

RAISSA SANTANA SERRA

**ASPECTOS MORFOMÉTRICOS E COMPORTAMENTAIS DA OVIPOSIÇÃO DE
RAINHAS E OPERÁRIAS EM DUAS ESPÉCIES DE *Scaptotrigona*
(HYMENOPTERA, APIDAE, MELIPONINI)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2016

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

Serra, Raissa Santana, 1990-
S487a Aspectos morfométricos e comportamentais da oviposição
2016 de rainhas e operárias em duas espécies de *Scaptotrigona*
(Hymenoptera, Apidae, Meliponini) / Raissa Santana Serra. –
Viçosa, MG, 2016.
vii, 39f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: José Eduardo Serrão.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. *Scaptotrigona*. 2. Abelha - Morfometria. 3. Ploidia.
4. Abelha - Comportamento. 5. Abelha - Reprodução.
6. Oviposição. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento
de Entomologia. Programa de Pós-graduação em Entomologia.
II. Título.

CDD 22. ed. 595.79

RAISSA SANTANA SERRA

**ASPECTOS MORFOMÉTRICOS E COMPORTAMENTAIS DA OVIPOSIÇÃO DE
RAINHAS E OPERÁRIAS EM DUAS ESPÉCIES DE *Scaptotrigona*
(HYMENOPTERA, APIDAE, MELIPONINI)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 22 de fevereiro de 2016.

Denilce Meneses Lopes

Lucio Antonio de Oliveira Campos

José Eduardo Serrão
(Orientador)

“Nada é insignificante aos olhos do tempo”

Dedico às minhas duas fortalezas: Elizabeth e Rita Silva Santana: mãe e vó amadas.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à minha família pelo apoio e suporte emocional;

Ao meu querido orientador José Eduardo Serrão, por me apresentar a luz que guiou os meus passos;

Ao professor Lúcio Antonio de Oliveira Campos, pelas dicas valiosas;

À professora Silvia Pômpolo pela ajuda na técnica de citogenética;

Ao professor Leandro Licursi pela ajuda e tentativa com a Citometria;

Aos amigos, sempre presentes nas horas mais necessárias: Geisyane Franco da Luz Teixeira, Edilberto Teixeira, Cristiane Marques Santos, Adriana de Fátima Diniz Souza, Eridiane Moura Lacerda e Monica Correa;

A Alan Rodrigo Ribeiro de Castro, pelas palavras gentis e dose diária de ursice;

Aos colegas do laboratório de Ultra-estrutura Celular (principalmente Luís Carlos Martinez pela ajuda com a estatística) e do Apiário, pelas dicas e gentilezas;

Aos colegas e professores do curso de Mestrado em Entomologia da UFV;

Aos técnicos: Monteiro, Íris Stanciola, Geselmino Correia (Lulu), Geraldo Paiva (Cabrito), Geraldo Ferreira (Ferreira), Antonio Alves (Toninho Alves) e Antonio Araújo (Toninho Gaiola) por toda ajuda.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CnpQ) pela concessão da bolsa.

E ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia da Universidade Federal de Viçosa, pela excelência no ensino e na pesquisa.

SUMÁRIO

RESUMO	vi
ABSTRACT	vii
INTRODUÇÃO GERAL	1
REFERÊNCIAS	6
CAPÍTULO 1	12
OVIPOSIÇÃO EM <i>Scaptotrigona postica</i> : MORFOMETRIA DOS OVOS E ASPECTOS ABIÓTICOS (HYMENOPTERA, APIDAE, MELIPONINI).	12
RESUMO	13
INTRODUÇÃO	14
MATERIAL E MÉTODOS	15
Morfometria dos Ovos	15
Precipitação Pluviométrica e Umidade Relativa	16
Análise Estatística	16
RESULTADOS	16
Morfologia dos Ovos de Rainha e Operárias ao Longo do Ano	16
Precipitação Pluviométrica e Umidade Relativa	17
DISCUSSÃO	18
REFERÊNCIAS	21
CAPÍTULO 2	24
MORFOMETRIA E PLOIDIA DOS OVOS DE RAINHA E OPERÁRIAS EM <i>Scaptotrigona xantotricha</i> (HYMENOPTERA: APIDAE)	24
RESUMO	25
INTRODUÇÃO	26
MATERIAIS E MÉTODOS	27
Estatística	29
RESULTADOS	29
DISCUSSÃO	32
REFERÊNCIAS	37
CONSIDERAÇÕES FINAIS	39

RESUMO

SERRA, Raissa Santana, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2016. **Aspectos morfométricos e comportamentais da oviposição de rainhas e operárias em duas espécies de *Scaptotrigona* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini).** Orientador: José Eduardo Serrão.

As abelhas indígenas sem ferrão (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) ocorrem em colônias eussociais permanentes que diferem em muitos aspectos de outras abelhas. A determinação de sexo em Meliponini e outros Hymenoptera ocorre por haplodiploidia: ovos não fecundados, haploides, desenvolvem-se em machos e ovos fecundados, consequentemente diploides, dão origem às fêmeas. Os ovos são colocados sobre o alimento, nas células de cria, que são operculadas em seguida. Na maioria das espécies, as operárias podem contribuir na produção da colônia, colocando ovos haploides que darão origem a machos. Em *Scaptotrigona*, geralmente os ovos reprodutivos de operárias são colocados ao lado dos ovos da rainha, o que resulta em canibalismo entre larvas. Esse fenômeno, também chamado de larvofagia obrigatória, resulta em um macho filho da operária. Já os ovos tróficos não são viáveis e são colocados na margem da célula, servindo de alimento para a rainha. Ovos reprodutivos de operárias de *S. postica* são maiores que os da rainha, e seu tamanho pode variar entre as colônias, assim como os ovos de rainha. O objetivo deste trabalho foi estudar alguns aspectos dos ovos de rainhas e operárias em *S. postica* e *S. xanthotricha*, como morfometria e ploidia dos ovos e ocorrência de canibalismo entre as larvas. Seis colônias foram utilizadas, três de *S. postica* (em São Luís – MA) e três de *S. xanthotricha* (em Viçosa – MG). Nas colônias de *S. postica*, comparou-se o tamanho dos ovos de rainhas e operárias e correlacionou-se o tamanho dos ovos da rainha com a precipitação pluviométrica total, enquanto que em *S. xanthotricha*, os ovos de rainhas e operárias foram comparados e separados para desenvolvimento e posterior sexagem da larva. A variação do tamanho do ovo da rainha de *S. postica* se deu conforme a taxa de precipitação em todas as três colônias, mesmo que estas apresentassem médias diferentes, provavelmente devido à disponibilidade de alimento que varia conforme as estações. Já em *S. xanthotricha*, o estudo confirmou a diferença de tamanho entre ovos de rainhas e operárias e a ocorrência de larvofagia, e também revelou uma maior frequência de ovos haploides de rainha acompanhando os ovos de operárias. Este trabalho lança novos olhares sobre o que rege o tamanho dos ovos de rainhas e operárias, além de trazer uma nova informação sobre os padrões de canibalismo.

ABSTRACT

SERRA, Raissa Santana, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2016. **Morphometric and behavioral aspects of queen and workers oviposition in two species of *Scaptotrigona* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini).** Adviser: José Eduardo Serrão.

The stingless bees (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) occur in eusocial permanent colonies, differing from other bees in several aspects. The sex determination in Meliponini and other Hymenoptera take place by the haplodiploidy system: non-fertilized eggs, haploids, develop into drones and fertile, diploid eggs, give rise to females. The eggs are placed on food in brood cells, which are then operculated. In most species, the workers can contribute to the production of the colony, laying eggs that give rise to haploid males. In *Scaptotrigona* usually workers' reproductive eggs are placed next to queen eggs, which results in cannibalism among larvae. This phenomenon, also called mandatory larvofagia results in a drone, workers' son. Trophic eggs are not viable and are placed at the edge of the cell, serving as food for the queen. Reproductive eggs from workers of *Scaptotrigona postica* are larger than the queen's eggs, and their size can vary between colonies, as well as the queen's eggs. The objective of this study was to learn some aspects of the eggs of queens and workers in *S. Postica* and *S. xanthotricha* such as morphology, ploidy and the occurrence of cannibalism. Six colonies were used: three of *S. Postica* (in Sao Luis - MA) and three of *S. xanthotricha* (in Viçosa - MG). In the colonies of *S. Postica*, the size of queens and workers' eggs were compared and the size of the queen's eggs were correlated with rain precipitation, while in *S. xanthotricha*, eggs queens and workers were compared and separated for development and subsequent sexing larvae. The queen's egg size variation in *S. postica* occurred according the amount of precipitation in all three colonies, even though they presented different averages, probably due to the availability of food which varies according to seasons. In *S. xanthotricha*, the study confirmed the size difference between eggs from queens and workers and the occurrence of larvophagy, and also revealed a haploid trend in queen's eggs, which are accompanied by workers' eggs. This work sheds new insights about what governs the size of the eggs of queens and workers, and bring new information about the cannibalism standards.

INTRODUÇÃO GERAL

Os insetos são uma forma de vida dominante na Terra, com diversos estilos de vida, variando de minúsculas vespas medindo 0,2 mm a enormes bichos-paus com mais de 50 cm de comprimento. O ovo dos insetos consiste basicamente de um ovócito cercado por várias camadas derivadas de células foliculares, às vezes associados a células nutridoras (trofócitos), que durante o processo de ovogênese acumulam vitelo, estabilizam os eixos polares e desenvolvem o córion (Trogakos & Margaritis 2008). Alguns fatores têm sido associados a alterações no tamanho e morfologia dos ovos dos insetos, como temperatura, alimentação e idade da fêmea, além de diferenças entre populações (Chapman 1998). Ovos de insetos ocorrem em vários formatos e podem apresentar as mais variadas estruturas, como sífões respiratórios (Nepidae, Hemiptera), pedicelos (Hymenoptera parasitoide) e pedúnculos (Chrysopidae, Neuroptera) (Chapman 1998), e também variam de diâmetro, indo de 140µm (*Acnemia amoena* – Diptera) a 10mm (*Saga pedo* – Orthoptera) (Trogakos & Margaritis 2008).

Apesar das abelhas estarem entre os insetos mais facilmente reconhecíveis, a maior parte das espécies de abelhas é solitária e desconhecida para o público leigo (Michener & Grimaldi 1988). As abelhas pertencem ao subgrupo informal Anthophila (ou Apiformes), superfamília Apoidea, apresentando mais de 20.000 espécies conhecidas no mundo, distribuídas em sete famílias (Michener 2007). Sua origem é monofilética, de vespas parasitoides Spheciformes (Crabronidae) (Alexander, 1992).

