

Universidade Federal do Rio de Janeiro

COMPORTAMENTO REPRODUTIVO DE *CENTRIS ANALIS*, *CENTRIS TARSATA* E
MEGACHILE MICROSONA (HYMENOPTERA: APIDAE, MEGACHILIDAE) NA
AMAZÔNIA ORIENTAL, BRASIL



Diego Marinho Pereira

COMPORTAMENTO REPRODUTIVO DE *CENTRIS ANALIS*, *CENTRIS TARSATA* E
MEGACHILE MICROSOMA (HYMENOPTERA: APIDAE, MEGACHILIDAE) NA
AMAZÔNIA ORIENTAL, BRASIL.

Diego Marinho Pereira

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Zoologia), Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas (Zoologia).

Orientador: Prof. Dr. Felipe Vivallo

Rio de Janeiro,
Maio de 2025

COMPORTAMENTO REPRODUTIVO DE *CENTRIS ANALIS*, *CENTRIS TARSATA* E
MEGACHILE MICROSONA (HYMENOPTERA: APIDAE, MEGACHILIDAE) NA
AMAZÔNIA ORIENTAL, BRASIL.

Diego Marinho Pereira

Tese de Doutorado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Zoologia), Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas (Zoologia).

Aprovada por:

Presidente, Prof. Dr. Felipe Vivallo

Profa. Dra. Valéria Cid Maia

Prof. Dr. José Ricardo Mira Mermudes

Profa. Dra. Kelli dos Santos Ramos

Profa. Dr. William de Oliveira Sabino

Rio de Janeiro

Maio de 2025

M338c Marinho, Diego
COMPORTAMENTO REPRODUTIVO DE CENTRIS ANALIS,
CENTRIS TARSATA E MEGACHILE MICROSOMA (HYMENOPTERA:
APIDAE, MEGACHILIDAE) NA AMAZÔNIA ORIENTAL, BRASIL.
/ Diego Marinho. -- Rio de Janeiro, 2025.
62 f.

Orientador: Felipe Vivallo.
Tese (doutorado) - Universidade Federal do Rio
de Janeiro, Museu Nacional, Programa de Pós-Graduação
em Ciências Biológicas (Zoologia), 2025.

1. acasalamento. 2. cópula. 3. Centridini. 4.
Megachilini. 5. reprodução. I. Vivallo, Felipe ,
orient. II. Título.

AGRADECIMENTOS

À minha mãe e a meu pai e a minha irmã, pois eu não estaria onde estou se não fosse pelo suporte delas. Ao meu companheiro da vida, Victor Silveira, por todo o apoio incondicional desde que nos conhecemos. A caminhada foi bem mais leve com teu suporte.

Ao meu orientador Felipe Vivallo por ter me ensinado desde o mestrado a pensar fora da caixa e a acreditar nas minhas ideias mais ousadas.

À minha orientadora da graduação Gisele Garcia Azevedo, por todo o apoio logístico e moral durante a minha caminhada durante este doutorado. À equipe do LESPP pelas ajudas nas coletas com ninhos-armadilha.

Aos meus colegas do Laboratório de Hymenoptera do Museu Nacional e, especialmente, ao Danny Velez por sempre me socorrer com referências difíceis e ao Enderlei Dec por me ajudar com a sua experiência com cópula de abelhas coletoras de óleo no meio natural delas.

Aos professores das minhas bancas de seminário, pelos comentários construtivos que me ajudaram a olhar para alguns aspectos da tese por outras perspectivas.

À Anete Luz, secretária do PPGZoo por toda ajuda com a burocracia do programa e sempre com uma palavra amiga diante das nossas dificuldades.

Ao William Sabino e à Adriana Tiba por me cederem alguns vídeos de cópula de outras espécies de abelhas diferentes das estudadas aqui, o que me permitiu ter o mínimo de base para comparações mais gerais.

Às minhas amigas da Secretaria Municipal de Ciência, Tecnologia, Inovação e Desenvolvimento Sustentável: à Monique Carmona que me ajudou com meus horários para conciliar a pesquisa da tese e a Brunna Penha e Eliane Pinheiro pelo incentivo nos meus dias de “vai dar tudo errado”.

Ao CNPq, à CAPES, ao PPGZoo, à UFRJ e à UFMA pelo financiamento e infraestrutura necessários para realização dessa tese.

RESUMO

COMPORTAMENTO REPRODUTIVO DE *CENTRIS ANALIS*, *CENTRIS TARSATA* E *MEGACHILE MICROSOMA* (HYMENOPTERA: APIDAE, MEGACHILIDAE) NA AMAZÔNIA ORIENTAL, BRASIL

Diego Marinho Pereira

Orientador: Prof. Dr. Felipe Vivallo

Resumo da Tese de Doutorado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Zoologia), Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Zoologia.

