

LILA VIANNA TEIXEIRA

**PRODUÇÃO DE RAINHAS EM COLÔNIAS DE *Plebeia lucii*
(HYMENOPTERA, APIDAE, MELIPONINA)**

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
2007

LILA VIANNA TEIXEIRA

PRODUÇÃO DE RAINHAS EM COLÔNIAS DE *Plebeia lucii*
(HYMENOPTERA, APIDAE, MELIPONINA)

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: 20 de julho de 2007.

Prof. José Lino Neto
(Co-Orientador)

Prof. José Eduardo Serrão

Prof. Murilo Sérgio Drummond

Pesq. Riviane Rodrigues da Hora

Prof^a Mara Garcia Tavares
(Orientadora)

Aos meus avôs Agripino e Chuca,
que cumpriram a parte que lhes cabia
para fazer do mundo um lugar melhor.

AGRADECIMENTOS

Antes e acima de todos agradeço a Deus, por todo cuidado e amor para comigo.

Palavras não expressam minha gratidão a Lucio Campos pela amizade, pelas orientações, por me ajudar a crescer e contribuir para que eu seja quem sou.

À Mara pela orientação, pelo apoio e pela paciência.

À Amanda, Malu e Rubana pela amizade, pela companhia e pela alegria nas muitas noites.

À Bruna, Darci, Margarete, Guta, Mário, Tatiana, Fábria, Ana Flávia e João Cloves pela amizade e convivência nesses dois anos ou mais.

Aos funcionários do apiário em especial a Íris e Cabrito, pela convivência e pela ajuda sempre que necessário.

Aos meus queridos e amados do Cenáculo e da Capela, que são parte de mim e que por serem muitos não caberiam aqui. Obrigada pela compreensão, por estar junto e pelo carinho.

Ao Nilo pela companhia, pelas conversas, por tudo desde sempre.

Ao Igor pelo carinho, pela alegria, por fazer de mim criança e pelas vezes que muda meus planos.

Aos meus pais, Vânia e Zé, por ajudarem a fazer de mim quem sou, por todo apoio, amor e compreensão.

Aos Profs Serrão e Dejair, pelas máquinas fotográficas.

À Universidade Federal de Viçosa.

Ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida.

A todos que de um jeito ou de outro contribuíram pra que eu chegasse até aqui.

Obrigada.

SUMÁRIO

1.	RESUMO.....	v
2.	ABSTRACT.....	vi
3.	INTRODUÇÃO.....	1
4.	OBJETIVOS.....	6
5.	MATERIAL E MÉTODOS.....	7
6.	RESULTADOS.....	9
7.	DISCUSSÃO.....	16
8.	CONCLUSÕES.....	21
9.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	22

RESUMO

TEIXEIRA, Lila Vianna, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2007.
Produção de rainhas em colônias de *Plebeia lucii* (Hymenoptera, Apidae, Meliponina). Orientadora: Mara Garcia Tavares. Co-Orientadores: Lucio Antonio de Oliveira Campos e José Lino Neto.

As rainhas são fundamentais para a sobrevivência das colônias de organismos eussociais. Até recentemente, acreditava-se que em colônias órfãs de espécies dos gêneros *Plebeia*, *Friesella* e *Scaptotrigona*, entre outras, não era possível o estabelecimento de uma nova rainha, caso não houvesse previamente uma célula real ou rainha aprisionada na colônia. Entretanto, já foi observado que mini-colônias de *Plebeia lucii*, submetidas à condição de orfandade, produzem rainhas de emergência pelo processo de adição de células auxiliares a células de cria pré-existentes. Assim, o presente trabalho teve como objetivos estudar o processo pelo qual são construídas as células reais em colônias normais de *P. lucii* e verificar se rainhas de emergência são produzidas em resposta à condição de orfandade da colônia. Nas colônias normais, as células reais são produzidas pela adição de célula auxiliar construída por operárias, adjacente a células cujas larvas estejam terminando de se alimentar e que não tenham iniciado a eliminação das fezes. A larva estabelece uma conexão entre as células através da qual consome também o alimento da célula auxiliar, tornando-se assim uma rainha. As colônias órfãs de *P. lucii* responderam à condição de orfandade produzindo células reais pelo mesmo processo que colônias normais. Das 43 células auxiliares construídas em colônias órfãs de *P. lucii*, 34 resultaram em células reais.

ABSTRACT

TEIXEIRA, Lila Vianna, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July of 2007.
Queens production in colonies of *Plebeia lucii* (Hymenoptera, Apidae, Meliponina). Adviser: Mara Garcia Tavares. Co-Advisers: Lucio Antonio de Oliveira Campos and José Lino Neto.

Queens are very important to the highly eusocial organisms colonies survival. It was thought until recently that in queenless colonies of species from *Plebeia*, *Friesella* and *Scaptotrigona* genera, among others, would not be possible the establishment of a new queen unless the colony had already a royal cell or an imprisoned queen. Nevertheless it has already been observed that *Plebeia lucii* queenless mini-colonies produce emergency queens building auxiliary cells closely to pre-existing brood cells. The aims of this study were to study the royal cells construction process in *P. lucii* queenright colonies and to verify if emergency queens are produced in response of the colonies orphan condition. The royal cells in queenright colonies were produced by the auxiliary cell addition in close contact to brood cells housing larva that had already finished eating but did not begin defecation. The connection hole between the two cells was opened by the larva, which, through this, consumed the additional food, becoming thus a queen. *P. lucii* queenless colonies responded to the colony orphan condition producing royal cells by the auxiliary cell addition process. From the 43 auxiliary cells produced in queenless colonies, 34 resulted in royal cells.

1. INTRODUÇÃO

As abelhas sem ferrão (Meliponina) constituem, no Brasil, o principal grupo de abelhas sociais e têm grande importância na polinização de plantas da flora nativa e de diversas plantas cultivadas. Por essa razão, estas abelhas são consideradas importantes tanto para a manutenção da diversidade em muitos ecossistemas naturais quanto para a produção em diversas culturas agrícolas.

A despeito da sua importância, muitas espécies de abelha sem ferrão estão ameaçadas de extinção pelo desmatamento e conseqüente fragmentação de seus habitats, pelo uso indiscriminado de inseticidas e pela ação predatória de meleiros. A preocupação com a preservação das espécies de Meliponina tem incentivado as pesquisas com essas abelhas. Entretanto, muitos aspectos da biologia da maioria das espécies permanecem desconhecidos.