As abelhas indígenas sem ferrão (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) ocorrem em colônias eussociais permanentes que variam entre dezenas e centenas de milhares de indivíduos. Elas diferem em muitos aspectos de outras abelhas, como as abelhas melíferas (Apini), pelo ferrão atrofiado e venação reduzida das asas (Michener 2007), além de exibirem grande diversidade comportamental e fisiológica (Michener 1974). Apesar de compartilharem as características em comum da eussocialidade, apresentando sobreposição de gerações e castas bem demarcadas, o aprovisionamento das células é massal, ou seja, as operárias regurgitam todo o alimento na célula de cria antes da postura da rainha, seguido do fechamento da célula de cria (Wilson 1971; Paxton et al. 2003).

Os favos de células de cria de muitas abelhas sem ferrão são construídos em formato de discos horizontais completos, com as novas células sendo construídas na periferia do favo. Após atingir certo diâmetro, um novo favo é construído acima do anterior. Algumas variações distinguem-se pela posição vertical dos favos (*Dactylurina staudingeri*) ou células construídas em formato de cacho (*Bombus*, algumas espécies de *Plebeia*, *Frieseomelitta*, *Leurotrigona*) (Darchen & Pain 1966; Camargo 1970).

A determinação de sexo em Hymenoptera ocorre por haplodiploidia, não envolvendo cromossomos sexuais heteromórficos. Ovos não fecundados, haploides, desenvolvem-se em machos e ovos fecundados, consequentemente diploides, dão origem às fêmeas, com raras exceções (Haig 1998; van Wilgenburg et al. 2006).

Alguns mecanismos diferentes ocorrem em Hymenoptera. Um mecanismo conhecido há 60 anos e sugerido para várias espécies de abelhas, inclusive *Scaptotrigona* (Paxton et al. 2003), é o sl-CSD, sigla para “*single locus complementary sex determination*” no qual o sexo do indivíduo depende da composição alélica em um único *locus*. Neste caso, indivíduos haploides hemizigotos são machos, e indivíduos diploides são fêmeas quando o alelo se encontra em heterozigose nesse locus, e machos quando se encontra em homozigose; podendo ocorrer, portanto, a existência de machos diploides, geralmente inférteis (Michener, 1974; van Wilgenburg et al. 2006).

Em todos os Meliponini, os ovos são colocados sobre o alimento nas células de cria. O tamanho do ovo varia entre as espécies de abelhas e não parece estar relacionado positivamente com o tamanho médio do corpo, tendo em vista que abelhas maiores colocam ovos proporcionalmente menores. No entanto, dentro de uma mesma espécie, rainhas maiores produzem ovos maiores (Iwata & Sakagami 1966).

Os ovos de abelhas seguem o padrão geral dos insetos: forma elíptica alongada. Adicionalmente, são mais largos na extremidade anterior e ventralmente curvos. No entanto, algumas espécies de *Melipona* podem fugir desse padrão, apresentando uma grande variedade de formato de ovos. O córion tem escultura externa hexagonal, com poros que servem para trocas gasosas. Na região anterior há uma região micropilar, onde as esculturações hexagonais contêm perfurações. A região posterior não contém perfurações, apresentando um córion liso (Cruz-Landim 2008).

As rainhas de espécies eussociais de Hymenoptera colocam ovos diploides e haploides, produzindo fêmeas e machos, respectivamente (Hamilton 1972; Sakagami 1982), mas muitas espécies, principalmente em Meliponini, possuem operárias reprodutivas capazes de realizar postura de ovos haploides e contribuir para a produção de machos da colônia. Em várias espécies de *Scaptotrigona* e outros gêneros, as operárias podem colocar dois tipos de ovos. Os tróficos, geralmente colocados na borda da célula e usualmente ingeridos pela rainha; e os funcionais, ovipositados dentro da célula sobre o alimento. Estes últimos são os chamados reprodutivos, por desenvolverem-se normalmente dentro da célula de cria. Por não estarem fertilizados, estes ovos originam machos (Sakagami & Zucchi 1963; Beig 1972; Paxton et al. 1999; Paxton et al. 2003; Lacerda et al. 2010).

Os dois tipos de ovos de operária podem não ser facilmente distinguíveis, principalmente porque há uma grande variação comportamental na postura dos ovos. Ovos reprodutivos, por exemplo, também têm função trófica em *Trigona nigra paupera* (Sommeijer et al. 1984). E em muitas espécies de *Melipona*, ovos tróficos são colocados na superfície do alimento, exatamente como os reprodutivos (Jungnickel et al. 2001).

A oviposição de ovos funcionais pelas operárias ocorre geralmente após a postura da rainha, durante a operculação da célula de cria. No entanto, em alguns casos, a operária pode comer do ovo da rainha antes da sua postura, ou mesmo colocar o ovo antes e impedir a rainha de ovipositar (Koedam et al. 1999). Com a presença de dois ou mais ovos dentro da mesma célula de cria, ocorre a larvofagia obrigatória, em que a larva proveniente do ovo da operária geralmente se alimenta da larva ou ovo proveniente da rainha (Beig, 1972).

A capacidade de operárias colocarem ovos é remanescente de um passado evolutivo, quando os membros das colônias eram similares (Velthuis et al. 2003). Ovos tróficos podem ter sua origem de ovos reprodutivos normais, obtendo uma nova função após a preeminência reprodutiva de uma só rainha, e/ou podem ser adaptativos, como uma forma de manter os ovários ativados mesmo na presença da rainha, prontos para produzir ovos reprodutivos em sua ausência (Trivers & Hare 1976).

Os ovos tróficos de operárias não apresentam esculturação no córion, característica presente em ovos de rainha e reprodutivos de operárias (Koedam et al. 1996; Lacerda & Simões 2006; Cruz-Landim 2008; Pereira et al. 2006). Também parecem não apresentar

micrópilas e membrana nuclear (Akahira et al. 1970), o que os torna inviáveis mesmo se colocados sobre o alimento (Lacerda & Simões 2006). Sua produção pode resultar de uma ovulação precoce e imatura de um ovo funcional (Cruz-Landim & Hofling 1971) ou talvez em um desenvolvimento diferenciado (Koedam et al. 1996). A hipótese de que ovos tróficos são especializados é suportada pelo fato de que operárias nunca os protegem ou fecham dentro das células, e se afastam para que sejam ingeridos logo após a postura (Velthuis et al. 2003).

Ovos reprodutivos de operárias de *Scaptotrigona postica* são maiores que os da rainha (Beig 1972). Isso também acontece em outras espécies, como *Melipona asilvai* (Pereira et al. 2009) e também no gênero *Apis* (Gençer & Woyke 2006). O maior tamanho dos ovos reprodutivos de operárias em *Apis mellifera* está ligado a um maior tempo de desenvolvimento em relação aos ovos de rainha. O desenvolvimento mais lento desses ovos resulta no maior volume e ao maior investimento energético, por parte das operárias, na produção de um reduzido número de ovos (Wegener et al. 2009).

A reprodução pelas operárias pode ser esperada em espécies em que a colônia é monândrica, ou seja, as rainhas acasalam-se somente uma vez. Dessa forma, as operárias compartilham 25% dos genes com irmãos, 37.5% com sobrinhos e 50% com filhos, sendo então geneticamente vantajoso para as operárias produzirem machos (Trivers & Hare 1976; Ratnieks 1988; Peters et al. 1999). Tal fenômeno ocorre em várias espécies, como *Melipona favosa* (Sommeijer et al. 1999), mas em outras, a participação das operárias é reduzida, como em *Melipona beechei* (Paxton et al. 2001), ou mesmo ausente em *Geotrigona mombuca* (Lacerda & Zucchi 1999), *Tetragonisca angustula* (Grosso et al. 2000; Koedam et al. 1996), *Frieseomelitta* (Staurengo et al. 1986) e *Duckeola ghilianii* (Sakagami & Zucchi 1968). Essa diferença em espécies relativamente próximas mostra a plasticidade comportamental de Meliponini (Tóth et al. 2002). Assim, os machos podem ser produzidos quase totalmente pelas operárias, por ambas as castas ou exclusivamente pelas rainhas (Contel & Kerr 1976; Drumond et al. 2000; Green & Oldroyd 2002; Palmer et al. 2002; Paxton et al. 2003; Tóth et al. 2002).

Em *S. postica* as operárias eram consideradas responsáveis por grande parte da produção de machos, já que há uma alta frequência de operárias com ovários ativados e células com ovos produzidos por elas (Beig 1972; Bego 1982; Bego 1990). No entanto, estudos genéticos

têm encontrado divergências na maternidade dos machos, mostrando que, mesmo com a assimetria de parentesco e operárias reprodutivas, as rainhas podem ser as detentoras da produção de macho das colônias (Palmer et al. 2002; Paxton et al. 2003). Consequentemente, a real contribuição de cada uma dessas castas na produção de machos ainda não foi plenamente estabelecida.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a variação morfométrica dos ovos de rainhas e operárias de *S. postica* e *S. xanthotricha*, correlacionando os ovos de rainhas de *S. postica* com a precipitação pluviométrica e determinando a ploidia dos ovos de rainha em *S. xanthotricha*.

REFERÊNCIAS

- Akahira, Y., Sakagami, S.F. & Zucchi, R., 1970. Die Nöhreier von den Arbeiterinnen einer stachellosen Bien, *Trigona (Scaptotrigona) postica*, die von Königin Kurz vor der eigenen. Zoologischer Anzeiger, 85, pp.85–93.
- Alexander, B. A., 1992. An exploratory analysis of cladistic relationships within the superfamily Apoidea, with special reference to sphecid wasps (Hymenoptera). Journal of Hymenoptera Research, 1(1), pp.25–61.
- Bego, L.R., 1990. On social regulation in *Nannotrigona (Scaptotrigona) postica* Latreille with special reference to productivity of colonies (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). Revista Brasileira de Entomologia, 34(4), pp.721–738.
- Bego, L.R., 1982. On social regulation in *Nannotrigona (Scaptotrigona) postica* Latreille, with special reference to male production cycles (Hym., Apidae, Meliponinae). Boletim de Zoologia, 7, pp.181–196.
- Beig, D., 1972. The production of males in queenright colonies of *Trigona (Scaptotrigona) postica*. Journal of Apicultural Research, 11(1), pp.33–39.
- Camargo, J.M.F. de, 1970. Ninhos e biologia de algumas espécies de Meliponideos (Hymenoptera: Apidae) da região de Porto Velho, Território de Rondônia, Brasil. Revista de Biologia Tropical, 16(2), pp.207–239.
- Chapman, R.F., 1998. The Insects: Structure and Function 5th ed., Cambridge University Press.
- Contel, E.P.B. & Kerr, W.E., 1976. Origin of males in *Melipona subnitida* estimated from data of an isozymic polymorphic system. Genetica, 46, pp.271–277.
- Cruz-Landim, C. da, 2008. Abelhas: Morfologia e Função de Sistemas, São Paulo: Unesp.
- Cruz-Landim, C. da & Hofling, M.A. da C., 1971. Cytochemical and ultrastructural studies on eggs from workers and queen of *Trigona*. Revista Brasileira de Pesquisa Médica e Biológica, 4(1-2), pp.19–25.