As abelhas solitárias (Hymenoptera: Anthophila) compreendem a maior parte das espécies de abelhas existentes e, apesar dessa grande diversidade de histórias de vida, pouco se sabe de suas biologias reprodutivas em comparação a outros aspectos de sua bionomia. Dentre as espécies solitárias, as abelhas que nidificam no solo possuem seu comportamento reprodutivo mais bem estudado do que aquelas que nidificam em outros substratos, como cavidades pré-existentes. Este trabalho teve como objetivo trazer dados inéditos sobre o comportamento reprodutivo de três espécies de abelhas solitárias: *Centris* (*Hemisiella*) *tarsata* Smith, 1874, *C. (Heterocentris) analis* (Fabricius, 1804) e *Megachile* (*Ptilosarus*) *microsoma* Cockerell, 1912. As duas primeiras espécies são bem conhecidas do ponto de vista de sua biologia de nidificação, mas não existem dados sobre seu comportamento reprodutivo. Já *M. microsoma* possui pouquíssimos dados de sua bionomia e nenhum dado de seu comportamento reprodutivo. As abelhas foram coletadas no bioma amazônico da Ilha do Maranhão, Maranhão, Brasil, entre os anos de 2021 e 2023 utilizando ninhos-armadilha. Todas as espécies estudadas resultaram ser protândricas e as fêmeas copularam apenas uma vez. *Centris analis* foi a espécie com a cópula mais longa, enquanto *M. microsoma* teve a cópula mais curta. Há indícios de diferentes estratégias reprodutivas entre as espécies de *Centris*, o que pode estar ligada a teoria do conflito entre os sexos e a teoria da escolha críptica da fêmea. Em *M. microsoma* nota-se que algumas peculiaridades morfológicas podem estar ligadas à forma como a abelha copula.

Palavras-chave: acasalamento, cópula, Centridini, Megachilini, reprodução, sexo.

Rio de Janeiro,
Maio de 2025

ABSTRACT

REPRODUCTIVE BEHAVIOR OF *CENTRIS ANALIS*, *CENTRIS TARSATA* AND *MEGACHILE MICROSONA* (HYMENOPTERA: APIDAE, MEGACHILIDAE) AT THE EASTERN AMAZON, BRAZIL

Diego Marinho Pereira

Orientador: Prof. Dr. Felipe Vivallo

Abstract da Tese de Doutorado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Zoologia), Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Zoologia.

Solitary bees (Hymenoptera: Anthophila) make up the majority of existing bee species. Despite their vast diversity in life histories, little is known about their reproductive biology compared to other aspects of their bionomy. Among solitary bees, those that nest in the soil have had their reproductive behavior studied more thoroughly than those that nest in other substrates, such as in pre-existing cavities. This study aimed to provide unprecedented data on the reproductive behavior of three species of solitary bees: *Centris* (*Hemisiella*) *tarsata* Smith, 1874, *C. (Heterocentris) analis* (Fabricius, 1804), and *Megachile (Ptilosarus) microsoma* Cockerell, 1912. The first two species are well known regarding their nesting biology, but no data exists on their reproductive behavior. *M. microsoma*, on the other hand, has very little information available about its bionomy and nothing is known about its reproductive behavior. The bees were collected in the Amazon biome on Ilha do Maranhão, Maranhão, Brazil, between 2021 and 2023 using trap nests. All species studied were protandrous and females mated only once. *Centris analis* had the longest copulation, while *M. microsoma* had the shortest. There are indications of different reproductive strategies among *Centris* species, which may be related to the theories of “Sexual Conflict” and the “Cryptic Female Choice”. In *M. microsoma*, certain morphological peculiarities may be linked to the way the bee mates.

Key-words: copulation, Centridini, mating, Megachilini, reproduction, sex.

Rio de Janeiro
Maio de 2025

ÍNDICE DE TABELAS

TABELA 1. Exemplos de <i>Centris tarsata</i> utilizados nos experimentos de cópula com suas respectivas origens. Os códigos na coluna “Pareamento” referem-se à origem das abelhas pareadas: 0 = mesmo ninho, (1) = ninhos diferentes, (2) = áreas diferentes.....	17
TABELA 2. Exemplos de <i>Centris analis</i> utilizados nos experimentos de cópula com suas respectivas origens. Os códigos na coluna “Pareamento” referem-se à origem das abelhas pareadas: 0 = mesmo ninho, (1) = ninhos diferentes, (2) = áreas diferentes.....	18
TABELA 3. Modelos Lineares Generalizados para modelagem do comportamento de <i>Centris tarsata</i>	23
TABELA 4. Comparação dos modelos apresentados na Tabela 3 (acima). O melhor modelo que explica a ocorrência de pelo menos uma cópula em <i>Centris tarsata</i> é o modelo 4.	23
TABELA 5. Comportamentos que influenciaram no desfecho “ocorrência de uma ou mais cópulas em <i>Centris tarsata</i>	24
TABELA 6. Modelos Lineares Generalizados para modelagem do comportamento de <i>Centris analis</i>	28
TABELA 7. Comparação dos modelos apresentados na tabela 6 (acima).	28
TABELA 8. Modelos Lineares Generalizados para modelagem do desfecho “número de cópulas” no acasalamento de <i>Centris analis</i>	29
TABELA 9. Comparação dos modelos apresentados na Tabela 8 (acima). O melhor modelo que explica o número de cópulas em <i>Centris analis</i> é o 6.	29