As abelhas eussociais vivem em colônias cuja população é dividida em castas (Michener 1974, Sakagami 1982). Uma das castas é representada pela rainha. Geralmente cada ninho possui apenas uma rainha. Esta faz a postura dos ovos que originarão todas as fêmeas e, de parte ou todos os que originarão os machos produzidos na colônia (Tóth *et al.* 2002). A rainha, por meio de ações comportamentais e, provavelmente, da produção e liberação de substâncias químicas (feromônios), mantém a estrutura da sociedade e da colônia organizadas. A outra casta é representada pelas operárias, que executam atividades relacionadas à construção do ninho, coleta e processamento de alimentos, defesa da colônia e, em alguns casos, posturas de ovos tróficos (que servem de alimento para a rainha) ou férteis (que originam machos) (Sakagami 1982).

A diferenciação das larvas fêmeas em adultos de uma das duas castas é um aspecto da biologia que tem despertado o interesse dos pesquisadores há décadas. São reconhecidos três processos pelos quais as larvas de diferentes espécies podem se diferenciar em rainhas: i) determinação trófica pela qualidade de alimento, ii) determinação trofo-genética e iii) determinação trófica pela quantidade de alimento (Michener 1974, Sakagami 1982).

A determinação pela qualidade de alimento (i) é bem conhecida nas abelhas do gênero *Apis* (Apina). Neste gênero, as larvas são alimentadas de maneira progressiva. Até o terceiro dia, todas recebem como alimento secreção glandular. A partir de então, são fornecidos dois tipos de alimento. As larvas que

darão origem às rainhas são criadas em células especiais maiores chamadas de células reais, e são alimentadas com geléia real (secreção glandular produzida pelas operárias). As que darão origem às operárias são criadas em células normais e são alimentadas com uma mistura de mel pólen e secreção glandular (Michener 1974).

Nas abelhas sem ferrão, entretanto, a alimentação é dita massal, pois todo o alimento que a larva irá consumir em seu desenvolvimento é colocado na célula de cria antes da oviposição pela rainha. Não há diferença no tipo de alimento consumido pelas larvas, independentemente se estas originarão rainhas ou operárias. Neste grupo a determinação das castas é trofo-genética ou trófica pela quantidade de alimento (Camargo 1972).

Em *Melipona*, a diferenciação das castas é trofo-genética (ii), uma vez que ocorre devido a fatores genéticos associados a uma pequena variação na quantidade de alimento consumido pelas larvas (Kerr *et al.* 1966). Rainhas e operárias são criadas em células de mesmo tamanho, com alimento qualitativamente igual. As rainhas se originam de larvas fêmeas heterozigotas em dois loci envolvidos no processo de determinação das castas, AaBb, desde que tenham sido bem alimentadas, enquanto as operárias têm origem a partir de larvas homozigotas em um ou nos dois loci e das duplo heterozigotas alimentadas com quantidades sub-ótimas de alimento (Kerr 1950, Kerr *et al.* 1966). Dessa forma, um máximo de 25% das larvas fêmeas pode originar rainhas. Neste grupo, rainhas são produzidas continuamente durante o ano, com variações entre as estações e entre colônias.

Nos demais gêneros de abelha sem ferrão a diferenciação é trófica, devido à quantidade de alimento consumido pela larva (iii). Nesse caso, as larvas que originarão rainhas são alimentadas com uma quantidade de alimento que é maior que a que é fornecida às larvas de operárias (Engels e Imperatriz-Fonseca 1990). Rainhas e operárias são criadas em células de tamanhos diferentes. As células onde são criadas as rainhas são maiores que as células de operárias e recebem o nome de células reais. A produção de células reais geralmente não é contínua, sua frequência varia ao longo do ano e entre as colônias (Imperatriz-Fonseca e Zucchi 1995).

O surgimento das células reais pode se dar de duas formas. Na maioria dos grupos, como por exemplo, *Tetragonisca*, *Scaptotrigona*, *Tetragona* e a maior

parte de *Plebeia*, as células reais são construídas com tamanho maior que as outras células de cria (Engels e Imperatriz-Fonseca 1990). Elas são aprovisionadas com todo o alimento que a larva irá consumir durante seu desenvolvimento. A rainha faz a postura de um ovo nessa célula que é então operculada, permanecendo fechada até a emergência da nova rainha.

O outro processo de surgimento de células reais foi observado em *Frieseomelitta varia* e *Leurotrigona muelleri* (Terada 1974). Nestas espécies, todas as células de cria são construídas inicialmente com o mesmo tamanho. Segundo a autora, algumas larvas, após consumirem todo alimento contido em sua célula, perfuram a parede desta e de células adjacentes às suas, e consomem também o alimento contido nessa segunda célula. Durante seu desenvolvimento a larva se torna cada vez maior e conseqüentemente a célula na qual esta se encontra é remodelada e aumenta de tamanho. Tendo consumido pelo menos o dobro da quantidade de alimento que uma larva de operária consome, esta larva se tornará uma rainha.

Em colônias normais (que possuem rainha fisiogátrica) de abelhas sem ferrão, rainhas são produzidas regularmente. Ao surgirem novas rainhas em uma colônia, elas podem substituir a rainha mãe, sair com um enxame, ser eliminadas pelas operárias, ou, em algumas espécies, permanecer nas colônias por longos períodos em celas de aprisionamento (Imperatriz-Fonseca e Zucchi 1995).

As rainhas são fundamentais para a sobrevivência da colônia, uma vez que são as únicas capazes de produzir outras fêmeas. Deste modo, quando a rainha da colônia morre, é preciso substituí-la. Caso a colônia não possua uma outra rainha aprisionada ou uma célula real que possibilite a substituição ficará órfã e irá perecer.

No gênero *Apis*, colônias órfãs, mesmo que não possuam células reais, iniciam a produção de “rainhas de emergência” (nome dado às rainhas produzidas em resposta à condição de orfandade). Quando a condição de orfandade é detectada, as operárias localizam uma larva jovem, com menos de três dias, modificam sua célula, aumentando o tamanho e deixando-a semelhante a uma célula real, e intensificam sua alimentação fornecendo grandes quantidades de geléia real. Essa larva diferencia-se em rainha e poderá desempenhar atividades de postura e controle da colônia, depois de fecundada. Estas rainhas de emergência

produzidas em colônias órfãs, em nada diferem das rainhas produzidas nas colônias em situações normais (Michener 1974).

Em colônias de abelhas do gênero *Melipona* períodos de orfandade raramente chegam a ser fatais. Geralmente, desde que haja pelo menos alguns favos de cria restantes na colônia, em pouco tempo emergirá uma nova rainha, uma vez que, nesse gênero, as rainhas são produzidas em taxas relativamente constantes durante todo o ano (Nogueira-Neto 1970).

