD, Cook C, Krasnec MO. 2012. Cleptobiosis in social insects. *Psyche (Camb Mass)* 2012:1–7.
- Buschinger A. 1986. Evolution of social parasitism in ants. *Trends Ecol Evol* 1:155–160.
- Buschinger A. 2009. Social parasitism among ants: a review (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecological News* 12:219–235.
- Bush AO, Fernández JC, Esch GW, Seed JR. 2001. Parasitism: The diversity and ecology of animal parasites. Cambridge, United Kingdom: Cambridge University Press
- Camargo JMF, Moure JS. 1983. *Trichotrigona*, um novo gênero de Meliponinae (Hymenoptera, Apidae), do Rio Negro, Amazonas, Brasil. *Acta Amazon* 13:421–429.
- Camargo JMF, Pedro SRM. 2007. Notas sobre a bionomia de *Trichotrigona extranea* Camargo & Moure (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). *Rev Bras Entomol* 51:72–81.
- Camargo JMF, Pedro SRM. 2008. Revisão das espécies de *Melipona* do grupo *fuliginosa* (Hymenoptera, Apoidea, Apidae, Meliponini). *Rev Bras Entomol* 52:411–427.
- Camargo JMF, Pedro SRM. 2013. Meliponini Lepelletier, 1836. Em: In Moure, J. S., Urban, D. & Melo, G. A. R. (Orgs). Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region - online version. Available from: <http://www.moure.cria.org.br/catalogue>
- Campolo O, Zappalà L, Malacrinò A, Laudani F, Palmeri V. 2016. Bees visiting flowers of *Thymus longicaulis* (Lamiaceae). *Plant Biosystems - An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology* 150:1182–1188.
- Cane JH. 1983. Olfactory evaluation of *Andrena* host nest suitability by kleptoparasitic *Nomada* bees (Hymenoptera: Apoidea). *Anim Behav* 31:138–144.
- Cardinal S, Straka J, Danforth BN. 2010. Comprehensive phylogeny of apid bees reveals the evolutionary origins and antiquity of cleptoparasitism. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107:16207–16211.
- Cervo R. 2006. *Polistes* wasps and their social parasites: an overview. *Ann Zool Fennici* 43:531–549.
- Chitwood DJ. 2003. Research on plant-parasitic nematode biology conducted by the United States Department of Agriculture-Agricultural Research Service. *Pest Manag Sci* 59:748–753.