- Darchen, R. & Pain, J., 1966. Le nid de *Trigona (Dactylurina) staudingeri* Gribodoi, (Hymenoptera: Apidae). Biol. Gabonica, 2, pp.25–35.
- Drumond, P.M., Oldroyd, B.P. & Osborne, K., 2000. Worker reproduction in *Austroplebeia australis* Friese (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). Insectes Sociaux, 47, pp.333–336.
- Faustino, C.D. et al., 2002. First record of emergency queen rearing in stingless bees (Hymenoptera, Apinae, Meliponini). Insectes Sociaux, 49, pp.111–113.
- Gençer, H.V. & Woyke, J., 2006. Eggs from *Apis mellifera caucasica* laying workers are larger than from queens. Journal of Apicultural Research, 47(4), pp.173–179.
- Green, C.L. & Oldroyd, B.P., 2002. Queen mating frequency and maternity of males in the stingless bee *Trigona carbonaria* Smith. Insectes Sociaux, 49, pp.196–202.
- Grosso, A.F., Bego, L.R. & Martinez, A.S., 2000. The production of males in queenright colonies of *Tetragonisca angustula angustula* (Hymenoptera, Meliponinae). Sociobiology, 35(3), pp.475–485.
- Haig, D., 1998. Mother's boy or daddy's girl? Sex determination in Hymenoptera. Trends in Ecology and Evolution, 13(10), pp.380–381.
- Hamilton, W.D., 1972. Altruism and Related Phenomena, Mainly in Social Insects. Annual Review of Ecology and Systematics, 3(1972), pp.193–232.
- Iwata, K. & Sakagami, S.F., 1966. Gigantism and dwarfism in bee eggs in relation to the models of life, with notes on the number of ovarioles. Japanese Journal of Ecology, 16(1), pp.4–16.
- Jungnickel, H. et al., 2001. Chemical properties allow stingless bees to place their eggs upright on liquid larval food. Physiological Entomology, 26, pp.300–305.
- Kerr, W.E., 1950. Genetic Determination of Castes in the Genus *Melipona*. Genetics, 35, pp.143–152.
- Koedam, D. et al., 1996. Morphology of reproductive and trophic eggs and their controlled release by workers in *Trigona (Tetragonisca) angustula* Illiger (Apidae, Meliponinae). Physiological Entomology, 21(4), pp.289–296.

- Koedam, D., Contrera, F.A.L. & Imperatriz-Fonseca, V.L., 1999. Clustered male production by workers in the stingless bee *Melipona subnitida* Ducke (Apidae, Meliponinae). *Insectes Sociaux*, 46, pp.387–391.
- Lacerda, L. de M., Paulino Simões, Z.L. & Velthuis, H.H.W., 2010. The sharing of male production among workers and queens in *Scaptotrigona depilis* (Moure, 1942) (Apidae, Meliponini). *Insectes Sociaux*, 57, pp.185–192.
- Lacerda, L. de M. & Simões, Z.L.P., 2006. Ovos produzidos por rainhas e operárias de *Scaptotrigona depilis* (Hymenoptera, Apidae, Meliponina): morfometria e aspectos relacionados. *Iheringia. Série Zoologia*, 96(1), pp.89–93.
- Lacerda, L. de M. & Zucchi, R., 1999. Behavioral alteration and related aspects in queenless colonies of *Geotrigona mombuca* (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). *Sociobiology*, 33(3), pp.277–288.
- Michener, C.D., 2007. *The Bees of the World* 2nd ed., Baltimore: The Johns Hopkins University Press.
- Michener, C.D., 1974. *The social behavior of the bees: a comparative study*, Cambridge, Massachussets: Belknap Press.
- Michener, C.D. & Grimaldi, D.A., 1988. A *Trigona* from late cretaceous amber of New Jersey (Hymenoptera: Apidae: Meliponinae). *American Museum Novitates*, 2917, pp.1–10.
- Palmer, K.A. et al., 2002. Paternity frequency and maternity of males in some stingless bee species. *Molecular Ecology*, 11, pp.2107–2113.
- Paxton, R.J. et al., 2003. Low mating frequency of queens in the stingless bee *Scaptotrigona postica* and worker maternity of males. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 53, pp.174–181.
- Paxton, R.J. et al., 1999. Not only single mating in stingless bees. *Naturwissenschaften*, 86(1997), pp.143–146.

- Paxton, R.J. et al., 2001. Social evolution in stingless bees: are the workers or is the queen in control of male parentage? In J. J. G. Quezada-Euán, ed. II Seminario mexicano sobre abejas sin aguijón. Mérida, México: Univ. Autónoma de Yucatan, pp. 104–107.
- Pereira, R.A. et al., 2006. Comparative morphology of reproductive and trophic eggs in *Melipona* Bees (Apidae, Meliponini). Brazilian Journal of Morphological Sciences, 23, pp.349–354.
- Pereira, R.A. et al., 2009. Intrinsic colony conditions affect the provisioning and oviposition process in the stingless bee *Melipona scutellaris*. Genetics and Molecular Research, 8(2), pp.725–729.
- Peters, J.M. et al., 1999. Mate number, kin selection and social conflicts in stingless bees and honeybees. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 266, p.379.
- Ratnieks, F.L.W., 1988. Reproductive harmony via mutual policing by workers in eusocial Hymenoptera. The American Naturalist, 132(2), pp.217–236.
- Sakagami, S.F., 1982. Stingless Bees. In Social insects. New York: Academic Press, pp. 361–423.
- Sakagami, S.F. & Zucchi, R., 1968. Oviposition behavior of an Amazonic Stingless Bee, *Trigona (Duckeola) ghiliani*. Journal of the Faculty of Science Hokkaido University Serie VI Zoology, 16, pp.564–581.
- Sakagami, S.F. & Zucchi, R., 1963. Oviposition process in a stingless bee, *Trigona (Scaptotrigona) postica* Latr. (Hym.). Studia Entomologica, 6, pp.1–4.
- Sommeijer, M.J., Chinh, T.X. & Meeuwsen, F.J.A.J., 1999. Behavioural data on the production of males by workers in the stingless bee *Melipona favosa* (Apidae, Meliponinae). Insectes Sociaux, 46, pp.92–93.
- Sommeijer, M.J., van Zeijl, M. & Dohmen, M.R., 1984. Morphological differences between worker-laid eggs from a queenright colony and a queenless colony of *Melipona rufiventris paraensis* (Hymenoptera: Apidae). Entomologische Berichten, 446, pp.91–95.

- Staurengo da Cunha, M.A., 1979. Dinâmica da ovogênese de *Scaptotrigona postica* Latreille 1807 (Hymenoptera: Apidae). Rio Claro. 185 p. Tese de Doutorado - Universidade Estadual Paulista.
- Tóth, E. et al., 2002. Genetic and behavioral conflict over male production between workers and queens in the stingless bee *Paratrigona subnuda*. Behavioral Ecology and Sociobiology, 53, pp.1–8.
- Triplehorn, C.A.J. & Borror, N.F., 2005. Borror and DeLong's Introduction to the Study of Insects, Australia: Thomson.
- Trivers, R.L. & Hare, H., 1976. Haplodiploidy and the evolution of the social insect. Science, 191(4224), pp.249–263.
- Trougakos, I.P. & Margaritis, L.H., 2008. Novel Morphological and Physiological Aspects of Insect Eggs. In Chemoecology of Insect Eggs and Egg Deposition. pp. 2–36. Available at: <http://dx.doi.org/10.1002/9780470760253.ch1>.
- Velthuis, H.H.W. et al., 2003. Cooperation and competition in a colony of the polygynous stingless bee *Melipona bicolor*, illustrated by two kinds of worker eggs and the behaviours of workers laying them. Proceedings of the Section Experimental and applied Entomology of the Netherlands Entomological Society (NEV), 14(1982), pp.49–52.
- Velthuis, H.H.W., Koedam, D. & Imperatriz-Fonseca, V.L., 2005. The males of *Melipona* and other stingless bees, and their mothers. Apidologie, 36, pp.169–185.
- Velthuis, H.H.W. & Sommeijer, M.J., 1991. Roles of Morphogenetic Hormones in Caste Polymorphism in Stingless Bees. In Morphogenetic Hormones of Arthropodes. Rutgers Univ. Press, pp. 346–383.
- Wegener, J., Lorenz, M.W. & Bienefeld, K., 2009. Physiological consequences of prolonged nursing in the honey bee. Insectes Sociaux, 56(1), pp.85–93.
- van Wilgenburg, E., Driessen, G. & Beukeboom, L.W., 2006. Single locus complementary sex determination in Hymenoptera: an “unintelligent” design? Frontiers in Zoology, 3, p.1.

Wilson, E.O., 1971. *The Insect Societies*, Harvard, Cambridge, Massachusetts: University Press.

CAPÍTULO 1

OVIPOSIÇÃO EM *Scaptotrigona postica*: MORFOMETRIA DOS OVOS E ASPECTOS ABIÓTICOS (HYMENOPTERA, APIDAE, MELIPONINI).

RESUMO

O tamanho dos ovos em abelhas tem sido associado a fatores como morfologia e comportamento das rainhas, densidade populacional e alimento estocado. Em *Apis mellifera*, os ovos apresentam variação sazonal, mas estes estudos são raros para abelhas sem ferrão (tribo Meliponini). A sazonalidade regula o comportamento de abelhas sem ferrão do sul e sudeste do Brasil, mas parte das espécies de Meliponini, como *Scaptotrigona postica* Latreille, 1807 são encontradas próximas aos trópicos com a sazonalidade restringindo-se a duas estações aparentes, seca e chuvosa. O objetivo deste estudo foi avaliar o tamanho dos ovos de rainhas e operárias de *Scaptotrigona postica* Latreille, 1807 e determinar a influência da precipitação pluviométrica sobre os ovos da rainha. Três colônias presentes em São Luís, Maranhão, Brasil, mantidas em caixas de observação, foram observadas com a retirada de favos das mesmas a cada 40 dias, de junho de 2009 a dezembro de 2010. As células desses favos foram desoperculadas para contagem e medição dos ovos com auxílio de microscópio estereoscópico. Um total de 856 ovos foram contados e o tamanho dos mesmos correlacionado com dados de precipitação total obtidos do Banco de Dados Meteorológicos para Ensino e Pesquisa (BDMEP). O comprimento dos ovos das rainhas de *S. postica* diferiu entre as três colônias e entre meses, sendo menores que os das operárias nas três colônias. A análise de Componentes Principais mostrou que o comprimento de ovos da rainha das três colônias apresentou correlação positiva com a precipitação total, com maior precipitação resultando em ovos de maior tamanho da rainha nas três colônias. A Mata de Transição presente na região de São Luís, onde as abelhas foram coletadas, apresenta floração de abril a julho, meses com maior precipitação. Isso indica que os recursos florais devem ser os fatores principais afetando o tamanho dos ovos de rainhas de *S. postica*, pois a correlação positiva entre o tamanho dos ovos destas rainhas e a abundância de chuvas deve-se, possivelmente, a concomitância entre floradas e estação chuvosa na região estudada. Este trabalho mostra que a precipitação pluviométrica afeta o tamanho dos ovos de rainhas de *S. postica*, já que os maiores ovos foram encontrados nos meses com maior taxa de precipitação.