Para os demais gêneros da subtribo Meliponina, que apresentam células reais, acreditava-se até recentemente não ser possível o estabelecimento de uma nova rainha em colônias órfãs, caso não houvesse previamente uma célula real ou rainha aprisionada na colônia. No entanto, foi verificado experimentalmente por Faustino *et al.* (2002), a partir de observação prévia do Prof. Paulo Nogueira-Neto, que em colônias órfãs de *Frieseomelitta varia* ocorre produção de células reais, que resultam em rainhas de emergência. O surgimento dessas células reais se dá pelo processo de adição de células auxiliares. Estas são células construídas adjacentes a uma célula larval e são aprovisionadas com alimento larval. A larva, após ingerir todo o alimento contido em sua própria célula, perfura a parede que separa as duas células e ingere o alimento depositado na célula auxiliar. Estas larvas se desenvolverão em rainhas de emergência. Uma das rainhas produzidas nesse experimento iniciou postura dezenove dias após a emergência (Faustino *et al.* 2002). Aparentemente, como em *Apis*, elas não diferem de rainhas produzidas em colônias normais (Faustino *et al.* 2002).

Uma outra observação a respeito de rainhas de abelhas sem ferrão é que, em algumas espécies cuja determinação das castas é trófica, ocasionalmente são produzidas rainhas pequenas (Ribeiro 2004, Ribeiro *et al.* 2006), bem menores que as rainhas normais, como é o caso de *Schwarziana quadripunctata* (Camargo 1974), *Plebeia julianii* (Juliani 1967) e *Nannotrigona testaceicornis* (Imperatriz-Fonseca *et al.* 1997).

Plebeia lucii, a espécie estudada neste trabalho, foi descrita recentemente e é bastante comum na região de Viçosa-MG. Esta abelha possui tamanho pequeno (aproximadamente 3,00 mm) e suas colônias apresentam células de cria arranjadas em cacho (Moure 2004), disposição que ocorre também em outros gêneros, como *Frieseomelitta* e *Trigonisca* (Michener 2000, Nogueira-Neto 1970). Inicialmente suas células de cria são construídas em formato esférico. Mas ao longo do

desenvolvimento da larva mudam de forma, passando a apresentar o formato ovalado.

A determinação de castas nesta espécie é trófica pela quantidade de alimento e as células reais, das quais emergem as rainhas, são maiores que as células das quais emergem operárias e machos. A produção de células reais ocorre em todos os meses do ano, sendo maior nos meses de novembro a janeiro (Teixeira, dados não publicados). Frequentemente são observadas celas de aprisionamento contendo rainhas virgens nas colônias, já tendo sido observadas simultaneamente até quatro destas celas em uma colônia (Teixeira, dados não publicados).

A produção de rainhas de emergência em *P. lucii* foi observada pela primeira vez por Teixeira e Campos (2005), em um experimento semelhante ao realizado com *F. varia* por Faustino *et al.* (2002). Nas mini-colônias órfãs desse experimento foram produzidas três rainhas de emergência. Estas eram bem menores do que as rainhas características desta espécie e emergiram de células reais que também surgiram pelo processo de adição de célula auxiliar.

O presente trabalho foi proposto para estudar aspectos relacionados à produção de rainhas em colônias de *P. lucii*.

2. OBJETIVOS

Foram propostos os seguintes objetivos específicos:

- 2.1. Estudar o processo pelo qual são construídas as células reais em colônias normais e órfãs de *Plebeia lucii*.
- 2.2. Verificar se as operárias de colônias órfãs de *P. lucii* respondem a esta condição aumentando a produção de células reais, resultando na produção de rainhas de emergência.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos e observações foram realizados no Apiário Central da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa-MG, no período de novembro/2006 a junho/2007.

Foram montados dois experimentos para estudar a resposta das colônias de *Plebeia lucii* à condição de orfandade. As colônias utilizadas foram obtidas através de enxameagem natural em caixas isca colocadas em diversos locais em Viçosa-MG.

O primeiro experimento foi montado para comparar as taxas de produção de células reais em colônias normais (com rainha) e em colônias órfãs e para fazer observações em relação ao processo de construção de células reais nesses dois tipos de colônias. Para isto, cada uma de cinco colônias fortes (identificadas por 4, 7, 41, A e B) teve seus elementos (células de cria, potes de alimento e indivíduos adultos) divididos em duas colônias experimentais (identificadas por I e II). A rainha foi deixada em uma destas colônias (4.I, 7.I, 41.I, A.I, e B.I) enquanto a outra colônia foi deixada órfã (4.II, 7.II, 41.II, A.II, e B.II). As novas colônias foram colocadas em caixas de madeira medindo 13 cm x 13 cm x 5 cm, cobertas com vidro transparente. Permaneceram fechadas em estufa incubadora a 28°C por dois dias e, posteriormente foram soltas e mantidas no campo, de modo que as operárias pudessem se locomover livremente. As dez colônias resultantes das divisões foram observadas e fotografadas diariamente durante 80 dias. Após este período, foram ainda realizadas algumas observações em intervalos irregulares. Em cada observação eram verificados dados a respeito de presença ou ausência de rainhas, número de células auxiliares, número de células reais, e outras informações importantes, como postura de operárias ou qualquer alteração do estado da colônia. Além das fotografias que foram feitas diariamente foram feitas filmagens de alguns aspectos do comportamento de larvas e adultos.

O segundo experimento foi realizado para observar detalhes a respeito do processo de construção da célula auxiliar, do comportamento da larva e do desenvolvimento das células reais em colônias órfãs. Para isto, seis colônias (identificadas por 4.I, 7.I, 11, 41.I, A.I, e B.I) tiveram suas rainhas retiradas, permanecendo órfãs por 13 a 18 dias durante os quais foram mantidas fechadas e em estufa incubadora a 28°C. Durante esse período foram alimentadas

regularmente com mel e pólen retirado de colméias de jataí (*Tetragonisca angustula*), que foi bem aceito por *P. lucii*. As rainhas foram mantidas à parte em placas de Petri, também em estufa incubadora a 28°C, e foram devolvidas às suas respectivas colônias após o período de observações. Durante o período de orfandade todas as células, junto às quais foram construídas células auxiliares, foram retiradas das colméias, juntamente com as células auxiliares, fotografadas e, posteriormente, foram abertas para observações a respeito do comportamento da larva. O material foi observado e fotografado sob microscópio estereoscópico.

4. RESULTADOS

4.1. Experimento 1

No primeiro experimento, das cinco colônias com rainha (colônias normais), três (41.I, A.I e B.I) construíram células auxiliares. Nestas colônias, foram produzidas oito células reais durante o período de observações (Tabela 1). Todas elas surgiram a partir da adição de célula auxiliar a uma célula com larva na fase final de alimentação. Além destas oito, outras quatro células auxiliares foram construídas, tendo sido porém, destruídas pouco tempo depois.