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. Localização das áreas de coleta no presente estudo.	13
FIGURA 2. Ninhos armadilhas colocados em campo para coleta.	13
FIGURA 3. Fêmea de <i>Centris analis</i> se alimentando com solução de água e sacarose.....	14
FIGURA 4. Cópula em <i>Centris tarsata</i>	19
FIGURA 5. Macho de <i>Centris tarsata</i> com as pernas envolvendo no metassoma da fêmea. As setas indicam os pontos de contato do macho no corpo da fêmea (base do metassoma, mesossoma na altura das tégulas e cabeça na fêmea.	20
FIGURAS 6A, B. A. Fêmea de <i>Centris tarsata</i> expondo o ferrão (seta) antes de o macho realizar a intromissão da genitália. B. Macho de <i>C. tarsata</i> realizando a intromissão da genitália pelo lado direito (seta) do forâmen genital da fêmea.....	21
FIGURAS 7A–D. Cópula de <i>Centris tarsata</i> : A. Macho em posição de monta. B. Macho realizando a intromissão da genitália na fêmea. C. Fêmea expondo o ferrão durante a cópula (detalhe indicado pela seta). D. Fêmea levantando as pernas posteriores para desalojar o macho.	21
FIGURA 8. Teste de Wilcoxon e Kruskal-Wallis para verificar se a origem dos indivíduos de <i>Centris tarsata</i> teve influência no tempo até o pareamento.	22
FIGURA 9A, B. Relação das variáveis “tempo até o pareamento” e “tempo de pré-cópula” para a ocorrência de cópula em <i>Centris tarsata</i>	24
FIGURAS 10A–D. Cópula em <i>Centris analis</i> : A. Macho em posição de monta sobre a fêmea. B. Macho fazendo a intromissão da genitália pela direita. C. Fêmea expondo o ferrão durante a cópula (seta). D. Macho tentando desalojar outro macho em posição de monta sobre a fêmea.....	26
FIGURA 11. Teste de Wilcoxon e Kruskal-Wallis para verificar se a origem dos indivíduos de <i>Centris analis</i> teve influência no tempo até o pareamento.	27
FIGURA 12. Relação das variáveis “antagonismo da fêmea” e “tempo de pré-cópula” para a ocorrência de cópula em <i>Centris analis</i>	28
FIGURA 13. Relação das variáveis “tempo de estímulo do esterno da fêmea” e “tempo de vibração do metassoma” para a ocorrência de cópula em <i>Centris analis</i>	30
FIGURAS 14A–D. A. Macho de <i>Megachile (Ptilosarus) microsoma</i> abordando a fêmea. B. Macho montando na fêmea por trás. C. Contato genital entre macho e fêmea. D. Macho sendo desalojado da posição de monta pela fêmea.....	37

FIGURA 15. Contato genital entre macho e fêmea de *Megachile microsoma* com o corpo da fêmea em U. A seta indica a posição das garras e dos tarsômeros na área da base da mandíbula e dos olhos compostos da fêmea..... 38

Sumário

1. INTRODUÇÃO GERAL	1
1.1 COMPORTAMENTO REPRODUTIVO EM INSETOS NO GERAL E EM ABELHAS SOLITÁRIAS EM PARTICULAR	2
1.3 DIVERSIDADE DE SISTEMAS DE ACASALAMENTO EM ABELHAS SOLITÁRIAS.....	4
1.3.1 Poliginia através da defesa das fêmeas	5
1.3.2 Poliginia através da defesa de recursos coletados pela fêmea	5
1.3.3 Poliginia através do acesso diferencial às fêmeas	6
1.3.4 Poliginia através da dominância do macho	7
1.3.5 Atração da fêmea a partir de sinais químicos	7
1.4 TEORIAS QUE EXPLICAM O COMPORTAMENTO REPRODUTIVO EM ABELHAS SOLITÁRIAS	8
CAPÍTULO 1 – COMPORTAMENTO DE CÓPULA EM <i>CENTRIS (HETEROCENTRIS) ANALIS</i> E <i>CENTRIS (HEMISIELLA) TARSATA</i>, COM NOTAS SOBRE O COMPORTAMENTO REPRODUTIVO NO GÊNERO <i>CENTRIS</i>	10
2.1 INTRODUÇÃO	10
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	12
2.2.1 Coleta de abelhas e manutenção em laboratório	12
2.2.2 Experimentos de cópula	15
2.2.2.1 Materiais utilizados durante os experimentos	15
2.2.2.2 Terminologias utilizadas	15
2.2.2.3 Análise dos comportamentos observados.....	15
2.3 RESULTADOS	17
2.3.1 Cópulas em <i>Centris (Hemisiella) tarsata</i> (Figura 4).....	19
2.3.2 Registro de cópulas em <i>Centris (Heterocentris) analis</i> (Figura 10)	25
2.4 DISCUSSÃO	30