Palavras-chaves: *Scaptotrigona postica*, ovos, Meliponini.

INTRODUÇÃO

O tamanho dos ovos da rainha e a produção de machos, por rainhas e/ou operárias, tem sido associada a fatores como morfologia dos ovos, aspectos fisiológicos e comportamentais da rainha e das operárias (Beig 1972; Velthuis et al. 2005; Lacerda et al. 2010), densidade populacional e quantidade de alimento estocado (Beig 1972; Bego 1982; Sommeijer et al. 2003).

A hipótese de que apenas em colônias populosas e com muito alimento estocado as operárias produziram machos (Bego 1982; Bego 1990) tem sido questionada, pois colônias de algumas espécies, em ótimas condições, não apresentam células com posturas de operárias (Chinh et al. 2003; Paxton et al. 2003; Lacerda et al. 2010). Além disso, há indícios de que colônias enfraquecidas podem produzir machos (Lacerda & Simões 2006a).

Fatores sazonais têm sido associados ao início ou controle da produção de machos em Meliponini (Velthuis et al. 2005). Apesar da sazonalidade na produção de machos ter sido observada em algumas espécies, como as do gênero *Apis* (Boes 2010) e *Melipona* (Van Veen et al. 1990; Van Veen et al. 2004; Moo-Valle et al. 2001), pouco se sabe sobre o efeito da temperatura e umidade (fora ou dentro das colônias) no desenvolvimento dos ovos e produção de machos. Em *Apis*, por exemplo, temperatura e umidade influenciam o tempo de desenvolvimento da larva, a taxa de mortalidade da cria e o comportamento do indivíduo adulto (Tautz et al. 2003; Jones et al. 2005). A umidade também é particularmente importante para os ovos colocados por operárias, porque estes são mais sensíveis à dessecação que os da rainha (Wegener et al. 2010).

Bego (1982) sugeriu que fatores extrínsecos, tais como temperatura e precipitação não são determinantes imediatos da produção de machos em *S. postica*, e que a produtividade está relacionada com a alta densidade populacional, podendo ser indiretamente consequência das condições da colônia, como a quantidade estocada de mel e pólen. Estudos em Meliponini sobre estes aspectos, todavia, são raros.

O objetivo deste trabalho foi acompanhar a variação do tamanho dos ovos de rainhas e operárias, testando a relação entre pluviosidade e umidade relativa com o tamanho dos ovos de rainhas em *Scaptotrigona postica*.

MATERIAL E MÉTODOS

Três colônias fortes (A, B e C) de *S. postica*, instaladas no meliponário do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Maranhão foram utilizadas neste trabalho, de junho de 2009 a dezembro de 2010. A colônia foi considerada forte quando apresentava favos medindo em torno de 10 cm de diâmetro, e cujos POPs – Provisioning Oviposition Process (Lacerda et al. 1991; Lacerda & Zucchi 1999) ocorriam aproximadamente a cada 180 minutos, cada um envolvendo de 15 a 30 células.

As três colônias receberam alimento *ad libitum* a cada quatro dias, constituído de uma mistura de solução próxima à saturação de água e açúcar.

Morfometria dos Ovos

Para contagem, medição dos ovos e estimativa da reprodução das operárias, um favo novo de aproximadamente 5 cm de diâmetro (contendo ovos de até 24h) foi retirado a cada quarenta dias de cada colônia. O favo teve as células desoperculadas para contagem e medição dos ovos com auxílio de um microscópio estereoscópico, com um total de 856 ovos (Figura 1). Ovos de rainhas e operárias foram diferenciados conforme o tamanho: ovos de operárias são maiores que os da rainha em duas espécies de *Scaptotrigona* (Beig, 1972; Lacerda & Simões, 2006).

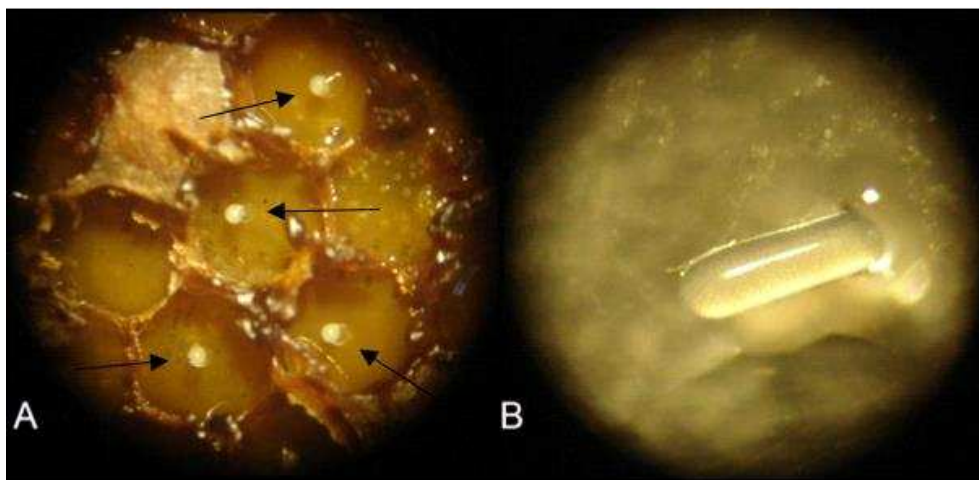


Figura 1: A. Favo de cria de *Scaptotrigona postica* com células desoperculadas para retirada dos ovos (indicados pelas setas). B - Ovo retirado da célula.

Precipitação Pluviométrica e Umidade Relativa

Os dados de pluviosidade e umidade relativa foram calculados de acordo com a taxa total e média mensal, respectivamente, obtidas do Banco de Dados Meteorológicos para Ensino e Pesquisa (BDMEP), um banco de dados que apoia as atividades de ensino e pesquisa e outras aplicações em meteorologia, hidrologia e recursos hídricos. O Banco abriga dados meteorológicos diários em forma digital, das várias estações meteorológicas convencionais da rede de estações do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), referentes às medições diárias de acordo com as normas técnicas internacionais da Organização Meteorológica Mundial.

Análise Estatística

Para análise dos dados, utilizaram-se os seguintes testes:

- Teste t para diferença entre o comprimento dos ovos de rainhas e operárias;
- Teste Anova para avaliar a variação dos comprimentos de ovos de rainhas entre colônias;
- Teste de Análise de Componentes Principais (PCA) para analisar a relação entre pluviosidade e comprimento dos ovos.

O nível de significância adotado para todos os testes foi de 0.05, realizados nos programas de computador Statistica 7 (Teste T e Anova) e XLSTAT 7.5.2 (PCA).

RESULTADOS

Morfologia dos Ovos de Rainha e Operárias ao Longo do Ano

O comprimento médio dos ovos das rainhas de *S. postica* diferiu entre as três colônias ($F = 72,08$, $p = 0,001$ $n = 575$) e variou ao longo dos meses (Fig. 2), sendo menores que os das operárias nas três colônias (colônia A: $t = -1,90$, $p < 0,000,1$ $n = 27$; colônia B: $t = -3,6548$ $p = 0.0004$, $n = 20$; colônia C: $t = -3,6708$ $p = 0,0004$, $n = 14$) (Tabela 1).

Tabela 1. Comprimento (média $\pm$ dp) dos ovos de rainhas e operárias nas três colônias de *Scaptotrigona postica*.

Colônia	Rainha (mm)	Operária (mm)
A	1,15 $\pm$ 0,047	1,27 $\pm$ 0,48
B	1,20 $\pm$ 0,044	1,32 $\pm$ 0,054
C	1,17 $\pm$ 0,051	1,24 $\pm$ 0,075

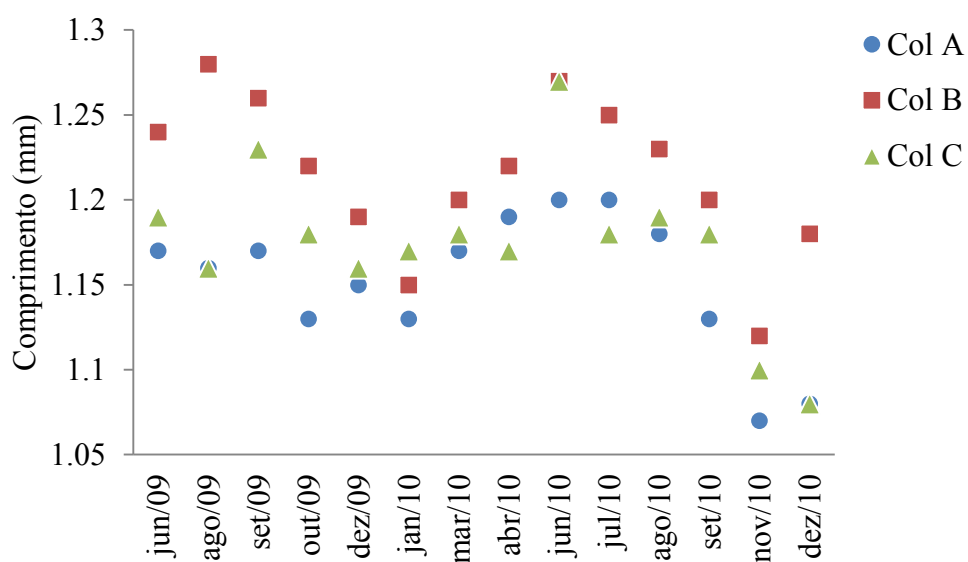


Figura 2: Variação do comprimento dos ovos produzidos por rainhas de *Scaptotrigona postica* nas três colônias (A, B e C) ao longo dos meses de estudo.

Precipitação Pluviométrica e Umidade Relativa

A pluviosidade total variou durante o período estudado, com maior intensidade em abril de 2010, enquanto os meses mais secos foram setembro e outubro de 2009 e agosto e setembro de 2010. Já a umidade relativa média permaneceu constante durante os meses de estudo (Fig. 3).