As cinco colônias submetidas à condição de orfandade produziram células reais também pelo processo de adição de célula auxiliar a células de cria pré-existentes (Fig. 1). Foram construídas 43 células auxiliares, das quais 34 resultaram em células reais e nove foram destruídas (Tabela 1).

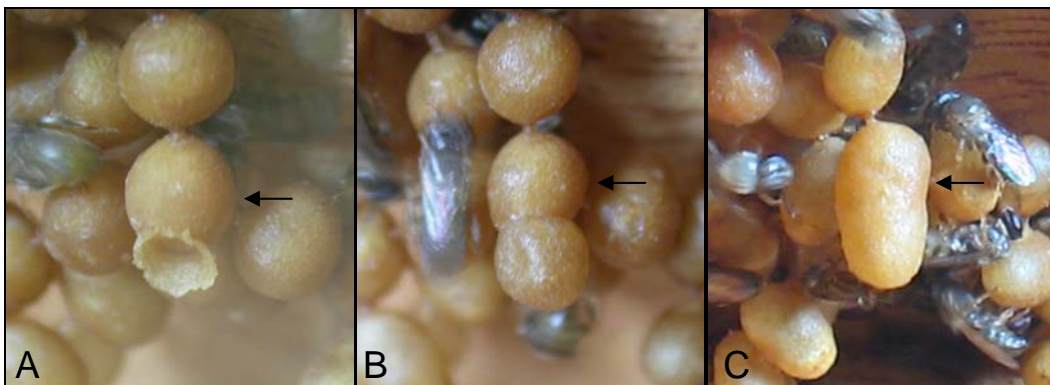


Figura 1. Produção de célula real em colônia órfã de *P. lucii*. A - Início de construção de célula auxiliar adjacente à célula de cria pré-existente (seta). B - Célula larval (seta) com célula auxiliar completamente formada. C - Célula real resultante (seta).

A construção de células auxiliares nas colônias órfãs concentrou-se no início do período de orfandade, enquanto nas colônias normais, as células auxiliares foram construídas ao longo de todo o experimento. No entanto, as colônias órfãs produziram aproximadamente quatro vezes mais células reais do que as colônias normais, em condições semelhantes (Tabela 1).

Tabela 1. Características analisadas nas dez colônias do experimento 1.

	Com rainha						Órfãs					
	4.I	7.I	41.I	A.I*	B.I	$\bar{X} (\pm s)$	4.II	7.II	41.II	A.II	B.II	$\bar{X} (\pm s)$
Dia de construção da 1ª CAux			8°	9°	7°		4°	5°	3°	2°	1°	
Dia de construção da última CAux			16°	74°	39°		23°	18°	18°	16°	21°	
n° de CAux construídas	0	0	3	4	5	2,4 ($\pm 2,30$)	8	6	8	11	10	8,6 ($\pm 1,95$)
n° de CAux que se tornaram CR	0	0	0	3	5	1,6 ($\pm 2,30$)	6	4	5	10	9	6,8 ($\pm 2,59$)
n° de CAux que foram destruídas	0	0	3	1	0	0,8 ($\pm 1,30$)	2	2	3	1	1	1,8 ($\pm 0,84$)
n° de CR destruídas ou mortas	0	0	0	0	0	0,0 ($\pm 0,00$)	1	1	2	2	0	1,2 ($\pm 0,84$)
n° de rainhas que emergiram	0	0	0	2	5	1,4 ($\pm 2,19$)	5	3	3	8	9	5,6 ($\pm 2,79$)

*1 das células reais ainda estava presente na colônia no fim do período de observação

CAux = célula auxiliar; CR = célula real

Em sete ocasiões (seis em colônias órfãs e uma em colônias normais), células que já haviam recebido uma célula auxiliar receberam uma segunda célula auxiliar. Duas destas receberam ainda uma terceira célula auxiliar. Todas, porém, foram destruídas sem que houvesse incorporação destas células na formação da célula real. Apesar de as segundas e terceiras células auxiliares terem sido destruídas, não se observou se o conteúdo alimentar contido nelas foi consumido.

As células auxiliares, na maior parte das vezes, foram construídas sobre células de cria que estavam em início de desenvolvimento e possuíam o formato esférico (Fig. 2A e B). Algumas vezes ($n = 3$), porém, foi observada a construção de células auxiliares junto a células cujas larvas estavam em fase de desenvolvimento mais avançada e apresentavam formato oval (Fig. 2A e C), mas em nenhuma destas ocasiões foi observada a formação de células reais. Nestes três casos as células auxiliares foram destruídas e as larvas continuaram a se desenvolver normalmente em suas células.

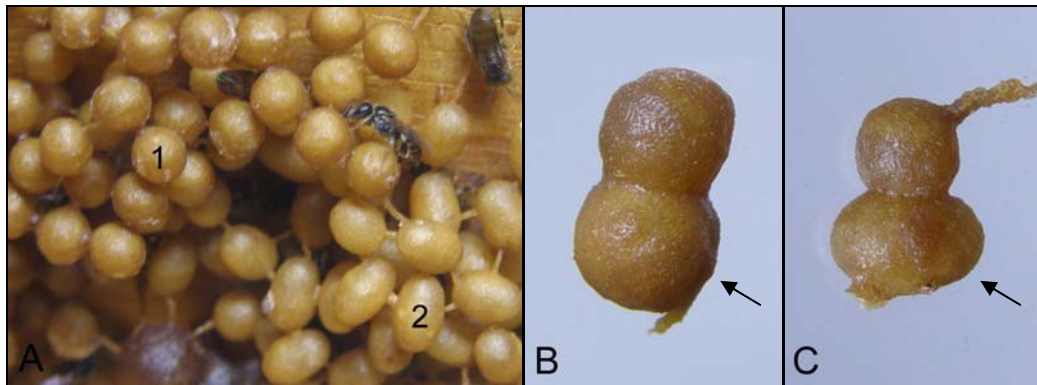


Figura 2. Células de cria e células auxiliares observadas nas colônias de *P. lucii*. A - Células de cria apresentando formato esférico (1) ou oval (2). B - Célula auxiliar construída adjacente à célula com formato esférico (seta). C - Célula auxiliar construída adjacente à célula com formato oval (seta).

As células auxiliares foram construídas com maior frequência lateralmente à célula larval (n=34), mas também foram observadas construções em baixo (n=15) e em cima (n=6) da célula larval.