CAPÍTULO 2 - CÓPULA EM <i>MEGACHILE (PTILOSARUS) MICROSONA</i> COM NOTAS SOBRE O COMPORTAMENTO REPRODUTIVO DO GÊNERO <i>MEGACHILE</i>	35
3.1 INTRODUÇÃO	35
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	35
3.3 RESULTADOS	36
3.4 DISCUSSÃO	38
CONCLUSÃO GERAL	40
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42

1. INTRODUÇÃO GERAL

O comportamento reprodutivo em animais possui um padrão comum, no qual o macho se exhibe para conseguir acasalamentos, enquanto a fêmea escolhe com quem irá acasalar (Rubenstein & Alcock 2018). A biologia evolutiva busca uma resposta da razão para a qual isso acontece em organismos sexuados desde o tempo em que Charles Darwin (1809–1882) publicou o livro “*A descendência do homem, e a seleção em relação ao sexo*”. Darwin propôs a teoria da Seleção Sexual, na qual ele considerou que a consequência dos comportamentos e características extravagantes que precedem o processo de reprodução estaria diretamente relacionado à reprodução diferencial dos organismos envolvidos no processo (Darwin 1872). Estes comportamentos e características ainda estão sujeitos às limitações impostas pela seleção natural, de forma que a seleção sexual pode ser considerada como um processo que direciona a evolução dentro da seleção natural (Eberhard 1996b, 2021).

Embora a seleção sexual seja responsável pelo surgimento de estratégias e características notáveis nos organismos de espécies sexuadas (Alcock 2013a; Andersson 1994; Emlen & Oring 1977), apenas recentemente ela passou a ser considerada como uma ferramenta evolutiva importante, se comparada, por exemplo, com a seleção natural e à deriva genética (Parker *et al.* 1972).

Darwin explorou amplamente a seleção sexual em suas obras “*Variation of plants and animals under domestication*” (Darwin 1868) e “*The descent of man and selection in relation to sex*” (Darwin 1872). Nesta última, ele cunhou a expressão “seleção sexual” e explicou a que essa força evolutiva se referia: acesso diferenciado de determinados machos a acasalamentos através da escolha da fêmea. Consequentemente, a reprodução resultaria não ser uma jornada cooperativa entre os sexos para “garantir a perpetuação da espécie”, mas uma disputa individual sobre quem deixa mais descendentes (Alcock 1980; Parker *et al.* 1972).

Apesar da profundidade com a qual Darwin discutiu diferenças morfológicas e comportamentais entre os sexos, bem como a herança dessas características ao longo das gerações e suas manifestações em diversos grupos animais, pouco dessas ideias permeou trabalhos relativos à evolução dos organismos sexuados até a década de 1970. Dentre os diversos organismos que Darwin utilizou como exemplo para explicar o que observava na natureza, as vespas do gênero *Ammophila* Kirby, 1798 e a espécie *Crabro cribrarius*

(Linnaeus, 1758) foram utilizadas para ilustrar a diferença entre sexos e a seleção sexual (Darwin 1872).

Em Hymenoptera e, especificamente, na maioria das espécies de abelhas solitárias (Anthophila), as fêmeas acasalam apenas uma vez, enquanto os machos podem acasalar várias vezes (Danforth et al. 2019). Como consequência desse padrão, a poliginia é comum entre esse grupo de insetos. Nesse sentido, é esperado que na maioria dessas espécies, a razão sexual seja enviesada para machos (Stubblefield *et al.* 1994). Como os machos estão em maior número e podem acasalar mais de uma vez, há competição para acesso às fêmeas que estejam aptas a acasalar (Danforth *et al.* 2019).

Diante o exposto, espera-se o surgimento de diversas estratégias por parte dos machos para acessar fêmeas receptivas, uma vez que estas são consideradas recurso limitado para eles em relação à sua reprodução. Por outro lado, espera-se, também, que a seletividade por parte das fêmeas aumente, uma vez que elas não são passivas no processo de reprodução e são o sexo que faz o maior investimento qualitativamente. No entanto, a sutileza da seletividade das fêmeas (e.g. escolha críptica das fêmeas, Eberhard 1985), muitas vezes impede que análises sobre critério, ou mesmo a própria forma de escolha exercida por elas seja percebida por observadores humanos (Alcock 2013; Danforth et al. 2019). Considerando esses fatos, surge o conflito entre os sexos (Parker *et al.* 1972). Essa dinâmica do comportamento reprodutivo de abelhas, e sobretudo das espécies solitárias, é pouco estudada ainda. Dessa forma, iremos discutir alguns aspectos da reprodução desses organismos.

1.1 COMPORTAMENTO REPRODUTIVO EM INSETOS NO GERAL E EM ABELHAS SOLITÁRIAS EM PARTICULAR

A reprodução em organismos sexuais pode ser considerada uma relação mutualística intraespecífica que é tipicamente obrigatória e com alguma sobreposição nos interesses entre ambos os sexos, mas de natureza essencialmente assimétrica (Alexander *et al.* 1997). A relação é considerada assimétrica uma vez que há investimentos diferentes entre os sexos e, dessa forma, surgem parceiros em potencial que podem explorar a relação para maximizar seu sucesso reprodutivo à custa do outro (Alexander *op. cit.*).