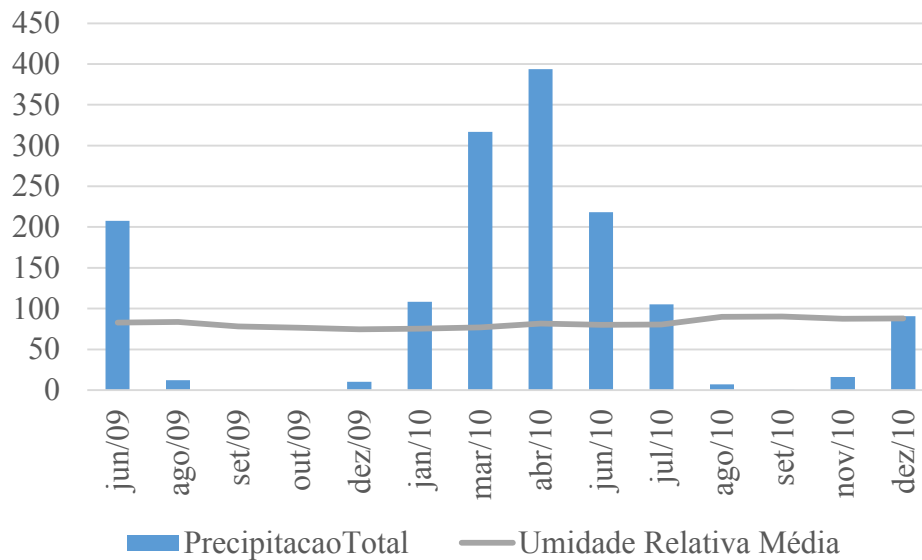


Figura 3: Precipitação total e umidade relativa média em São Luís/MA durante os meses de estudo. Dados do BDMEP.

As três colônias apresentaram correlação positiva entre a precipitação total e a média do comprimento de ovos da rainha, com maior precipitação resultando em maior tamanho dos ovos da rainha nas três colônias ($\chi^2 = 19.175$; $p < 0.00000$).

DISCUSSÃO

O comprimento médio dos ovos produzidos por rainhas das três colônias (1,19 mm) foi semelhante aos valores encontrados por Beig (1972) na mesma espécie (1,18 mm) e por Lacerda et al. (2006) em *Scaptotrigona depilis* (1,16 mm). Rainhas de *Scaptotrigona sp* apresentam ovos comparativamente pequenos em relação a muitas outras espécies de Meliponini. A maior parte das espécies de *Melipona* produzem ovos maiores, com sua média variando entre 2 mm (*Meliponula bocandei*) e 3,3 mm (*Melipona seminigra merrillae*). Entre as espécies de menor tamanho corporal que apresentam ovos menores que os de *Scaptotrigona sp*, estão *Plebeia droryana*, *Plebeia emerina* e *Geotrigona sp.* (1,1mm) (Iwata & Sakagami 1966).

O comprimento médio dos ovos de operária foi $1,30 \pm 0,18$ mm. Como observado por Beig (1972), ovos produzidos por operárias foram significativamente maiores que os de

rainha. Esse padrão parece ser encontrado em muitas espécies de Meliponini (Cruz-Landim 2000; Lacerda & Simões 2006b), e também no gênero *Apis* (Gençer & Woyke 2006).

Operárias de outras espécies de Meliponini também possuem ovos maiores em relação aos da rainha (Iwata & Sakagami 1966; Lacerda & Simões 2006b), o que pode ser resultado da relação entre tamanho/volume e o número dos ovos produzidos pelas abelhas. Como operárias produzem poucos ovos durante sua curta vida, elas podem investir mais energia na produção dos mesmos, resultando em ovos de maior tamanho, por conterem mais vitelo (Gençer & Woyke 2006; Wegener et al. 2010). As rainhas, por outro lado, produzem grande número de ovos, sendo então menores resultando em economia de energia.

A variação do tamanho dos ovos das rainhas entre colônias de *S. postica* era esperada, pois rainhas da mesma espécie podem apresentar corpos e ovários de tamanhos diferentes, assim como diferentes taxas de postura. Além disso, cada colônia apresenta combinações específicas de densidade populacional e quantidade de alimento estocado, fatores que afetam a capacidade reprodutiva das fêmeas, e a energia pode ser investida não somente no número de ovos, mas também no seu tamanho (Iwata & Sakagami, 1966), como reportado para vespas solitárias, em que há uma relação entre alimentação, tamanho e número dos ovos (Iwata 1942).

A variação do comprimento dos ovos de *S. postica* ao longo do ano teve o mesmo padrão nas três colônias, em uma correlação positiva com a precipitação pluviométrica. Esse resultado indica uma correlação entre o comprimento dos ovos e fatores sazonais, pois os maiores ovos ocorrem nos meses com maiores quantidades de chuva. Embora todas as colônias estivessem fortes, é comum a ocorrência de diferenças na produtividade, população e quantidade de alimento estocado, que variam entre colônias e também ao longo das estações do ano (Ferreira et al. 2013), que em São Luís se destacam pela existência de um longo período chuvoso seguido por um de seca. Variações no tamanho do ovo ao longo das estações do ano também ocorrem em espécies de *Apis* devido à alteração da disponibilidade de alimento ao longo do ano (Woyke 1994).

O período com maior disponibilidade vegetal na região dos trópicos coincide com o fim da estação chuvosa, geralmente julho (O' Toole & Raw 1991; Gonçalves et al. 1996), no entanto, os meses de floração variam conforme o bioma. A Mata de Transição presente na

região de São Luís, onde as abelhas foram coletadas, apresentam o período de floração de abril a julho (Araújo 2013), os meses em que ocorreu maior precipitação durante o período avaliado neste estudo. Isso indica que os recursos florais devem ser os fatores principais na variação do tamanho dos ovos deste estudo, embora outros fatores, como foto-período, e temperatura possam agir sinergicamente para o aumento do tamanho dos ovos.

Este estudo mostra que há correlação positiva entre o tamanho dos ovos da rainha e a abundância de chuvas, possivelmente em consequência da concomitância entre floradas e estação chuvosa na região estudada, mostrando que a disponibilidade de alimento é importante na quantidade de nutrientes disponíveis no ovo para o desenvolvimento do embrião.

REFERÊNCIAS

- Araújo, R., 2013. Potencial do Maranhão na Apicultura. Available at: <http://www.apacame.org.br/mensagemdoce/122/artigo4.htm> [Accessed January 26, 2016].
- Bego, L.R., 1990. On social regulation in *Nannotrigona (Scaptotrigona) postica* Latreille with special reference to productivity of colonies (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). *Revista Brasileira de Entomologia*, 34(4), pp.721–738.
- Bego, L.R., 1982. On social regulation in *Nannotrigona (Scaptotrigona) postica* Latreille, with special reference to male production cycles (Hym., Apidae, Meliponinae). *Boletim de Zoologia*, 7, pp.181–196.
- Beig, D., 1972. The production of males in queenright colonies of *Trigona (Scaptotrigona) postica*. *Journal of Apicultural Research*, 11(1), pp.33–39.
- Boes, K.E., 2010. Honeybee colony drone production and maintenance in accordance with environmental factors: An interplay of queen and worker decisions. *Insectes Sociaux*, 57, pp.1–9.
- Chinh, T.X. et al., 2003. Patterns of male production in the stingless bee *Melipona favosa* (Apidae, Meliponini). *Apidologie*, 34, pp.161–170.
- Cruz-Landim, C. da, 2000. Ovarian development in Meliponine bees (Hymenoptera: Apidae): The effect of queen presence and food on worker ovary development and egg production. *Genetics and Molecular Biology*, 23(1), pp.83–88.
- Ferreira, N.T., Blochtein, B. & Serrão, J.E., 2013. Seasonal production and spatial distribution of *Melipona bicolor schencki* (Apidae; Meliponini) castes in brood combs in southern Brazil. *Apidologie*, 44(2), pp.176–187.
- Gençer, H.V. & Woyke, J., 2006. Eggs from *Apis mellifera caucasica* laying workers are larger than from queens. *Journal of Apicultural Research*, 47(4), pp.173–179.

- Gonçalves, S.J.M., Rêgo, M. & Araújo, A., 1996. Abelhas sociais (Hymenoptera: Apidae) e seus recursos florais em uma região de mata secundária, Alcântara, MA, Brasil. *Acta Amazonica*, 26, pp.55–68.
- Iwata, K., 1942. *Comparative studies on the habits of solitary wasps*, Tenthredo, 4, 1–146.
- Iwata, K. & Sakagami, S.F., 1966. Gigantism and dwarfism in bee eggs in relation to the models of life, with notes on the number of ovarioles. *Japanese Journal of Ecology*, 16(1), pp.4–16.
- Jones, J.C. et al., 2005. The effects of rearing temperature on developmental stability and learning and memory in the honey bee, *Apis mellifera*. *Journal of comparative physiology A*, 191, pp.1121–1129.
- Lacerda, L. de M., Paulino Simões, Z.L. & Velthuis, H.H.W., 2010. The sharing of male production among workers and queens in *Scaptotrigona depilis* (Moure, 1942) (Apidae, Meliponini). *Insectes Sociaux*, 57, pp.185–192.
- Lacerda, L. de M. & Simões, Z.L.P., 2006a. Effects of internal colony conditions on the size off eggs laid by queens of *Scaptotrigona depilis* (Apidae, Meliponinae). *Sociobiology*, 47(1), pp.85–97.
- Lacerda, L. de M. & Simões, Z.L.P., 2006b. Ovos produzidos por rainhas e operárias de *Scaptotrigona depilis* (Hymenoptera, Apidae, Meliponina): morfometria e aspectos relacionados. *Iheringia. Série Zoologia*, 96(1), pp.89–93.
- Lacerda, L. de M. & Zucchi, R., 1999. Behavioral alteration and related aspects in queenless colonies of *Geotrigona mombuca* (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). *Sociobiology*, 33(3), pp.277–288.
- Lacerda, L. de M., Zucchi, R. & Zucoloto, F.S., 1991. Colony Condition and Bionomic alterations in *Geotrigona inusitata* (Apidae, Meliponinae). *Acta Biologica Paranaense*, 20(1, 2, 3, 4), pp.109–123.