Das 42 células reais produzidas no experimento 1, emergiram 35 rainhas (28 em colônias órfãs e 7 em colônias normais; Tabela 1). A primeira rainha a emergir em cada uma das colônias órfãs sobreviveu por um período que variou de 10 a 25 dias. Após esse período elas não foram mais encontradas na colônia. As demais rainhas que emergiram nessas colônias foram mortas no dia em que emergiram ou no dia seguinte. Estas rainhas, após emergirem da célula real, ficavam caminhando agitadamente pela colônia. Após algum tempo elas começaram a ser perseguidas e atacadas pelas operárias. Nesta ocasião a rainha que havia emergido primeiro ficava bastante agitada e, algumas vezes também participou do ataque à rainha mais nova (Fig. 3).



Figura 3. Ataque à rainha de *P. lucii* recém emergida (1) em colônia que já possuía uma rainha mais antiga (2).

Em uma ocasião foi observada, em colméia onde já existia uma rainha de emergência, uma célula real vazia, mas não foi possível encontrar a rainha que teria emergido dela. Entretanto, quatro dias depois duas rainhas foram observadas na colônia. Uma delas, a mais velha, caminhando normalmente pela colônia e a outra no chão, quase morta e ainda sendo atacada por operárias. Possivelmente, esta era a rainha que teria emergido quatro dias antes, pois não foi observada nenhuma outra célula real na colônia. É possível então que, nesse caso, duas rainhas tenham convivido por mais de um dia.

Quase todas as rainhas ($n = 6$) que emergiram nas colônias normais foram mantidas aprisionadas em celas de aprisionamento por vários dias (Fig. 4). Em um único caso, a rainha foi atacada e morta no dia em que emergiu. Nesta ocasião, a colônia estava com duas celas de aprisionamento. Durante os experimentos não foram vistas mais de duas celas de aprisionamento, ao mesmo tempo, em nenhuma colônia.



Figura 4. Cela de aprisionamento em colônia normal de *P. lucii*.

Celas de aprisionamento foram construídas em colônias órfãs apenas em duas ocasiões, quando emergiram as primeiras rainhas das colônias A.II e B.II. Entretanto, no dia seguinte estas celas já estavam destruídas. Um início de construção de celas de aprisionamento foi observado quando emergiram as primeiras rainhas das colônias 4.II e 41.II, mas em nenhum dos dois casos a construção foi completada.

Tanto as rainhas produzidas em colônias órfãs quanto as produzidas em colônias normais apresentaram variações de tamanho. Essas variações também foram observadas em colônias normais que não estavam sendo utilizadas no experimento (Fig. 5).



Figura 5. Variações no tamanho de rainhas de *P. lucii*. A – Rainha pequena (seta) e B – rainha grande (seta) emergidas em colônias órfãs. C - Rainhas emergidas em colônias normais.

4.2. Experimento 2

No segundo experimento, realizado para observar detalhes sobre a construção de células auxiliares, foi observada a construção de 36 destas células, sendo 31 junto a células larvais esféricas e 5 junto a células larvais ovais (Tabela 2). Trinta células auxiliares construídas junto a células larvais esféricas foram abertas para observação. Em vinte e cinco delas foi encontrado um orifício conectando as células larval e auxiliar (Fig. 6A e B). Nas outras cinco células não havia presença de orifício conectando-as às células auxiliares (Tabela 2). Em três destes casos a célula larval ainda continha alimento e ovo ou larva mortos quando foram analisados; na quarta célula (Fig. 6C), a ausência de orifício de conexão foi constatada com, no máximo, quatro horas após o fechamento da célula auxiliar. Portanto é possível que, com mais tempo, o orifício ainda fosse feito. Já na quinta

célula, a célula auxiliar ainda estava sendo provisionada quando foi retirada da colônia para observação e ainda não havia sido operculada e nem apresentava orifício de conexão (Fig. 6D). Adicionalmente, uma das células construídas adjacente à célula larval esférica, por ter sido observada já em estágio avançado, foi deixada na colônia e continuou seu desenvolvimento tornando-se uma célula real.

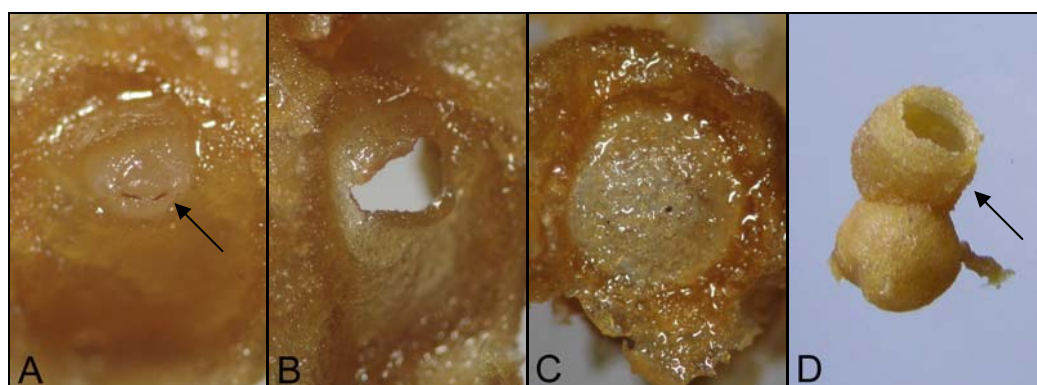


Figura 6. Parede comum às células larval e auxiliar (A - C) e célula auxiliar (D). A - Extremidade anterior da larva através de orifício que conecta células larval e auxiliar (seta). B - Orifício de conexão entre células larval e auxiliar. C - Região comum a células larval e auxiliar sem orifício de conexão. D - Célula auxiliar não operculada (seta).

Quando células auxiliares foram construídas sobre células de formato oval, não se observou a presença de orifício conectando as duas células (Tabela 2). Porém, verificou-se a presença de ovo dentro de duas das células auxiliares observadas nessa condição. Ambas foram retiradas no mesmo dia, de uma colônia em que as operárias estavam realizando postura.

Tabela 2. Características analisadas no experimento 2, nas colônias 4.I, 7.I, 11, 41.I, A.I e B.I, mantidas órfãs durante o experimento.

	4.I	7.I	11	41.I	A.I*	B.I	Total
1. Tt de dias de orfandade	12	18	15	12	18	12	-
2. CAux junto a CL esférica	4	2	5	7	8	5	31
3. CAux + CL esférica, com orifício	3	2	5	7	4	4	25
4. CAux + CL esférica, sem orifício	1	0	0	0	3	1	5
5. CAux junto a CL oval	0	0	4	0	1	0	5
6. CAux + CL oval, com orifício	0	0	0	0	0	0	0
7. CAux + CL oval, sem orifício	0	0	4	0	1	0	5
8. Tt de CAux construídas	4	2	9	7	9	5	36
9. Tt CAux c/ orifício aberto	3	2	5	7	4	4	25
10. Tt CAux s/ orifício entre as cels	1	0	4	0	4	1	10

*umas das células não foi aberta, por isso não foi possível observar presença ou ausência de orifício. Esta célula continuou seu desenvolvimento e se tornou uma célula real.