As fêmeas de diferentes espécies de organismos, geralmente, investem em aspectos pré-zigóticos (e.g. tamanho dos gametas) e pós-zigóticos (e.g. cuidado parental com a sua prole). Já os machos tendem a investir mais no momento da cópula, maximizando as suas

chances de conseguir fertilizar óvulos. Esse é um padrão relativamente comum na natureza, mas, obviamente, existem diversas variações. O conflito entre os sexos existirá (quase) sempre, e nessa dinâmica, a seleção sexual age sobre a variação dos organismos (Darwin 1872).

Enquanto na seleção natural, os fatores que operam sobre a variação em uma população são predadores, parasitas, patógenos, escassez de comida etc. (Darwin 1859); na seleção sexual, o que opera sobre a variabilidade dos indivíduos é a capacidade diferencial de obter parceiros para reprodução (Darwin 1872). Neste último caso, os fatores que influem nessa interação são membros do outro sexo que reduzem ou negam o sucesso reprodutivo dos seus co-específicos através da (1a) rejeição de um acasalamento ou (1b) coação para que o acasalamento ocorra, e através de (2) membros do mesmo sexo que competem por acasalamentos (Eberhard 1996).

Para que seja realizado o acasalamento, é necessário que haja encontro entre indivíduos de sexos opostos para que a cópula aconteça. A distribuição dos indivíduos, e mais especificamente das fêmeas na natureza, é o fator preponderante que determina o comportamento dos machos na busca por acasalamentos (Alcock 1980). Algumas vezes, no entanto, é a fêmea que vai de encontro ao macho para que o acasalamento ocorra (Marshall & Alcock 1981).

Em insetos, no geral, existem oito etapas relativamente bem reconhecidas: aproximação e formação dos pares, corte, cópula, inseminação, eventos intercópula ou pós-cópula, fertilização, cuidado parental cooperativo e o estabelecimento de vínculos (*bonding*) (Alexander *et al.* 1997). Desta forma, a sequência comportamental dos acasalamentos sofre pressões específicas e as etapas que compõem os acasalamentos podem sofrer modificações na duração, forma ou mesmo desaparecer ou ter uma ou mais etapas adicionadas em determinados grupos de organismos.

Cada etapa das sequências comportamentais indicadas acima pode ser decomposta em outras etapas ou podendo haver supressão de algumas delas, dependendo da competição e do conflito de interesses entre as partes envolvidas no processo de acasalamento. Em insetos, até o momento a etapa de estabelecimento de vínculos nunca foi observada, sendo ela comum em mamíferos e aves. No entanto, caso chegue a existir algum registro de *bonding* em insetos, espera-se que seja observado em besouros, baratas e cupins, onde se formam casais monogâmicos ou onde existe cuidado parental cooperativo (Shuker & Simmons 2014).

Como referido anteriormente, muitos sistemas de acasalamento surgiram por conta de diferentes estratégias de reprodução empregadas pelos organismos envolvidos, e mesmo em uma só espécie, mais de uma estratégia empregada pode acontecer. Geralmente, o acesso às fêmeas é o fator que influencia, predominantemente, como em abelhas solitárias o macho se comporta. Por sua vez, são os recursos que a fêmea busca para construção dos ninhos e alimentação dos seus imaturos que vai determinar onde ela pode ser encontrada no ambiente (Danforth et al. 2019). Logo, os recursos que as fêmeas buscam para construir seus ninhos podem ser preditores de onde as fêmeas estão e para onde o macho deve ir para tentar conseguir acasalamentos.

Em espécies de abelhas solitárias que nidificam no solo, por exemplo, as espécies cujas fêmeas constroem seus ninhos de forma agregada, possuem diversos machos sobrevoando as áreas de nidificação em busca e cópulas (Alcock 2013). Portanto, muito provavelmente um observador registrará muitas cópulas nesses locais. Já espécies de abelhas solitárias que não nidificam no solo são difíceis de serem observadas em campo, pois o substrato de nidificação fica mais espalhado na natureza, podendo ser cavidades na madeira, ou na superfície abaxial de folhas, ou mesmo em conchas de moluscos (Batra 1984). Nessas espécies, a observação de cópulas é muito difícil. Não se sabe se as abelhas copulam em locais expostos, no dossel das árvores, escondidas ou em flores, embora essa última seja a hipótese mais proposta por diversos autores onde algumas observações, de fato, foram feitas.

Pode-se utilizar de alguns artifícios para conseguir o pareamento de machos e fêmeas para observar sequências comportamentais do acasalamento, como o uso de armadilhas onde as fêmeas constroem ninhos, ou procurando locais onde sabe-se que as abelhas provavelmente irão construir seus ninhos (e.g. troncos de madeira podre no caso de espécies de *Xylocopa* Latreille, 1802). No entanto, poucos trabalhos utilizando ninhos-armadilha existem na literatura registrando esses comportamentos (Alcock 2013; Danforth et al. 2019).