- Christmas MJ, Smith NMA, Oldroyd BP, Webster MT. 2019. Social Parasitism in the Honeybee (*Apis mellifera*) Is Not Controlled by a Single SNP. True J, organizador. *Mol Biol Evol* 36:1764–1767.
- Cini A, Sumner S, Cervo R. 2019. Inquiline social parasites as tools to unlock the secrets of insect sociality. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 374:20180193.
- Corwin RM. 1997. Economics of gastrointestinal parasitism of cattle. *Vet Parasitol* 72:451–460.
- Costa L, Galaschi-Teixeira JS, Maia UM, Imperatriz-Fonseca VL. 2018. Plasticity of stingless bee *Melipona fuliginosa* Lepeletier to obtain food resources in Amazonia. *Sociobiology* 65:744.
- Crompton DWT. 1999. How Much Human Helminthiasis Is There in the World? *J Parasitol* 85:397.
- Danforth BN, Minckley RL, Neff JL. 2019. *The Solitary Bees*. Princeton University Press
- Dobson A, Lafferty KD, Kuris AM, Hechinger RF, Jetz W. 2008. Homage to Linnaeus: How many parasites? How many hosts? *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105:11482–11489.
- Dobson AP, Hudson PJ. 1986. Parasites, disease and the structure of ecological communities. *Trends Ecol Evol* 1:11–15.
- Dotterl S. 2008. Antennal responses of an oligolectic bee and its cleptoparasite to plant volatiles. *Plant Signal Behav* 3:296–297.
- Eardley CD. 2004. Taxonomic revision of the African stingless bees (Apoidea: Apidae: Apinae: Meliponini). *Afr Plant Prot* 10:63–96.
- Eggleton P, Gaston KJ. 1990. “Parasitoid” Species and Assemblages: Convenient Definitions or Misleading Compromises? *Oikos* 59:417.
- Eickwort GC, Eickwort KR. 1972. Aspects of the Biology of Costa Rican Halictine Bees, III. *Sphecodes kathleenae*, a Social Cleptoparasite of *Dialictus umbripennis* (Hymenoptera: Halictidae). *J Kans Entomol Soc* 45:529–541.
- Engel MS, Rasmussen C, Gonzalez VH. 2020. Bees. Em: *Encyclopedia of Social Insects*. Cham: Springer International Publishing. p. 1–17.
- Engels D, Chitsulo L, Montresor A, Savioli L. 2002. The global epidemiological situation of schistosomiasis and new approaches to control and research. *Acta Trop* 82:139–146.
- Fahad Raza M, Anwar M, Husain A, Rizwan M, Li Z, Nie H, Hlaváč P, Ali MA, Rady A, Su S. 2022. Differential gene expression analysis following olfactory learning in honeybee (*Apis mellifera* L.). *PLoS One* 17:e0262441.
- Feng W, Huang J, Zhang Z, Nie H, Lin Y, Li Z, Su S. 2022. Understanding of Waggle Dance in the Honey Bee (*Apis mellifera*) from the Perspective of Long Non-Coding RNA. *Insects* 13:111.
- Galvani GL, González-Vaquero RA, Guerra-Navarro C, Settembrini BP. 2017. Antennal sensilla of cleptoparasitic and non-parasitic bees in two subfamilies of Apidae. *Apidologie* 48:437–449.
- Gibbs J, Albert J, Packer L. 2012. Dual origins of social parasitism in North American *Dialictus* (Hymenoptera: Halictidae) confirmed using a phylogenetic approach. *Cladistics* 28:195–207.
- Gonçalves RB. 2021. A revised genus-level classification for the Neotropical groups of the cleptoparasitic bee tribe Sphecodini Schenck (Hymenoptera, Apidae, Halictinae). *Rev Bras Entomol* 65.
- Gonzalez VH, Gustafson GT, Engel MS. 2019. Morphological phylogeny of Megachilini and the evolution of leaf-cutter behavior in bees (Hymenoptera: Megachilidae). *J Melittology*:1–123.
- Grüter C, Menezes C, Imperatriz-Fonseca VL, Ratnieks FLW. 2012. A morphologically specialized soldier caste improves colony defense in a neotropical eusocial bee. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 109:1182–1186.
- Grüter C, Segers FHID, Menezes C, Vollet-Neto A, Falcón T, von Zuben L, Bitondi MMG, Nascimento FS, Almeida EAB. 2017. Repeated evolution of soldier sub-castes suggests parasitism drives social complexity in stingless bees. *Nat Commun* 8:4.
- Grüter C, von Zuben LG, Segers FHID, Cunningham JP. 2016. Warfare in stingless bees. *Insectes Soc* 63:223–236.