- Moo-Valle, H., Quezada-Euán, J.J.G. & Wenseleers, T., 2001. The effect of food reserves on the production of sexual offspring in the stingless bee *Melipona beecheii* (Apidae, Meliponini). *Insectes Sociaux*, 48, pp.398–403.
- O' Toole, C. & Raw, A., 1991. *Bees of the World*, London, Blandford.
- Paxton, R.J. et al., 2003. Low mating frequency of queens in the stingless bee *Scaptotrigona postica* and worker maternity of males. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 53, pp.174–181.
- Sommeijer, M.J., Bruijn, L.L.M. de & Meeuwsen, F.J.A.J., 2003. Reproductive behaviour of stingless bees: solitary gynes of *Melipona favosa* (Hymenoptera : Apidae, Meliponini) can penetrate existing nests. *Entomologische Berichten*, 63(2), pp.31–35.
- Tautz, J. et al., 2003. Behavioral performance in adult honey bees is influenced by the temperature experienced during their pupal development. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(12), pp.7343–7347.
- Van Veen, J.W., Arce, H.G.A. & Sommeijer, M.J., 2004. Production of queens and drones in *Melipona beecheii* (Meliponini) in relation to colony development and resource availability. *Proceedings of the Netherlands Entomological Society Meeting*, 15, pp.35–39.
- Van Veen, J.W., Arce, H.G.A. & Sommeijer, M.J., 1990. Tropical Beekeeping: the Production of Males in Stingless Bees (*Melipona*). *Experimental and Applied Entomology : Proceedings of the Netherlands Entomological Society (N E V)*, Vol 1, pp.171–176.
- Velthuis, H.H.W., Koedam, D. & Imperatriz-Fonseca, V.L., 2005. The males of *Melipona* and other stingless bees, and their mothers. *Apidologie*, 36, pp.169–185.
- Wegener, J., Lorenz, M.W. & Bienefeld, K., 2010. Differences between queen- and worker-laid male eggs of the honey bee (*Apis mellifera*). *Apidologie*, 41, pp.116–126.
- Woyke, J., 1994. Comparison of the size of eggs from *Apis mellifera* L queens and laying workers. *Apidologie*, 25, pp.179–187.

CAPÍTULO 2

MORFOMETRIA E PLOIDIA DOS OVOS DE RAINHA E OPERÁRIAS EM *Scaptotrigona xantotricha* (HYMENOPTERA: APIDAE)

RESUMO

Presente na maioria dos Hymenoptera, o sistema haplodiploide, que consiste na determinação de sexo do indivíduo de acordo com sua ploidia, em conjunto com a variação comportamental das operárias, suscita questões a respeito da reprodução das operárias, assim como possíveis gatilhos que levam à ativação dos ovários e oviposição nestes insetos. Teorias sobre o canibalismo em espécies eussociais, como *Scaptotrigona xanthotricha*, sugerem a importância do reconhecimento do sexo e parentesco das larvas, devido à ocorrência de alocação sexual, pois as operárias favorecem primeiramente as irmãs e os sobrinhos, em detrimento dos irmãos. Ou seja, as operárias podem substituir os ovos haploides da rainha ou das outras operárias pelos próprios ovos, enquanto a rainha tenta produzir todos os machos. Apesar dessa assimetria, não há registros sobre possíveis diferenças entre os ovos de rainha encontrados separadamente ou junto a outros, colocados por operárias. Portanto, o objetivo desse estudo foi determinar a ploidia dos ovos acompanhados por posturas de operárias. Para isso, três colônias de *S. xanthotricha* foram utilizadas. Favos de cria foram retirados das colônias e as células desoperculadas para retirada dos ovos, que foram mensurados de acordo com sua condição de solitário ou acompanhado, além de distinguidos por tamanho. Ovos, de acordo com sua condição, foram incubados até larvas/pupas para sexagem. Do total de ovos acompanhados, 60,7% originaram machos, enquanto dos ovos solitários 96,6% originaram fêmeas. A frequência de ovos diploides em células contendo somente um ovo foi maior que aqueles em células contendo dois. Este trabalho suporta a possibilidade de a ploidia do ovo poder ser identificada pelas operárias, pois quando há postura de operária, frequentemente o ovo da rainha é haploide.

Palavras-chave: *Scaptotrigona xanthotricha*, haplodiploidia, larvofagia

INTRODUÇÃO

Os conflitos sociais existentes em colônias de himenópteros têm recebido atenção desde a descoberta da participação das operárias de várias espécies na produção de machos. O sistema haplodiploide em conjunto com a variação comportamental das operárias suscita questões a respeito da reprodução das operárias, assim como possíveis gatilhos que levam à ativação dos ovários e oviposição nestes insetos. O sistema haplodiploide consiste na determinação do sexo do indivíduo de acordo com a sua ploidia. Ovos fertilizados, diploides, dão origem a fêmeas, enquanto ovos não fertilizados, haploides, dão origem a machos (Haig 1998).

Em *Apis mellifera*, as operárias têm a ativação dos folículos ovarianos suprimida por feromônios disseminados pela rainha (Fletcher & Ross 1985). Os poucos ovos colocados pelas operárias são quase sempre ingeridos por outras operárias, em um fenômeno chamado de policiamento. Operárias de *A. mellifera* podem reconhecer a maternidade dos ovos, se da rainha ou da operária, mas não sua ploidia, enquanto que durante o estágio larval ocorre o contrário, com as operárias distinguindo o sexo, mas não a origem da cria (Ratnieks & Visscher 1989). A hipótese para esse reconhecimento dos ovos durante o policiamento é que os ovos da rainha carregam um feromônio sinalizador, possivelmente originado da glândula de Dufour, pois ovos de operárias tratados com extrato dessa glândula sobrevivem mais tempo ao policiamento que ovos sem o tratamento (Ratnieks 1993).

Teorias sobre o canibalismo em espécies eussociais (Crespi 1992) sugerem a importância do reconhecimento do sexo e parentesco das larvas, devido à ocorrência de alocação sexual, pois as operárias favorecem primeiramente as irmãs e os sobrinhos, em detrimento dos irmãos (Foster & Ratnieks, 2001). Em Meliponini, não há relatos sobre a existência de policiamento e frequentemente compartilham a produção de machos (Tóth et al, 2002), sendo incomuns os relatos sobre ovofagia de ovos reprodutivos. Apesar disso, o policiamento indireto, com a substituição dos ovos ou canibalismo larval é uma possibilidade (Crespi 1992). As operárias podem substituir os ovos haploides da rainha ou das outras operárias pelos próprios ovos, enquanto a rainha tenta produzir todos os machos (Hamilton 1972).

Em *S. postica*, as posturas de operárias ocorrem em células aleatoriamente distribuídas pelo favo, mas o espaço disponível na célula de cria pode favorecer a oviposição. Apesar das

células de cria apresentarem diferentes tamanhos, células em que se desenvolvem machos contêm menos alimento, o que sugere que as rainhas ou operárias são capazes de reconhecer as células antes da oviposição, baseadas na quantidade de alimento (Beig 1982).

Apesar do tamanho dos ovos haploides e diploides das rainhas de *S. postica* terem diferenças em comprimento (Beig 1972), não há registros sobre possíveis diferenças entre os ovos de rainha encontrados separadamente ou junto a outros, colocados por operárias. Paralelamente a isso, registros sobre a haploidia ou diploidia dos ovos de rainha presentes em células de cria que contêm ovos de operárias também são ausentes. Dados sobre a ploidia dos ovos ou larvas presentes na célula pode ajudar a elucidar problemas sobre competição genética e conflitos sociais nas abelhas. De acordo com a assimetria nos graus de parentesco, as operárias poderiam favorecer irmãs e filhos ao induzir ao canibalismo de irmãos.

Os estudos supracitados realizados com *S. postica* e *M. bicolor* indicam a existência de possíveis gatilhos que estimulem a postura por operárias em Meliponini. No entanto tais fenômenos ainda não foram elucidados.

Este estudo tem por objetivo verificar a ocorrência de dimorfismo entre ovos de rainha e operárias de *Scaptotrigona xanthotricha* e testar a hipótese que quando há dois ovos em uma mesma célula de cria, ambos são haploides.

MATERIAIS E MÉTODOS

Três colônias de *S. xanthotricha* (A, B e C) instaladas no Apiário do Departamento de Entomologia da Universidade Federal de Viçosa (20 45' S 42 52' W) foram utilizadas neste trabalho, de fevereiro a dezembro de 2015.

Para monitoramento da oviposição de operárias e medição dos ovos, favos novos de aproximadamente 6 cm de diâmetro foram retirados de cada colônia. Os favos tiveram as células desoperculadas para retirada dos ovos, que foram mensurados com auxílio de ocular micrométrica acoplada a um microscópio estereoscópico Olympus OSM-4 10x/13. Ovos foram medidos atentando-se à sua condição de solitário (quando encontrado sozinho em uma célula de cria) ou acompanhado (quando havia mais de uma oviposição na mesma célula).

Os favos foram mantidos em umidade constante, perto da saturação, em estufa a 28° C até a eclosão dos ovos e desenvolvimento das larvas até a fase pós defecante ou pupa. Para

identificação das larvas, a tampa da placa de Petri recebia uma gota de tinta exatamente por cima das células, permitindo a escrita em lápis e marcação das células de cria de acordo com a origem do ovo e quantidade de oviposições que a célula havia recebido. Observou-se o desenvolvimento de dois tipos de ovos para a posterior sexagem:

1. Ovos menores, encontrados solitários nas células;
2. Ovos menores encontrados acompanhados. Para desenvolvimento sadio do embrião, o ovo maior que o acompanhava era retirado da célula.

As duas categorias estavam presentes no mesmo favo.

Doze larvas (colônia A) foram retiradas para análise citogenética dos cromossomos. A metodologia utilizada para a preparação convencional de metáfases foi segundo Imai *et al.* (1988):

O gânglio cerebral foi dissecado em solução hipotônica de colchicina e deixado por 1 hora nesta solução para acumular maior número de metáfases. O órgão foi posteriormente transferido para uma lâmina limpa e seca, utilizando-se uma pipeta Pasteur. Essa lâmina foi inclinada para drenar a maior parte da solução, sendo aplicada nessa posição diversas gotas do fixador 1 ácido acético-etanol a 60% (3 mL de ácido acético glacial/ 3mL de etanol/ 4mL de água destilada) sobre o órgão e na superfície da lâmina. A amostra foi colocada sob o estereomicroscópio e foi adicionado duas gotas do fixador, diretamente sobre o órgão, sendo macerado após alguns segundos com estiletes, facilitando assim a dissociação do tecido. O fixador 1 se espalhou, e antes de ocorrer a retração do tecido, adicionou-se duas gotas de fixador 2 [ácido acético: etanol (v/v)], afastando o fixador 1 para a margem da lâmina, sendo retirado com ajuda de papel filtro. Esperou-se então o fixador 2 evaporar e adicionou-se duas gotas de fixador 3 (ácido acético glacial) no centro do espalhamento, retirando-se em seguida o excesso do fixador 2 com papel filtro.

Após 24 h de preparo, as lâminas foram coradas com solução de Giemsa 1:30 em tampão Sorensen 0,06 M, pH 6,8, por 20 minutos. As lâminas foram analisadas em microscópio de contraste de fase e os cromossomos foram contados para determinação da ploidia.

Um total de 51 indivíduos nas três colônias desenvolveu-se de ovo até pupa (22 larvas na colônia A, 9 larvas na colônia B, 20 na colônia C) sendo sexado de acordo com a presença/ausência de corbícula e morfologia do aparelho reprodutor externo.