1.3 DIVERSIDADE DE SISTEMAS DE ACASALAMENTO EM ABELHAS SOLITÁRIAS

O sistema de acasalamento mais comum em organismos sexuais é a poliginia (Alcock 1980, 2013; Emlen & Oring 1977). Esse padrão é observado porque geralmente os machos investem muito em tentativas de fertilizar ovos, ao passo que as fêmeas copulam

de forma seletiva. No entanto, outros sistemas de acasalamento existem por motivos de que (1) os recursos que a fêmea utiliza para outros aspectos da sua história de vida, como prover comida para os imaturos, sejam os que determinam a sua distribuição no ambiente e (2) há competição entre os machos para eles terem acesso a fêmeas que estejam disponíveis para copular. Nesse sentido, em aves e mamíferos, Emlen & Oring (1977) mostraram que pressões seletivas específicas, como as citadas anteriormente, afetam o surgimento de sistemas de acasalamentos que podem ser baseados na defesa das fêmeas, na defesa de territórios, na defesa de recursos, na busca ativa por fêmeas e na demonstração de dominância por parte dos machos. Em 1980, o ecologista comportamental John Alcock (1943–2023) analisou diversas espécies de abelhas e observou que sistemas de acasalamento como os propostos por Emlen & Oring (1977) também ocorriam em espécies solitárias que estavam sob pressão de seleção semelhantes em relação às espécies de aves e mamíferos observadas por eles.

Nesse sentido, iremos descrever brevemente cada um desses sistemas de acasalamento com foco em abelhas, excluindo espécies eussociais.

1.3.1 Poliginia através da defesa das fêmeas

Neste sistema de acasalamento, um macho pode ter acesso a várias fêmeas e, a partir desse acesso, defender um grupo delas, formando um harém. Esse tipo de sistema é observado em algumas espécies de abelhas sociais e subsociais como nos gêneros *Lasioglossum* Robertson, 1902 (Barrows 1975), *Eulaema* Lepeletier, 1841 (Zucchi *et al.* 1969) e *Xylocopa* Latreille, 1802 (Gerling & Hermann 1978). Em algumas espécies solitárias, como em *Centris pallida* Fox, 1899 (Apidae) a emergência sincronizada de várias fêmeas permite que um macho defenda um território onde várias delas irão emergir virgens e, conseqüentemente, disponíveis para ele tentar acasalar (Alcock *et al.* 1976).

1.3.2 Poliginia através da defesa de recursos coletados pela fêmea

Outra forma dos machos terem acesso diferencial às fêmeas receptivas é controlando locais onde os recursos que elas precisam para construção dos ninhos e para coleta de alimento para os imaturos estão localizados. Nessas espécies, pode acontecer dos ninhos estarem dispersos e não agregados como no caso de *C. pallida*. Conseqüentemente, muitos machos tendem a procurar fêmeas em locais onde elas irão coletar alimento para a larva e recursos para construção dos ninhos, como é o caso de *Anthidium maculosum* Cresson, 1878 (Megachilidae) (Krombein 1967). Nessa espécie, as fêmeas coletam pólen e néctar

exclusivamente de *Monarda pectinata* Nutt., uma planta da família Lamiaceae que floresce em agregados.

As fêmeas de *A. maculosum* demoram cerca de 30 minutos forrageando nas flores de *M. pectinata* em cada viagem, visitando, em grande parte, os mesmos amontoados de flores enquanto houver pólen e néctar. Um macho defendendo o território com muitas flores salta sobre a fêmea e acasala rapidamente com ela cada vez que ela visita uma flor no seu território. Consequentemente, um macho pode copular várias vezes com a mesma fêmea (Alcock et al. 1977). Se ela visitar flores em diferentes territórios, machos defensores desses territórios irão acasalar com a fêmea também. Devido à distribuição dos recursos, a fêmea permite o acasalamento de vários machos enquanto coleta pólen, pois as flores que não estão protegidas por machos possuem poucos recursos de qualidade.

O tipo de comportamento exibido pelas fêmeas *A. maculosum* permite o surgimento de um ponto interessante do ponto de vista etológico. Devido ao número de gametas recebida em cada ejaculação ser mais que suficiente para fertilizar todos os ovos de uma fêmea, os machos terminam competindo entre si para serem os últimos a acasalarem, apresentando precedência de esperma (Alcock 1980). Isto significa que machos com bons territórios (com muitas flores com muitos recursos) conseguem grandes chances de serem pai da prole das fêmeas que voam repetidamente para coleta de recursos no local que ele está custodiando (Lampert et al. 2014).

1.3.3. Poliginia através do acesso diferencial às fêmeas

Nesse tipo de sistema de acasalamento os machos patrulham áreas com flores, que são distribuídas aleatoriamente, avidamente a procura de fêmeas para acasalar. Devido à forma como as flores são distribuídas, especula-se que é custoso um macho defender um território, pois este deveria ser grande demais (diferente das flores com distribuição agrupada de *M. pectinata*). As fêmeas geralmente acasalam sempre que encontram um macho (Alcock 1980).