- Härtel S, Neumann P, Raassen FS, Moritz RFA, Hepburn HR. 2006. Social parasitism by Cape honeybee workers in colonies of their own subspecies (*Apis mellifera capensis* Esch.). *Insectes Soc* 53:183–193.
- Haverkamp A, Smid HM. 2020. A neuronal arms race: the role of learning in parasitoid–host interactions. *Curr Opin Insect Sci* 42:47–54.
- Hedtke SM, Patiny S, Danforth BN. 2013. The bee tree of life: A supermatrix approach to apoid phylogeny and biogeography. *BMC Evol Biol* 13.
- Herbers JM. 2007. Watch Your Language! Racially Loaded Metaphors in Scientific Research. *Bioscience* 57:104–105.
- Hines HM, Cameron SA. 2010. The phylogenetic position of the bumble bee inquiline *Bombus inexpectatus* and implications for the evolution of social parasitism. *Insectes Soc* 57:379–383.
- Hölldobler B. 1986. Food robbing in ants, a form of interference competition. *Oecologia* 69:12–15.
- Hölldobler B, Wilson EO. 1990. *The Ants*. 1^o ed. Cambridge, Massachusetts: Harvard University Press
- Huang MH, Dornhaus A. 2008. A meta-analysis of ant social parasitism: host characteristics of different parasitism types and a test of Emery’s rule. *Ecol Entomol* 33:589–596.
- Iyengar EV. 2008. Kleptoparasitic interactions throughout the animal kingdom and a re-evaluation, based on participant mobility, of the conditions promoting the evolution of kleptoparasitism. *Biological Journal of the Linnean Society* 93:745–762.
- Jordan LA, Allsopp MH, Oldroyd BP, Wossler TC, Beekman M. 2008. Cheating honeybee workers produce royal offspring. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 275:345–351.
- Krüger O, Pauli M. 2017. Evolution of Avian Brood Parasitism and Phylogenetic History of Brood Parasites. Em: p. 43–59.
- De La Mora A, Sankovitz M, Purcell J. 2020. Ants (Hymenoptera: Formicidae) as host and intruder: recent advances and future directions in the study of exploitative strategies. *Myrmecol. News* 30:53–71.
- Labandeira CC, Li L. 2021. The History of Insect Parasitism and the Mid-Mesozoic Parasitoid Revolution. Em: Em: De Baets K, Huntley JW, organizadores. *The Evolution and Fossil Record of Parasitism*. Cham: Springer International Publishing. p. 377–533.
- Lefèvre T, Lebarbenchon C, Gauthier-Clerc M, Missé D, Poulin R, Thomas F. 2009. The ecological significance of manipulative parasites. *Trends Ecol Evol* 24:41–48.
- Leung TLF. 2017. Fossils of parasites: what can the fossil record tell us about the evolution of parasitism? *Biological Reviews* 92:410–430.
- Lhomme P, Hines HM. 2018. Reproductive dominance strategies in insect social parasites. *J Chem Ecol* 44:838–850.
- Lhomme P, Hines HM. 2019. Ecology and Evolution of Cuckoo Bumble Bees. *Ann Entomol Soc Am* 112:122–140.
- Li L, Su S, Perry CJ, Elphick MR, Chittka L, Søvik E. 2018. Large-scale transcriptome changes in the process of long-term visual memory formation in the bumblebee, *Bombus terrestris*. *Sci Rep* 8:534.
- Li Y, Chen H, Hong T, Yan M, Wang Jiao, Shao Z, Wu F, Sheng S, Wang Jun. 2021. Identification of chemosensory genes by antennal transcriptome analysis and expression profiles of odorant-binding proteins in parasitoid wasp *Aulacocentrum confusum*. *Comp Biochem Physiol Part D Genomics Proteomics* 40:100881.
- Litman JR, Praz CJ, Danforth BN, Griswold TL, Cardinal S. 2013. Origins, evolution, and diversification of cleptoparasitic lineages in long-tongued bees. *Evolution* 67:2982–2998.
- Liu Yipeng, Du L, Zhu Y, Yang S, Zhou Q, Wang G, Liu Yang. 2020. Identification and sex-biased profiles of candidate olfactory genes in the antennal transcriptome of the parasitoid wasp *Cotesia vestalis*. *Comp Biochem Physiol Part D Genomics Proteomics* 34:100657.