Estatística

Para testar a diferença de entre as médias de comprimento dos ovos das três colônias, foi utilizado ANOVA. Para a diferença entre os tamanhos de ovos solitários e acompanhados, o teste utilizado foi t-Student. A diferença de frequência de ovos haploides entre os dois grupos foi verificada com o teste Binomial de Duas Proporções. As análises foram feitas no programa Statistica 7.

RESULTADOS

Os comprimentos médios dos ovos que estavam isolados nas células de cria variaram entre as colônias ($F = 73.05$, $p < 0.0001$). A média do comprimento desses ovos da colônia A foi de 1,27 mm ($n = 59$), da colônia B foi 1,19 mm ($n = 97$) e da colônia C foi 1,21 mm ($n = 29$).

Nas células de cria que continham dois ou mais ovos, estes apresentaram comprimentos diferentes entre eles, (A: $t = -7.54$, $p < 0.0001$. B: -31.73 , $p < 0.0001$. C: $t = -15.08$, $p < 0.0001$), sendo que os menores apresentaram tamanho semelhante àqueles presentes nas células isoladas (A: $t = -1.09$, $p = 0.2$. B: $t = 1.45$, $p = 0.14$. C: $t = 1.38$, $p = 0.178$). Tabela 1.

Tabela 1. Comprimento (média $\pm$ dp) dos ovos maiores e menores da mesma célula de cria nas três colônias de *Scaptotrigona xanthotricha*.

Colônia	Menores (mm)	Maiores (mm)
A	1.27 $\pm$ 0.038	1.40 $\pm$ 0.07
B	1.20 $\pm$ 0.025	1.48 $\pm$ 0.05
C	1.20 $\pm$ 0.022	1.47 $\pm$ 0.06

Os ovos maiores das células de cria com dois ovos, tiveram diferenças de comprimento entre as colônias ($F= 10.48$, $p < 0.0002$), sendo na colônia A de 1,40 mm ($n=19$), na colônia B de 1,47 mm ($n=54$) e na colônia C de 1,48 mm ($n=11$), (fig. 1).

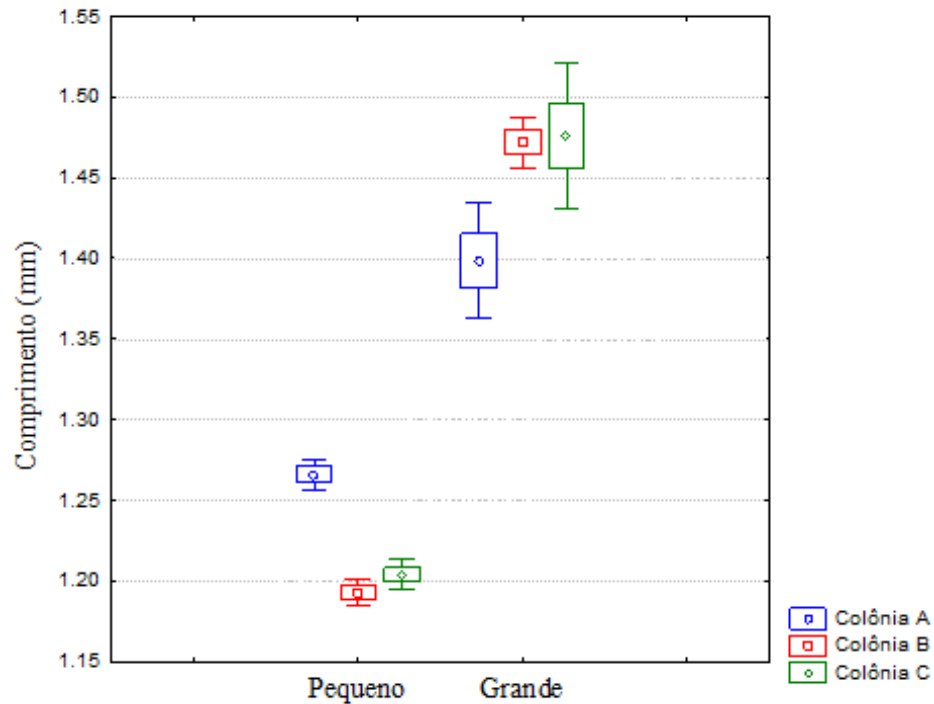


Figura 1. Médias do comprimento dos ovos em três colônias de *S. xanthotricha* (comprimento em mm). O retângulo representa o erro padrão, o centro é a média e as suíças mostram o intervalo de confiança.

Um total de 12 larvas (Colônia B) foram amostradas para realização de citogenética, e 51 foram sexadas após a pupação. Do total de ovos acompanhados, 60,7% originaram machos, enquanto dos ovos solitários 96,6% originaram fêmeas (Tabela 1). A frequência de ovos diploides em células contendo somente um ovo foi maior que aqueles em células contendo dois (Tabela 2).

Tabela 2. Sexo das larvas solitárias e acompanhadas de *Scaptotrigona xanthotricha*.

Colônia	Ovo	Larvas Fêmeas (diploides)	Larvas Machos (haploides)	Total de Larvas	Teste Binomial
A	Acompanhado	6	6	12	$Z = -2,0057$
	Solitário	9	1	10	$P = 0,02$
B	Acompanhado	1	9	10	$Z = -1,87$
	Solitário	10	0	10	$P = 0,03$
C	Acompanhado	6	5	11	$Z = -2,44$
	Solitário	10	0	10	$P = 0,007$

Células de cria contendo de um a seis ovos foram encontradas nos favos de *S. xanthotricha*, sendo que quando havia postura de ovos grandes, o mais comum era a presença de um único ovo ao lado do ovo pequeno, em uma mesma célula de cria. No entanto, em poucas ocasiões, também foram encontrados ovos grandes solitários nas células de cria, ou acompanhados de outros ovos grandes. Os ovos geralmente se encontravam paralelos, mas foi comum a presença ovos juntos uns aos outros ou tombados por cima do alimento quando seu peso rompia a tensão superficial do líquido (Fig. 2).

Em pelo menos cinco eventos em células com dois ovos, foi confirmada a ocorrência de larvofagia, observando-se parte do canibalismo e posterior ausência de uma das larvas. Células de cria em que foi observada a presença de duas larvas apresentavam, aparentemente, diferença de tamanho entre as elas (Fig. 3).

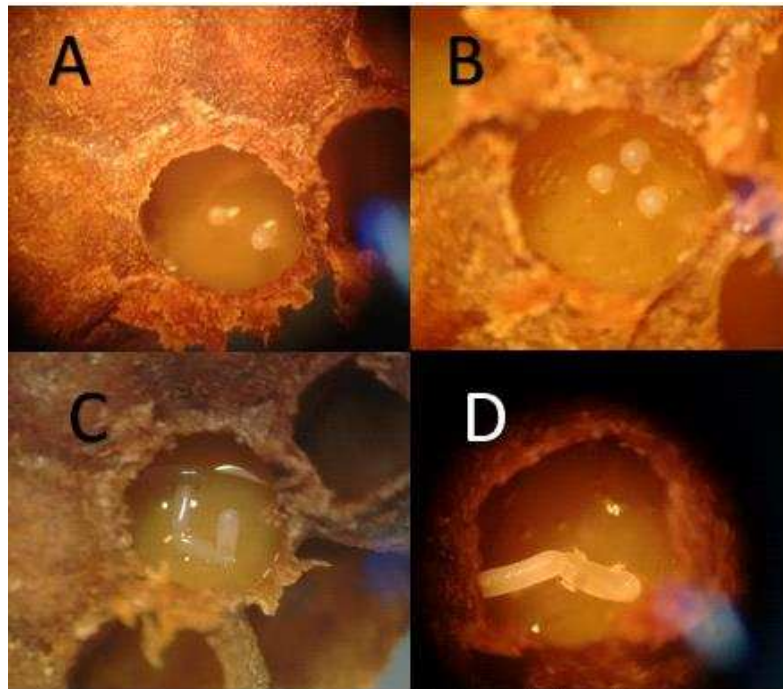


Figura 2. Células de cria contendo posturas de rainha e operárias de *Scaptotrigona xanthotricha*. A: Ovo de rainha paralelo (seta) ao ovo de operária. B: Ovo de rainha (seta) paralelo a dois ovos de operárias. C: Ovos de operárias tombados sobre o alimento. D: Ovos de operárias (seta) colocados sobre do ovo de rainha (submerso).

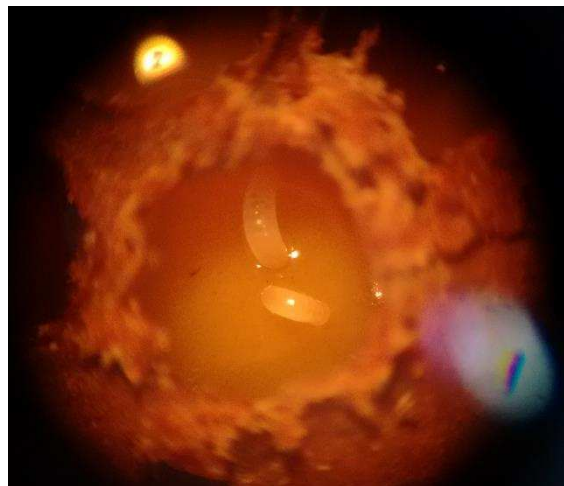


Figura 3. Célula de cria contendo duas larvas de *Scaptotrigona xanthotricha*, oriundas de ovos de diferentes tamanhos.

DISCUSSÃO

De acordo com as descrições comportamentais de *S. postica*, *S. depilis*, a postura da rainha geralmente precede à da operária e os ovos reprodutivos das operárias são sempre maiores que os da rainha (Beig 1972; Lacerda & Simões 2006). Neste trabalho, as células de

cria com dois ou mais ovos apresentavam sempre um ovo pequeno acompanhado de ovo (s) grande (s). A média do comprimento dos ovos isolados nas células de cria das três colônias utilizadas foi de 1.22 mm, medida semelhante ao menor dos ovos de células de cria contendo dois ovos e similar à média encontrada para os ovos de rainhas de *S. postica* (Beig, 1972) e *S. depilis* (Lacerda & Simões, 2006). Estes dados sugerem que em *S. xanthotricha* células de cria com dois ovos, um deles sempre é da rainha, e os outros são provenientes das operárias. Portanto, devido à semelhança entre as espécies e dos aspectos aqui observados, os ovos solitários de *S. xanthotricha* foram considerados como da rainha, exceto quando seu tamanho fugia do padrão menor dos ovos de rainha. Adicionalmente, os ovos presentes na mesma célula, grandes, foram considerados como oriundos de postura das operárias.