Uma espécie de abelha conhecida por empregar em algum grau esse tipo de sistema de acasalamento é *Calliopsis (Nomadopsis) puellae* (Cockerell, 1933) (Andrenidae). Ao longo do dia, mais e mais machos chegam à área em busca de fêmeas para acasalar. Nesse momento, com o número de machos aumentando rapidamente, aqueles em cópula mantêm sua posição e passam a proteger a fêmea, voando juntamente com ela, mesmo de volta para o seu ninho. Essa mudança de estratégia acontece porque ao final do período de

forrageamento por pólen delas, a chance de a fêmea fazer a oviposição é maior, e o último macho que acasalou, aumenta suas chances de garantir a fertilização do ovo que será posto (Rutowski & Alcock 1980). Logo, no começo do dia, os machos têm mais vantagem copulando com várias fêmeas, maximizando, dessa forma, as suas chances de fertilizarem um ovo. Com a chegada de mais machos nas áreas de forrageamento das fêmeas por pólen, torna-se mais vantajoso guardar a fêmea voando junto com ela em posição de cópula. Assim, o macho garante que seu espermatozoide será o primeiro a ser utilizado por precedência.

1.3.4. Poliginia através da dominância do macho

Na abelha solitária *Xylocopa varipuncta* Patton, 1879 (Apidae), os machos defendem territórios planando sobre espécies vegetais que são consideradas marcadores utilizados pela fêmea para encontrar a fonte da qual ela coleta pólen, neste caso, *Larrea tridentata* (DC.) Coville (Zygophyllaceae). Esta planta é tão abundante que as fêmeas podem evitar machos que estejam procurando por cópulas para acessar os recursos alimentares necessários para seus imaturos (Marshall & Alcock 1981).

Apesar delas poderem evitar machos que estejam buscando acasalar, as fêmeas se dirigem aos machos que estão planando. Quando uma fêmea se aproxima, os machos pousam nos galhos e se movimentam como se estivessem indicando um local de pouso para as fêmeas. Estas raramente aceitam o “convite”, indicando que elas são altamente criteriosas na escolha dos machos com os quais irão copular. Nessa espécie de abelha, os machos cortejam as fêmeas, contrariamente aos exemplos apresentados nas seções anteriores (Leys & Hogendoorn 2008).

1.3.5. Atração da fêmea a partir de sinais químicos

Algumas abelhas atraem as fêmeas através de sinais químicos emitidos pelo macho. Em *Xylocopa*, alguns machos (especialmente nas espécies cujos machos possuem acentuado dimorfismo sexual) possuem uma glândula no final do mesossoma pela qual emitem odores que atraem as fêmeas, e estas podem ou não escolher machos a partir da emissão desses compostos voláteis (McAuslane *et al.* 1990).

Outros comportamentos envolvendo sinais químicos são registrados em abelhas da tribo Euglossini, cujos machos passam boa parte da sua vida recolhendo odores de diversas fontes vegetais, fezes e fungos (Ramírez *et al.* 2002). A coleta de essências para atração das fêmeas permanece especulativa, visto de que diversas hipóteses já foram propostas, mas nenhuma evidência foi encontrada que sustente alguma delas (Danforth *et al.* 2019),

embora em pelo menos dois trabalhos (Bembé 2004; Eltz *et al.* 2005), observou-se machos ventilando compostos extraídos das pernas com as asas. As fêmeas atraídas copularam ou não com os machos em questão.

1.4. TEORIAS QUE EXPLICAM O COMPORTAMENTO REPRODUTIVO EM ABELHAS SOLITÁRIAS

Observando os sistemas de acasalamento descritos acima, nota-se que boa parte das estratégias reprodutivas estão centradas nas ações dos machos em relação a alcançar a fêmea. Tal como exposto anteriormente, como a fêmea é considerada recurso limitante para os machos, geralmente, e pela natureza dos investimentos realizados por cada sexo para conseguir acasalamentos, são estes últimos os que competem entre si para serem escolhidos pela fêmea. Esta, por sua vez, escolhe machos que irão maximizar o seu fitness por meio de uma prole com boas características para conseguir acasalamentos, no caso de machos, e de escolher bons machos, no caso das fêmeas.

Apesar da literatura que trata o comportamento reprodutivo em abelhas focar bastante nos machos e na competição entre eles para acessar às fêmeas, nas últimas décadas do século XX, o biólogo comportamental William Eberhard (1943–) propôs em seu livro “*Sexual selection and animal genitalia*” (1985) que as fêmeas escolhem seus parceiros sutilmente, avaliando-os e enviesando a paternidade de sua prole através do que ele chamou de escolha críptica da fêmea. Através dessa teoria, muitos comportamentos antes considerados intrigantes em relação à corte, cópula e comportamentos pós-copulatórios passaram a serem interpretados à luz de uma nova ótica pela qual a fêmea assume um papel central no acasalamento, o que antes era ocupado pelo macho. Outro ponto importante foi a reinterpretação da genitália nos machos e o porquê de sua variação: uma vez que as genitálias são consideradas dispositivos para a corte interna da fêmea, a pressão via seleção sexual faz com que elas variem, pois qualquer estimulação diferencial, pode fazer a fêmea enviesar a paternidade.