- Machado IC, Sazima M. 2008. Pollination and breeding system of *Melochia tomentosa* L. (Malvaceae), a keystone floral resource in the Brazilian Caatinga. *Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* 203:484–490.
- Marchi P, Melo GAR. 2006. Revisão taxonômica das espécies brasileiras de abelhas do gênero *Lestrimelitta* Friese (Hymenoptera, Apidae, Meliponina). *Rev Bras Entomol* 50:6–30.
- McCallum H, Dobson A. 1995. Detecting disease and parasite threats to endangered species and ecosystems. *Trends Ecol Evol* 10:190–194.
- de Meeûs T, Renaud F. 2002. Parasites within the new phylogeny of eukaryotes. *Trends Parasitol* 18:247–251.
- Michener CD. 1946. Notes on the Habits of Some Panamanian Stingless Bees (Hymenoptera, Apidae). *Journal of the New York Entomological Society* 54:179–197.
- Michener CD. 2007. The bees of the world. 2nd ed. Baltimore, Maryland: The Johns Hopkins University Press
- Michener CD, Borges RM, Zacharias M, Shenoy M. 2003. A New Parasitic Bee of the Genus *Braunsapis* from India (Hymenoptera: Apidae: Allodapini). *J Kans Entomol Soc* 76:518–522.
- Nates-Parra G. 1995. Las abejas sin aguijón del género *Melipona* (Hymenoptera: Meliponinae) en Colombia. *Boletín del Museo de Entomología de la Universidad del Valle* 3:21–33.
- Neumann P. 2001. Social parasitism by honeybee workers (*Apis mellifera capensis* Escholtz): host finding and resistance of hybrid host colonies. *Behavioral Ecology* 12:419–428.
- Neumann P, Hepburn R. 2002. Behavioural basis for social parasitism of Cape honeybees (*Apis mellifera capensis*). *Apidologie* 33:165–192.
- Nie XP, Li QL, Xu C, Li DZ, Zhang Z, Wang M-Q, Zhou AM, Li SQ. 2017. Antennal transcriptome and odorant binding protein expression profiles of an invasive mealybug and its parasitoid. *Journal of Applied Entomology* 142:149–161.
- Nogueira-Neto P. 1970. Behavior problems related to the pillages made by some parasitic stingless bees (Meliponinae, Apidae). Em: Aronson LR, organizador. Development and evolution of behavior: Essays in memory of T.C. Schneirla. San Francisco: W. H. Freeman. p. 416–434.
- Oertli S, Müller A, Dorn S. 2005. Ecological and seasonal patterns in the diversity of a species-rich bee assemblage (Hymenoptera: Apoidea: Apiformes). *Eur J Entomol* 102:53–63.
- Oldroyd BP, Yagound B, Allsopp MH, Holmes MJ, Buchmann G, Zayed A, Beekman M. 2021. Adaptive, caste-specific changes to recombination rates in a thelytokous honeybee population. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 288:20210729.
- O’Neill KM. 2001. Foraging Behavior of Cleptoparasites. Em: O’Neill KM, organizador. Solitary Wasps. Ithaca, NY: Cornell University Press. p. 120–134.
- Packer L. 2018. A new socially parasitic *Braunsapis* (Hymenoptera: Apidae: Xylocopinae: Allodapini) from Vietnam, with a key to female socially parasitic *Braunsapis* in Asia. *J Melittology*:1–9.
- Parmentier E, Michel L. 2013. Boundary lines in symbiosis forms. *Symbiosis* 60:1–5.
- Pennacchio F, Strand MR. 2006. Evolution of developmental strategies in parasitic hymenoptera. *Annu Rev Entomol* 51:233–258.
- Perfecto I, Vandermeer JH. 1993. Cleptobiosis in the ant *Ectatomma ruidum* in Nicaragua. *Insectes Soc* 40:295–299.
- Pesenko YA. 1999. Phylogeny and classification of the family Halictidae revised (Hymenoptera: Apoidea). *J Kans Entomol Soc* 72:104–123.
- Phillips RS. 2002. Parasitism: life cycles and host defences against parasites. Em: eLS. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.
- Phillips RS. 2012. Parasitism: the variety of parasites. Em: eLS. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.
- Portugal-Araújo V. 1958. A Contribution to the Bionomics of *Lestrimelitta cubiceps* (Hymenoptera, Apidae). *J Kans Entomol Soc* 31:203–211.