A média do comprimento dos ovos de rainhas foi diferente nas três colônias deste estudo, provavelmente pela influência de fatores internos ou externos à colônia (Lacerda & Simões, 2006b), como diferentes taxas de postura dos ovos (Iwata & Sakagami 1966) e disponibilidade de pólen no ambiente (Henderson 1992), de acordo com fatores sazonais já discutidos no capítulo anterior. No entanto, as afirmações acima dizem respeito somente à influência sobre ovos de rainha, pois não há dados sobre o que afeta o tamanho dos ovos de operárias e como houve a diferenciação comportamental e fisiológica na postura de ovos tróficos e reprodutivos.

A ausência de diferença de comprimento entre ovos de rainha solitários ou acompanhados de *S. xanthotricha* sugere que o gatilho para postura das operárias não tem relação com o tamanho do ovo da rainha, mesmo sendo um fator relacionado com a ploidia, uma vez que ovos haploides da rainha são maiores que os diploides (Beig 1972). No entanto, em de *S. xanthotricha* há prevalência de ovos haploides de rainha ao lado de ovos de operárias, com tamanho semelhante aos ovos solitários de rainha.

O acompanhamento das posturas de *S. xanthotricha* deste trabalho concorda com a descrição comportamental em *S. postica* em que a postura da operária ocorre após a postura da rainha (Beig 1972). Essa conclusão deve-se ao fato de que os ovos de operária de *S. xanthotricha*, quando tocando os ovos já presentes na célula, frequentemente encontravam-se por cima dos de rainha, não raramente derrubando-os sobre o alimento.

A presença de células de cria contendo somente ovo (s) de operárias remete à possibilidade de ocorrer, em raros casos, a oviposição de operárias independentemente da postura da rainha. Esse fenômeno pode ocorrer com a reabertura de células pelas operárias, canibalismo do ovo da rainha e finalmente postura da operária. Ou, como descrito por Velthuis et al (2003) para *Melipona bicolor*, a operária pode proteger uma célula de cria durante o POP, ovipositar e opercular imediatamente. Essa diferença comportamental pode explicar o porquê de as operárias colocarem ovos ao lado dos ovos da rainha: o aspecto reticulado do córion e as propriedades químicas permitem que os ovos das rainhas permaneçam em posição vertical no alimento. O aspecto reticulado do córion do ovo da operária é menos desenvolvido, e também quimicamente inferior (Velthuis et al 2003). A presença do ovo da rainha pode, portanto, dar sustentabilidade ao ovo da operária, como ocorre em *Melipona bicolor* (Velthuis et al 2003). No entanto, em *S. xanthotricha*, as células que apresenta postura de operária nem sempre continham ovos justapostos, mais frequentemente ovos separados dentro da célula, mesmo quando ocorrem três ovos. A partir de quatro ovos, nunca todos estão em posição vertical, provavelmente pela falta de espaço no interior da célula de cria que resulta na derrubada dos ovos já existentes durante a postura pela abelha seguinte.

Outra hipótese sobre a postura de operárias em células contendo ovo de rainha, é a possibilidade de que químicos, como feromônios, presentes estritamente em ovos de rainha possam conter sinais que impedem o canibalismo (Velthuis et al 2003). Neste caso, as operárias utilizariam células que já contém ovos de rainha servindo-se da volatilidade do composto em questão, protegendo assim os próprios ovos do canibalismo. Adicionalmente, isso pode explicar o fato de que operárias que desoperculam células se alimentam dos ovos da rainha. No entanto, presença de ovos de operárias solitários nas células de cria podem ser um indício que a sustentabilidade e/ou a presença de feromônios não explicam, ao menos não totalmente, o porquê de as operárias colocarem seus ovos majoritariamente ao lado de ovos da rainha.

A aparente diferença de tamanho das larvas de ovos de rainha e operária que dividem uma mesma célula pode ser oriunda não somente da variação de tamanho dos ovos, mas possivelmente do potencial metabólico de larvas de diferentes origens. Em *S. postica*, a larva de operária é maior e mais ativa do que a larva da rainha, alimentando-se desta última e

emergindo da célula um macho filho da operária (Beig 1972). Essa hipótese traz à tona a importância do tempo de desenvolvimento das larvas, e é corroborada pelas observações feitas neste trabalho, em que o canibalismo sempre ocorria entre larvas de tamanho diferente a olho nu.

Considerando o princípio de larvofagia em que os ovos haploides oriundos das operárias eclodem antes que ovos da rainha (Beig 1972), o mecanismo de larvofagia favorece o ovo com desenvolvimento mais rápido. Neste sentido, a larva filha da operária pode ter vantagem ao eclodir primeiro, conseguindo assim vencer a competição dentro da célula. As observações feitas neste trabalho não confirmam nem rejeitam a hipótese de que o ovo de operária eclode primeiro, apesar de sugerirem que há uma diferença no tempo de desenvolvimento. No entanto, considerando as relações de parentesco, esse padrão tem como consequência a perda de uma operária, irmã da que colocou o ovo. As operárias têm uma relação genética maior com as irmãs (0,75) do que com os filhos (0,5). Ou seja, seu filho, com apenas 50% de genes compartilhados, é produzido em detrimento de uma irmã com a qual compartilha 75% dos genes (Hamilton, 1964). Além disso, são as operárias as responsáveis pela manutenção da colônia, coleta e estocagem de alimento, e a perda destas acarretaria um prejuízo para a colônia (Tóth et al. 2004). Dessa forma, a larvofagia, conforme proposta por Beig (1972) parece não estar em consonância com as relações de parentesco existente dentro das colônias.

Hamilton (1972) proferiu que, se as circunstâncias permitirem, as operárias serão inclinadas a substituir os ovos haploides das rainhas pelos delas próprios, como confirmado por este trabalho. A presença de ovos haploides da rainha de *S. xanthotricha* quando havia postura de operária implica em uma substituição de machos, de um irmão para um sobrinho. Mas a reprodução de operárias pode não alcançar níveis altos, provavelmente devido aos altos custos à colônia. A produção de machos pelas operárias é um prejuízo contra a produção de novas operárias, além do fato de que operárias reprodutivas em algumas espécies trabalham menos, reduzindo a produtividade futura da colônia (Alves et al. 2008)

Há aspectos comportamentais que parecem diminuir o custo da produção de machos por operárias em *M. bicolor*, com as operárias mais propensas a colocar ovos ao lado de ovos de operárias que ao lado de ovos de rainha (Koedam et al. 2007). Isso pode ocorrer em *S.*

xanthotricha, que apresenta geralmente ovos haploides da rainha ao lado dos ovos colocados por operárias.

Este trabalho rejeita a hipótese da influência do tamanho do ovo da rainha, mas suporta a possibilidade de o sexo do ovo poder ser identificado pelas operárias, pois quando há postura de operária, frequentemente o ovo da rainha é haploide.

REFERÊNCIAS

- Alves, D. de A. et al., 2008. Conflito entre rainha e operárias na produção de machos em colônias de *Melipona scutellaris* (Apidae: Meliponini). In *Anais do VIII Encontro de abelhas*. pp. 245–246.
- Beig, D., 1972. The production of males in queenright colonies of *Trigona (Scaptotrigona) postica*. *Journal of Apicultural Research*, 11(1), pp.33–39.
- Crespi, B.J., 1992. Cannibalism and trophic eegs in subsocial and eusocial insects. In B. J. Crespi & M. A. Elgar, eds. *Cannibalism: Ecology and Evolution Among Diverse Taxa*. Oxford: Oxford University Press, pp. 176–123.
- Fletcher, D.J.C. & Ross, K.G., 1985. Regulation of reproduction in eusocial Hymenoptera. *Annual review of Entomology*, 30, pp.319–343.
- Haig, D., 1998. Mother's boy or daddy's girl? Sex determination in hymenoptera. *Trends in Ecology and Evolution*, 13(10), pp.380–381.
- Hamilton, W.D., 1972. Altruism and Related Phenomena, Mainly in Social Insects. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 3(1972), pp.193–232.
- Henderson, C.E., 1992. Variability in the size of emerging drones and of drone and worker eggs in honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies. *Journal of Apicultural Research*, 31(3/4), pp.114–118.
- Imai, H., Taylor, R.W., Crosland, M.W.J., Crozier, R.H. 1988. Modes of spontaneous evolution in ants with reference to the minimum interaction hypothesis. *The Japanese Journal of Genetics*. 63, 159–185.
- Iwata, K. & Sakagami, S.F., 1966. Gigantism and dwarfism in bee eggs in relation to the models of life, with notes on the number of ovarioles. *Japanese Journal of Ecology*, 16(1), pp.4–16.
- Koedam, D., Cepeda Aponte, O.I. & Imperatriz-Fonseca, V.L., 2007. Egg laying and oophagy by reproductive workers in the polygynous stingless bee *Melipona bicolor* (Hymenoptera, Meliponini). *Apidologie*, 38, pp.55–66.

- Lacerda, L. de M. & Simões, Z.L.P., 2006. Effects of internal colony conditions on the size of eggs laid by queens of *Scaptotrigona depilis* (Apidae, Meliponinae). *Sociobiology*, 47(1), pp.85–97.
- Ratnieks, F.L.W., 1993. Egg-laying, egg-removal, and ovary development by workers in queenright honey bee colonies. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 32, pp.191–198.
- Ratnieks, F.L.W. & Visscher, P.K., 1989. Worker policing in the honeybee. *Nature*, 342(6251), pp.796–797.
- Tóth, E. et al., 2004. Conflict over male parentage in stingless bees. *Insectes Sociaux*, 51, pp.1–11.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os dois trabalhos realizados trazem novidades sobre aspectos reprodutivos em *Scaptotrigona*, oferecendo informações sobre os mecanismos presentes nas colônias. *S. postica*, amplamente estudada, lançou luzes sobre como a ocorrência de reprodução das operárias pode ser frequente, mesmo em colônias com rainha. Essa informação influenciou boa parte dos trabalhos realizados com Meliponini, principalmente aqueles que tentavam entender a competição reprodutiva entre rainha e operária. Os trabalhos morfométricos com *S. postica*, tanto anteriores quanto realizados nesta dissertação, também possibilitaram a diferenciação de ovos de rainhas e operárias, facilitando a contextualização comportamental mesmo após as posturas das fêmeas. Além disso, este trabalho confirmou a existência do mesmo padrão de comprimento dos ovos de rainhas e operárias em *S. xanthotricha*, sendo que esse padrão de diferenciação dos ovos pelo tamanho trouxe a possibilidade de caracterizar os ovos de *S. xanthotricha* em diversas condições, não somente sua média de comprimento, mas também a ploidia dos ovos da rainha que estavam ou não acompanhados por ovos de operárias. *S. xanthotricha*, ao contrário de *S. postica* carece de estudos que detalhem a morfometria dos ovos e reprodução das operárias. Portanto, as questões aqui descritas são importantes para o entendimento dos aspectos reprodutivos do gênero *Scaptotrigona* e da tribo Meliponini.