CAux = célula auxiliar; CL = célula larval; Tt = total

No experimento 2 observou-se também que as operárias raspam parte do cerume da célula larval, utilizando este material para iniciar a construção da célula auxiliar. Com isto as operárias alteram ligeiramente a convexidade normal da superfície externa da célula larval que, normalmente, possui formato esférico. Quando é iniciada a construção de uma célula auxiliar, sua região basal, que é comum às duas células se torna ligeiramente côncava (Fig. 7). Para continuar e finalizar a construção da célula auxiliar é utilizado material de construção de outras fontes que não a célula larval.



Figura 7. Início de construção de uma célula auxiliar na colônia B.I, do experimento 2, mostrando a região de contato côncava entre as células larval e auxiliar.

Os resultados obtidos indicam que o orifício de conexão entre as duas células é furado pela larva após o fechamento da célula auxiliar. Através deste orifício a larva tem acesso à célula auxiliar. Inicialmente, ela projeta apenas a extremidade anterior de seu corpo pra dentro da célula auxiliar e consome todo o alimento contido nesta (Fig. 6A), provavelmente, em um período máximo de vinte e quatro horas, a partir da construção e aprovisionamento desta célula. Após esse período a larva projeta seu corpo, através do orifício, para a célula auxiliar até ocupar o espaço das duas células. Estas vão sendo gradualmente modificadas pela própria larva e reparadas exteriormente pelas operárias. Por fim, apresentam-se completamente fundidas, com o formato de uma célula real (Fig. 1C).

Em cinco das onze colônias órfãs observadas nos dois experimentos, as operárias iniciaram postura e permaneceram realizando posturas continuamente até o término das observações. Em outras três colônias também foi observada postura de operárias, porém com menor intensidade e durante um período de tempo muito menor do que observado nas cinco colônias citadas.

5. DISCUSSÃO

As rainhas das abelhas sem ferrão são produzidas a partir de larvas fêmeas que, de um modo geral, recebem mais alimento que as operárias. Além disso, o aprovisionamento das células de cria é massal, de modo que os adultos não mantêm contato com as larvas durante o desenvolvimento (Michener 1974). Por isso, durante muito tempo se considerou que estas abelhas não seriam capazes de responder à condição de orfandade produzindo rainhas de emergência. Entretanto, Faustino *et al.* (2002) verificaram experimentalmente que rainhas poderiam ser produzidas em colônias órfãs de *Frieseomelitta varia*. Nessa condição as operárias constroem células auxiliares acopladas a células de cria nas quais larvas fêmeas estão terminando de ingerir seu alimento. Após perfurar a parede da célula, a larva ingere o alimento depositado na célula auxiliar, a célula larval é remodelada e a larva se diferencia em rainha (Faustino *et al.* 2002). Fenômeno semelhante foi observado em *Plebeia lucii* por Teixeira e Campos (2005).

O presente trabalho mostra que em colônias órfãs dessa espécie, assim como em *F. varia*, aparentemente as operárias da colônia identificam células de larvas de uma fase específica do desenvolvimento (larvas que estejam terminando de se alimentar, ainda não tenham iniciado a eliminação das fezes e estejam em células que ainda apresentem o formato esférico) e, adjacentes a estas células, constroem as células auxiliares. A união e remodelagem das células larvais e auxiliares dão origem às células reais.

Terada (1974), descrevendo o processo de produção de rainhas em colônias normais de *F. varia*, verificou que as larvas que já terminaram de se alimentar furam a parede de uma outra célula, que esteja próxima à sua, consumindo o alimento desta. De acordo com a autora, os ovos ou larvas que estivessem nessas células fatalmente morreriam. Entretanto, Faustino *et al.* (2002) verificaram que em colônias órfãs de *F. varia* as larvas que se tornam rainhas ingerem o alimento de uma célula auxiliar, que é construída adjacente à célula da larva, e não o alimento de uma célula larval próxima. Os dados obtidos no presente trabalho corroboram aqueles de Faustino *et al.* (2002) e, adicionalmente, nos mostram que, em colônias órfãs de *P. lucii*, as células auxiliares normalmente também não contêm ovos. Em colônias normais de *P. lucii*, a construção de células auxiliares e de células reais se dá da mesma maneira que em colônias órfãs,

entretanto, nesse caso, não foi verificada a presença ou ausência de ovos nas células auxiliares.

O número de células reais construídas em colônias normais de *P. lucii* foi menor que o produzido em colônias órfãs. Muito possivelmente esta seja a única forma de produção de células reais nesta espécie, uma vez que ainda não foram observadas células reais sendo inicialmente construídas em tamanho maior e sendo provisionadas com todo o alimento necessário para que a larva se torne rainha, como ocorre na maioria das abelhas sem ferrão.

A construção de células auxiliares em *P. lucii* difere em alguns detalhes do observado em *F. varia* por Faustino *et al.* (2002). As células auxiliares construídas em *P. lucii* normalmente compartilham uma área relativamente grande da mesma parede com as células larvais. Em *F. varia* a área de parede compartilhada é bem pequena. Nesta espécie, após provisionamento e fechamento da célula auxiliar, as operárias depositam cera ao redor desta área de contato entre as duas células, que é chamada por Faustino *et al.* (2002) de conexão de alimentação (*feeding connection*). A conexão observada em *P. lucii* é diferente, pois a área da região compartilhada pelas células é bem maior e não ocorre deposição de cera ao seu redor. Faustino *et al.* (2002) sugeriram que a conexão alimentar resulta da ação coordenada das operárias e da larva, onde as primeiras depositam a cera no exterior da região de conexão enquanto a última furaria o orifício que conecta as duas células. Em *P. lucii*, é também a larva que fura o orifício de conexão na parede comum às duas células, através do qual ela tem acesso ao alimento da célula auxiliar.

É possível que o estímulo para que a larva estabeleça a conexão entre a sua célula e a célula auxiliar em *P. lucii* seja a passagem de substâncias voláteis do alimento através da parede comum às duas células, que foi adelgada pela retirada de parte do cerume. Este estímulo pode também ser consequência da mudança na convexidade da parede da célula larval na região onde se acopla a célula auxiliar. Aparentemente a resposta das larvas à construção de células auxiliares adjacentes às suas células é dependente da idade, pois, quando a célula auxiliar foi construída junto a células ovais, onde as larvas são mais velhas, estas não perfuraram a parede comum às duas células e dessa forma não acessaram o alimento contido na célula auxiliar.