- Potts SG, Imperatriz-Fonseca V, Ngo HT, Aizen MA, Biesmeijer JC, Breeze TD, Dicks L V., Garibaldi LA, Hill R, Settele J, et al. 2016. Safeguarding pollinators and their values to human well-being. *Nature* 540:220–229.
- Poulin R. 2011. The many roads to parasitism: a tale of convergence. Em: *Advances in Parasitology*. Vol. 74. 1^o ed Burlington: Academic Press. p. 1–40.
- Poulin R. 2014. Parasite biodiversity revisited: frontiers and constraints. *Int J Parasitol* 44:581–589.
- Qi Y, Teng Z, Gao L, Wu S, Huang J, Ye G, Fang Q. 2015. Transcriptome analysis of an endoparasitoid wasp *Cotesia chilonis* (Hymenoptera: Braconidae) reveals genes involved in successful parasitism. *Arch Insect Biochem Physiol* 88:203–221.
- Rasnitsyn AP. 1988. An outline of evolution of the hymenopterous insects (Order Vespida). *Orient Insects* 22:115–145.
- Rech AR, Schwade MA, Regina M, Schwade M. 2013. Abelhas-sem-ferrão amazônicas defendem meliponários contra saques de outras abelhas. *Acta Amazon* 43:389–394.
- Richard F-J, Dejean A, Lachaud J-P. 2004. Sugary food robbing in ants: a case of temporal cleptobiosis. *C R Biol* 327:509–517.
- Ronque MU V., Migliorini GH, Oliveira PS. 2018. Thievery in rainforest fungus-growing ants: interspecific assault on culturing material at nest entrance. *Insectes Soc* 65:507–510.
- Rozen JG. 2001. A taxonomic key to mature larvae of cleptoparasitic bees (Hymenoptera: Apoidea). *Am Mus Novit* 3309:1–28.
- Rozen JG. 2003. Eggs, Ovariole Numbers, and Modes of Parasitism of Cleptoparasitic Bees, with Emphasis on Neotropical Species (Hymenoptera: Apoidea). *Am Mus Novit* 3413:1–36.
- Sakagami SF, Laroca S. 1963. Additional observations on the habits of the cleptobiotic stingless bees, the genus *Lestrimelitta* Friese (Hymenoptera, Apoidea). *Journal of the Faculty of Science, Hokkaido University: Zoology. Series VI* 15:319–339.
- Sakagami SF, Roubik DW, Zucchi R. 1993. Ethology of the robber stingless bee, *Lestrimelitta limao* (Hymenoptera: Apidae). *Sociobiology* 21:237–277.
- Santos AMC, Quicke DLJ. 2011. Large-scale diversity patterns of parasitoid insects. *Entomol Sci* 14:371–382.
- Santos PKF, de Souza Araujo N, Françoso E, Zuntini AR, Arias MC. 2018. Diapause in a tropical oil-collecting bee: molecular basis unveiled by RNA-Seq. *BMC Genomics* 19:305.
- Schmid-Hempel P. 1998. *Parasites in Social Insects*. Princeton, New Jersey: Princeton University Press
- Schmidt GD, Roberts LS. 2009. *Foundations of parasitology*. 8^o ed. Boston: McGraw-Hill
- Schwarz HF. 1948. Stingless bees of the western hemisphere. *Bull Am Mus Nat Hist* 90:1–546.
- Sharkey MJ, Carpenter JM, Vilhelmsen L, Heraty J, Liljeblad J, Dowling APG, Schulmeister S, Murray D, Deans AR, Ronquist F, et al. 2012. Phylogenetic relationships among superfamilies of Hymenoptera. *Cladistics* 28:80–112.
- Sheffield CS, Pindar A, Packer L, Kevan PG. 2013. The potential of cleptoparasitic bees as indicator taxa for assessing bee communities. *Apidologie* 44:501–510.
- de Silva NR, Brooker S, Hotez PJ, Montresor A, Engels D, Savioli L. 2003. Soil-transmitted helminth infections: updating the global picture. *Trends Parasitol* 19:547–551.
- Sless TJL, Branstetter MG, Gillung JP, Krichilsky EA, Tobin KB, Straka J, Rozen JG, Freitas F V., Martins AC, Bossert S, et al. 2022a. Phylogenetic relationships and the evolution of host preferences in the largest clade of brood parasitic bees (Apidae: Nomadinae). *Mol Phylogenet Evol* 166:107326.
- Sless TJL, Searle JB, Danforth BN. 2022b. Genome of the bee *Holcopasites calliopsidis*— a species showing the common apid trait of brood parasitism. *G3 Genes/Genomes/Genetics* 12.
- Smith JA, Chenoweth LB, Tierney SM, Schwarz MP. 2013. Repeated origins of social parasitism in allodapine bees indicate that the weak form of Emery's rule is widespread, yet sympatric speciation remains highly problematic. *Biological Journal of the Linnean Society* 109:320–331.

- Soler M. 2019. Brood Parasitism. Em: Encyclopedia of Animal Behavior. Elsevier. p. 17–30.
- Steelman CD. 1976. Effects of external and internal arthropod parasites on domestic livestock production. *Annu Rev Entomol* 21:155–178.
- Stoldt M, Foitzik S. 2021. Slave-Making in Ants (Dulosis). Em: Encyclopedia of Social Insects. Cham: Springer International Publishing. p. 807–814.
- Stoldt M, Macit MN, Collin E, Foitzik S. 2022. Molecular (co)evolution of hymenopteran social parasites and their hosts. *Curr Opin Insect Sci* 50:100889.
- Straka J, Bogush P. 2007. Phylogeny of the bees of the family Apidae based on larval characters with focus on the origin of cleptoparasitism (Hymenoptera: Apiformes). *Syst Entomol* 32:700–711.
- Sun C, Huang J, Wang Y, Zhao X, Su L, Thomas GWC, Zhao M, Zhang X, Jungreis I, Kellis M, et al. 2021. Genus-Wide Characterization of Bumblebee Genomes Provides Insights into Their Evolution and Variation in Ecological and Behavioral Traits. *Mol Biol Evol* 38:486–501.
- Talbot M. 1976. The Natural History of the Workerless Ant Parasite *Formica talbotae*. *Psyche (Camb Mass)* 83:282–288.
- Trager JC. 2013. Global revision of the dulotic ant genus *Polyergus* (Hymenoptera: Formicidae, Formicinae, Formicini). *Zootaxa* 3722:501.
- Trunz V, Packer L, Vieu J, Arrigo N, Praz CJ. 2016. Comprehensive phylogeny, biogeography and new classification of the diverse bee tribe Megachilini: Can we use DNA barcodes in phylogenies of large genera? *Mol Phylogenet Evol* 103:245–259.
- Venâncio D de FA, Viccini LF, Luiz-Ponzo AP, Prezoto F. 2016. Flower-Visiting Insects and Phenology of *Lippia alba* (Lamiales: Verbenaceae): Floral Color Changes and Environmental Conditions as Cues for Pollinators. *Environ Entomol* 45:685–693.
- Wallberg A, Pirk CW, Allsopp MH, Webster MT. 2016. Identification of Multiple Loci Associated with Social Parasitism in Honeybees. Nachman MW, organizador. *PLoS Genet* 12:e1006097.
- Ward PS. 1996. A new workerless social parasite in the ant genus *Pseudomyrmex* (Hymenoptera: Formicidae), with a discussion of the origin of social parasitism in ants. *Syst Entomol* 21:253–263.
- Wcislo W, Fewell JH. 2017. Sociality in Bees. Em: Comparative Social Evolution. Cambridge University Press. p. 50–83.
- Wcislo WiT. 1987. The roles of seasonality, host synchrony, and behaviour in the evolutions and distributions of nest parasites in Hymenoptera (Insecta), with special reference to bees (Apoidea). *Biological Reviews* 62:515–542.
- Weinstein SB, Kuris AM. 2016. Independent origins of parasitism in Animalia. *Biol Lett* 12:20160324.
- Whitfield JB. 1998. Phylogeny and evolution of host-parasitoid interactions in Hymenoptera. *Annu Rev Entomol* 43:129–151.
- Wilson EO. 1971. The Insect Societies. Cambridge, Massachusetts: Belknap Press of Harvard University Press
- Windsor DA. 1998. Controversies in parasitology, most of the species on Earth are parasites. *Int J Parasitol* 28:1939–1941.
- Wittmann D, Radtke R, Zeil J, Lübke G, Francke W. 1990. Robber bees (*Lestrimelitta limao*) and their host chemical and visual cues in nest defense by *Trigona (Tetragonisca) angustula* (Apidae: Meliponinae). *J Chem Ecol* 16:631–641.
- Wolowski M, Agostini K, Rech AR, Varassin IG, Maués M, Freitas L, Carneiro LT, Bueno R de O, Consolaro H, Carneiro L, et al. 2019. Relatório temático sobre polinização, polinizadores e produção de alimentos no Brasil. São Carlos: Editora Cubo.
- Yagound B, Dogantzis KA, Zayed A, Lim J, Broekhuysse P, Remnant EJ, Beekman M, Allsopp MH, Aamidor SE, Dim O, et al. 2020. A Single Gene Causes Thelytokous Parthenogenesis, the Defining Feature of the Cape Honeybee *Apis mellifera capensis*. *Current Biology* 30:2248–2259.e6.