Larvas de *P. lucii*, enquanto consomem o alimento da célula auxiliar, permanecem em suas células, inserindo na célula auxiliar apenas sua extremidade anterior, assim como observado em *F. varia* (Faustino *et al.* 2002). Mas ao contrário do que ocorre em *F. varia*, onde a célula auxiliar é destruída, em *P. lucii* ela é incorporada à célula larval, dando origem à célula real. Assim sendo, após o período de alimentação, a larva necessariamente extrapola os limites da célula larval e invade o espaço da célula auxiliar, passando a ocupar o espaço das duas células.

Drumond *et al.* (2000), comparando o comportamento de provisionamento e oviposição em colônias normais de sete espécies de *Plebeia*, verificaram que, durante todo período do experimento, não foi observada nenhuma operária de *P. lucii* (citada como *P. minima* 3) realizando postura, ao contrário das outras espécies de *Plebeia*, cujas operárias realizam posturas com certa frequência. No presente trabalho em, pelo menos, metade das colônias órfãs observadas as operárias realizaram postura. Assim como o comportamento de postura de operárias de *P. lucii* parece ser inibido pela presença da rainha, provavelmente a construção de células auxiliares também é regulada por algum processo semelhante (colônias sem rainhas produziram um número muito maior de células reais que colônias normais, em condições semelhantes).

Rainhas de *Plebeia* normalmente são atrativas desde o momento em que emergem (Imperatriz-Fonseca e Zucchi 1995). Nas colônias normais de *P. lucii* observadas no presente trabalho, assim como em outras colônias normais da espécie, as rainhas ao emergirem foram aprisionadas em celas e permaneceram nessa condição por vários dias. Por outro lado, nas colônias órfãs, em apenas duas colônias, logo após a primeira rainha emergir, foram construídas celas de aprisionamento completas, mas estas foram destruídas rapidamente. A primeira rainha que emergiu em cada colônia foi aceita e, todas as outras que emergiram posteriormente foram eliminadas pelas operárias. Várias vezes a rainha que havia sido aceita também demonstrava comportamento agressivo em relação à rainha mais nova. Situação semelhante foi observada em *P. remota* (Ribeiro *et al.* 2003) em duas colônias órfãs que apresentaram produção excessiva de rainhas, uma foi aceita e as outras foram eliminadas ou não foram mais observadas na colônia, nenhuma delas foi mantida aprisionada. É possível que em colônias órfãs, devido

à ausência da rainha fecundada, celas de aprisionamento de rainhas não sejam construídas para abrigar as rainhas recém emergidas (Ribeiro *et al.* 2003).

Não foi possível verificar se as rainhas de emergência são capazes de assumir o lugar da rainha ausente em colônias órfãs porque rainhas que emergiram primeiro e que permaneceram nas colônias por períodos superiores a um dia, após algum tempo de permanência na colônia, não foram mais encontradas. Ao contrário do observado em *F. varia* (Faustino *et al.* 2002), as rainhas de emergência de *P. lucii* desapareceram sem que houvessem iniciado postura. Provavelmente, o fato de as operárias estarem realizando postura deve ter contribuído para dificultar ou, até mesmo para impedir, o estabelecimento das rainhas. É possível que em *P. lucii*, assim como acontece em *Bombus* (Röseler e Honk 1990) e em *Apis* (Velthuis *et al.* 1990), as operárias que realizam postura possam produzir substâncias, ou apresentar comportamentos, semelhantes aos de rainhas fisogástricas em colônias normais dificultando a aceitação da nova rainha.

Em *F. varia* as operárias não desenvolvem ovário nem em situações de orfandade da colônia (Da Cunha e Campos 1993), o que proporciona um ambiente diferente do encontrado nas colônias órfãs de *P. lucii*. Outros fatores também podem ter influenciado a não aceitação das rainhas como, por exemplo, o tamanho das colônias (em colônias maiores, as operárias “dominantes” teriam uma menor influência) e a disponibilidade de machos no campo (é possível que as novas rainhas não tenham se acasalado).

Outra característica observada no presente trabalho, foi a variação de tamanho corporal das rainhas. O primeiro relato da produção de rainhas pequenas em *P. lucii* foi feito por Teixeira e Campos (2005) em um experimento onde todas as rainhas produzidas em mini-colônias órfãs foram menores do que aquelas normalmente produzidas em colônias com rainhas. A produção de rainhas anãs (Ribeiro 2004, Ribeiro *et al.* 2006) já foi observada em várias espécies, entre elas estão *Plebeia julianii* (Juliani 1967), *Schwarziana quadripunctata* (Camargo 1974, Campos e Costa 1989, Ribeiro e Alves 2001, Wenseleers *et al.* 2005) e *Nannotrigona testaceicornis* (Imperatriz-Fonseca *et al.* 1997). As rainhas produzidas neste experimento apresentaram variações de tamanho, porém, ao contrário do observado em *S. quadripunctata* (Camargo 1974, Ribeiro e Alves 2001, Wenseleers *et al.* 2005) e *P. julianii* (Juliani 1967) todas as rainhas de *P. lucii* produzidas durante o experimento emergiram de células reais (originadas a

partir da adição de célula auxiliar) maiores que células de operárias. A produção de rainhas pequenas em *P. lucii*, em particular, parece estar relacionada com a disponibilidade de alimento na colônia e não com a condição de orfandade da colônia, como foi sugerido por Teixeira e Campos (2005), uma vez que as rainhas de emergência não são necessariamente pequenas, e que também já foram encontradas variações no tamanho de rainhas presentes em colônias normais. É possível que pequenos acréscimos na quantidade de alimento normalmente consumido pelas larvas de operárias sejam suficientes para levar ao desenvolvimento de rainhas em *P. lucii*, assim como ocorre em *S. quadripunctata* (Campos e Costa 1989).

É interessante notar que, em todos os casos observados de produção de células reais por processo semelhante ao observado em *P. lucii* [*F. varia* e *Leurotrigona muelleri* (Terada 1974), *Trigonisca (Celetrigona) longicornis* (Mateus, dados não publicados, citado por Faustino *et al.* 2002), *F. varia* (Faustino *et al.* 2002)], as células de cria da colônia são organizadas em cacho. É possível que essa forma de organização das células de cria seja um fator indispensável para que seja possível a construção de células auxiliares. Estudos futuros são necessários para verificar se outras espécies que apresentam células de cria dispostas da mesma maneira também produzem células reais por este processo.