- Yamaguchi T. 1995. Intraspecific competition through food robbing in the harvester ant, *Messor aciculatus* (Fr. Smith), and its consequences on colony survival. *Insectes Soc* 42:89–101.
- Zhao Y, Wang F, Zhang X, Zhang S, Guo S, Zhu G, Liu Q, Li M. 2016. Transcriptome and expression patterns of chemosensory genes in antennae of the parasitoid wasp *Chouioia cunea*. *PLoS One* 11:e0148159.
- Zhou C-X, Min S-F, Yan-Long T, Wang M-Q. 2015. Analysis of antennal transcriptome and odorant binding protein expression profiles of the recently identified parasitoid wasp, *Sclerodermus* sp. *Comp Biochem Physiol Part D Genomics Proteomics* 16:10–19.

Discussão Geral e Conclusões

O comportamento parasita observado em espécies de abelhas é um fenômeno complexo e diverso. Ele envolve diferentes estratégias e interações entre parasitas e hospedeiros. Essas interações parasíticas representam importantes características na dinâmica populacional e evolução das espécies de abelhas (Grüter et al. 2012; Sheffield et al. 2013; Grüter et al. 2017). Neste trabalho, utilizamos dados de RNA-Seq para investigar a expressão de genes em espécies de abelhas parasitas e hospedeiras nativas do Brasil. É um trabalho pioneiro no emprego de dados transcriptômicos para a compreensão de aspectos relacionados ao cleptoparasitismo e a cleptobiose nesse grupo de insetos. Essa investigação se deu a partir da comparação da expressão de genes ortólogos entre as espécies parasitas e suas respectivas hospedeiras, que, a despeito de suas limitações, resultou em dados relevantes para o entendimento do parasitismo em abelhas.