6. CONCLUSÕES

Em *Plebeia lucii*, as rainhas, tanto em colônias órfãs quanto em colônias normais (com rainha), são produzidas a partir de células de operárias, junto às quais são construídas células auxiliares.

As operárias das colônias de *P. lucii* respondem à condição de orfandade produzindo células auxiliares, que resultarão em células reais, nas quais se desenvolverão rainhas de emergência.

Células auxiliares em *P. lucii* são normalmente construídas sobre células larvais de formato esférico, cuja larva está terminando de se alimentar e ainda não iniciou a eliminação das fezes nem a tecelagem do casulo.

O orifício de conexão entre as células larval e auxiliar é feito pela larva.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Camargo, C.A. 1972. **Determinação de castas em *Scaptotrigona postica* Laitrelle (Hymenoptera, Apidae)**. Rev. Brasil. Biol. 32(1): 133-138.
- Camargo, J.M.F. 1974. **Notas sobre a morfologia e biologia de *Plebeia (Schwarziana) quadripunctata* (Hym., Apidae)**. Studia Entomologica. 17: 433-470.
- Campos, L.A.O.; Costa, M.A. 1989. **Determinação do sexo em abelhas XXVIII. Determinação das castas em *Schwarziana quadripunctata* (Hymenoptera, Apidae)**. Revista Brasileira de Biologia 49(4): 999-1001.
- Da Cunha, M.A.S.; Campos, L.A.O. 1993. **Desenvolvimento ovariano em operárias de *Frieseomelitta varia varia* (Lep. 1836) (Hymenoptera, Apidae)**. Revista Brasileira de Biologia 53(1): 63-69.
- Drumond, P.M.; Zucchi, R.; Oldroyd, B.P. 2000. **Description of the cell provisioning and oviposition process of seven species of *Plebeia* Schwarz (Apidae, Meliponini), with notes on their phylogeny and taxonomy**. Insectes Sociaux 47: 99-112.
- Engels, W.; Imperatriz-Fonseca, V.L. 1990. **Caste development, reproductive strategies, and control of fertility in honey bees and stingless bees**. In: Social Insects – An evolutionary approach to castes and reproduction. Engels, W. (Ed.) Berlin: Springer-Verlag. pp 167-230.
- Faustino, C.D.; Silva-Matos, E.V.; Mateus, S.; Zucchi, R. 2002. **First record of emergency queen rearing in stingless bees (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)**. Insectes Sociaux. 49: 111-113.
- Imperatriz-Fonseca, V.L.; Cruz-Landim, C.; Silva de Moraes, R.L.M. 1997. **Dwarf gynes in *Nannotrigona testaceicornis* (Apidae, Meliponinae, Trigonini). Behaviour, exocrine gland morphology and reproductive status**. Apidologie 28: 113-122.
- Imperatriz-Fonseca, V.L.; Zucchi, R. 1995. **Virgin queens in stingless bee (Apidae, Meliponinae) colonies: a review**. Apidologie 26: 231-244.
- Juliani, L. 1967. **A descrição do ninho e alguns dados biológicos sobre a abelha *Plebeia julianii* Moure, 1962 (Hymenoptera, Apoidea)**. Revista Brasileira de Entomologia XII: 31-59.
- Kerr, W.E. 1950. **Genetic determination of castes in the genus *Melipona***. Genetics 35: 143-152.
- Kerr, W.E.; Stort, A.C.; Montenegro, M. 1966. **Importância de alguns fatores ambientais na determinação de castas do gênero *Melipona***. Anais da Academia Brasileira de Ciências 38(1): 149-168.
- Michener, C.D. 1974. **The social behavior of bees**. Cambridge, Massachusetts: The Belknap Press of Harvard University Press. 404p.

- Michener, C.D. 2000. **The bees of the world**. Baltimore & London: The Johns Hopkins University Press. 913p.
- Moure, J.S. 2004. **Duas espécies novas de *Plebeia* Schwarz do Brasil (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae)**. Revista Brasileira de Entomologia 48(2): 199-202.
- Nogueira-Neto, P. 1970. **A criação de abelhas indígenas sem ferrão**. São Paulo: Chácaras e Quintais. 365p.
- Ribeiro, M.F. 2004. **Miniature queens in stingless bee species – a review**. Proceedings of the 8th IBRA Internacional Conference on Tropical Bees and VI Encontro Sobre Abelhas
- Ribeiro, M.F.; Alves, D.A. 2001. **Size variation in *Schwarziana quadripunctata* queens (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)**. Revista de Etologia 3(1): 59-65.
- Ribeiro, M.F.; Imperatriz-Fonseca, V.L.; Filho, P.S.S. 2003. **Exceptional high queen production in the brazilian stingless bee *Plebeia remota***. Studies on Neotropical Fauna and Environment 38(2): 111-114.
- Ribeiro, M.F.; Wenseleers, T.; Filho, P.S.S.; Alves, D.A. 2006. **Miniature queens in stingless bees: basic facts and evolutionary hypotheses**. Apidologie 37: 191-206.
- Röseler, P-F.; Honk, C.G.J.van. 1990. **Castes and reproduction in bumblebees**. In: Social Insects – An evolutionary approach to castes and reproduction. Engels,W. (Ed.) Berlin: Springer-Verlag. pp 147-166.
- Sakagami, S.F. 1982. **Stingless bees**. In: Social Insectes Vol III. Hermann, H.R. (ed.). New York: Academic Press. pp 361-423.
- Teixeira, L.V.; Campos, L.A.O. 2005. **Produção de rainhas de emergência em *Plebeia lucii* (Hymenoptera, Apidae, Meliponina)**. Anais do I Simpósio Brasileiro de Insetos Sociais.
- Terada, Y. 1974. **Contribuição ao estudo da regulação social em *Leurotrigona muelleri* e *Frieseomelitta varia* (Hymenoptera, Apidae)**. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, Brasil.
- Tóth, E.; Strassmann, J.E.; Nogueira-Neto, P.; Imperatriz-Fonseca, V.L.; Queller, D.C. 2002. **Male production in stingless bees; variable outcomes of queen-worker conflict**. Molecular Ecology. 11: 2661-2667.
- Velthuis, H.H.W.; Ruttner, F.; Crewe, R.M. 1990. **Differentiation in reproductive physiology and behaviour during the development of laying worker honey bees**. In: Social Insects – An evolutionary approach to castes and reproduction. Engels,W. (Ed.) Berlin: Springer-Verlag. pp 147-166.
- Wenseleers, T.; Ratnieks, F.L.W.; Ribeiro, M.F.; Alves, D.A.; Imperatriz-Fonseca, V.L. 2005. **Working-class royalty: bees beat the caste system**. Biol. Lett. 1: 125-128.