Este trabalho oferece importantes contribuições ao conhecimento acerca dos comportamentos cleptoparasítico e cleptobiótico em abelhas, uma vez que não existiam dados sobre a expressão de genes no contexto desses comportamentos. Os ortólogos e resultados descritos neste trabalho compreendem genes candidatos para trabalhos futuros, abrindo várias perspectivas de investigação. A determinação das funções desses ortólogos, e da participação nas diferentes vias metabólicas, pode levar a descobertas mais específicas sobre a regulação dos comportamentos parasitas. Para tanto, são necessárias análises da expressão utilizando dados tecido-específicos, como, por exemplo, em estruturas sensoriais e do sistema nervoso, uma vez que essas estruturas podem estar relacionadas com os comportamentos parasíticos em abelhas, como sugerem os resultados obtidos neste trabalho. Além disso, vários dos ortólogos identificados podem estar associados a diferentes papéis dependendo de onde sua

expressão ocorra. Assim, a comparação dos perfis de expressão de diferentes tecidos pode contribuir para elucidar a função desses genes. Por fim, os dados aqui gerados também podem ser utilizados em comparações entre o perfil de expressão de espécies parasitas que utilizam estratégias semelhantes, o que certamente pode fornecer novas evidências acerca dos mecanismos moleculares subjacentes ao parasitismo em abelhas.

Referências

- Grüter C, Menezes C, Imperatriz-Fonseca VL, Ratnieks FLW. 2012. A morphologically specialized soldier caste improves colony defense in a neotropical eusocial bee. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 109:1182–1186.
- Grüter C, Segers FHID, Menezes C, Vollet-Neto A, Falcón T, von Zuben L, Bitondi MMG, Nascimento FS, Almeida EAB. 2017. Repeated evolution of soldier sub-castes suggests parasitism drives social complexity in stingless bees. *Nat Commun* 8:4.
- Sheffield CS, Pindar A, Packer L, Kevan PG. 2013. The potential of cleptoparasitic bees as indicator taxa for assessing bee communities. *Apidologie* 44:501–510.

Resumo

As abelhas constituem um grupo com mais de 20.000 espécies que apresentam uma grande variedade de comportamentos. Dentre elas, existem espécies que exploram estratégias parasíticas. Nas abelhas, são descritos três tipos de parasitismo: o parasitismo social, caracterizado por uma fêmea com capacidade reprodutiva que invade o ninho de espécies sociais e utiliza a força de trabalho das operárias hospedeiras para cuidar de sua prole; o cleptoparasitismo, observado entre espécies solitárias, e caracterizado por uma fêmea parasita que deposita ovos nos ninhos da espécie hospedeira; e a cleptobiose, caracterizada por membros de uma espécie que saqueiam alimento obtido por outra espécie. Apesar de sua importância evolutiva e ecológica, o conhecimento sobre as bases moleculares subjacentes a esses comportamentos ainda é incipiente. Nesse sentido, neste trabalho foram utilizados dados de RNA-Seq para realizar análises comparativas entre espécies de abelhas parasitas e hospedeiras nativas do Brasil, com a finalidade de identificar genes e vias metabólicas associadas aos comportamentos de cleptoparasitismo e cleptobiose. A comparação da expressão de genes ortólogos entre essas espécies resultou na identificação de genes potencialmente associados às estratégias parasíticas investigadas, e que compreendem candidatos para trabalhos futuros, abrindo e direcionando várias perspectivas de investigação com o intuito de compreender aspectos mais específicos desses comportamentos.

Abstract

Bees constitute a group with over 20,000 species that display a wide range of behaviors. Among them, there are species that exploit parasitic strategies. There are three different types of parasitism that are described in bees: social parasitism, which is characterized by a reproductive female invading the nest of a social species and using the host workers' labor to care for its offspring; cleptoparasitism, which is observed between solitary species and is characterized by a parasitic female laying eggs in the nests of the host species; and cleptobiosis, which is characterized by individuals of one species robbing food obtained by another species. Despite the significance of these behaviors in terms of evolution and ecology, we still know very little about the underlying molecular mechanisms. In this sense, RNA-Seq data were used in this study to perform comparative analyses between parasitic and host bee species native to Brazil, in order to identify genes and metabolic pathways associated with cleptoparasitism and cleptobiosis. Comparison of the expression of orthologous genes between these species resulted in the identification of genes potentially associated with the investigated parasitic strategies, which are candidates for further work, opening and directing different research perspectives that aim to understand more specific aspects of these behaviors.