Mesmo em espécies cujas fêmeas, supostamente, acasalem apenas uma vez, variação na genitália do macho pode ser interpretada como repertórios de estimulação diferencial dentro de uma espécie, uma vez que um macho, geralmente, acasala com várias fêmeas. Deixando de lado a genitália, podemos observar que boa parte da morfologia do macho em abelhas solitárias, é voltada para o comportamento reprodutivo (Danforth *et al.* 2019). Consequentemente, a fêmea tem um papel sutil, porém importantíssimo, que é a

escolha da paternidade da sua prole, e o dimorfismo sexual observado em abelhas solitárias é a resposta para essa pressão seletiva que é exercida pelas fêmeas e que se materializa na natureza via seleção sexual.

Levando em conta a escassez de dados na literatura em relação ao comportamento reprodutivo de abelhas solitárias, o objetivo geral da presente tese é apresentar dados da cópula de *Centris (Heterocentris) analis* (Fabricius, 1804), *Centris (Hemisiella) tarsata* Smith, 1874 e *Megachile (Ptilosarus) microsoma* Cockerell, 1912. Essas três espécies ocorrem no Brasil e não existem quaisquer dados sobre suas biologias reprodutivas.

CAPÍTULO 1 – COMPORTAMENTO DE CÓPULA EM *CENTRIS* (*HETEROCENTRIS*) *ANALIS* E *CENTRIS* (*HEMISIELLA*) *TARSATA* (HYMENOPTERA: APIDAE)

2.1. INTRODUÇÃO

Em termos gerais, o comportamento reprodutivo em abelhas solitárias (Hymenoptera: Anthophila) é pouco estudado na maioria das espécies conhecidas (Danforth et al. 2019). Os grupos mais estudados são Centridini Cockerell & Cockerell, 1901 (Alcock et al. 1977), a espécie *Amegilla dawsoni* Rayment, 1951 (Apidae) (Alcock 2013), o gênero *Anthidium* Fabricius, 1804 (Alcock et al. 1977) e mais recentemente, a espécie *Heriades truncorum* (Linnaeus, 1758) (Boff 2022; Ganuza et al. 2022), estas duas últimas pertencentes à família Megachilidae.

As abelhas solitárias possuem muitos comportamentos reprodutivos peculiares, tanto que, em inglês, existe o ditado “*The birds and the bees*” como um eufemismo para falar sobre sexo (Danforth et al. 2019). Em geral, a grande variabilidade de comportamentos é observada nos machos, os quais adotam diversas estratégias para conseguir copular (Alcock 2013; Danforth et al. 2019). Esse padrão é evidente nas abelhas solitárias, pois nesse grupo as fêmeas são consideradas um recurso limitante nas populações. Dessa forma, a reprodução está condicionada à distribuição espacial e temporal dos indivíduos desse sexo (Alcock et al. 1978; Emlen & Oring 1977). Na maioria das espécies de abelhas solitárias com dados disponíveis sobre comportamentos reprodutivos, as fêmeas são receptivas logo após emergirem de seus ninhos. No entanto, após a primeira cópula, elas deixam de ser atrativas para os machos ou não permitem novos acasalamentos, dedicando-se exclusivamente à construção de ninhos e ao aprovisionamento das células de cria (Alcock 2013). No entanto, em algumas poucas espécies, como no gênero *Anthidium*, observa-se a poliandria, onde as fêmeas copulam várias vezes para obter acesso a recursos florais controlados pelos machos (Alcock et al. 1978).

No gênero *Anthidium*, por exemplo, na espécie *A. maculosum* os machos mudam de estratégia ao longo do dia: deixam de copular repetidamente com fêmeas que visitam as flores e passam a voar *in copula* com a fêmea até ela opercular uma célula de cria (Alcock et al. 1977). Essas evidências levantam hipóteses que buscam explicar essa mudança de estratégia, focando nas táticas adotadas pelos machos para garantir acesso diferencial às fêmeas durante o período em que elas estão receptivas ao acasalamento. Esse acesso

diferencial às fêmeas ao longo da vida dos machos se reflete em diferentes comportamentos, os quais variam conforme a distribuição delas no ambiente. Esses comportamentos podem ser divididos em dois grupos principais: aqueles cujas fêmeas nidificam de forma agregada e abelhas cujas fêmeas nidificam de forma isolada no ambiente (Antoine & Forrest 2021; Orr *et al.* 2022). No primeiro caso, as fêmeas estão concentradas em áreas de poucos metros quadrados gerando uma densidade alta de ninhos. Nessas espécies, as fêmeas geralmente têm uma janela de tempo muito curta para acasalamento que ocorre diretamente nas áreas de nidificação ou em suas proximidades. Como é mais fácil observar as abelhas nesses locais, a maior parte do conhecimento sobre a cópula em abelhas solitárias vem desse grupo.

Já no segundo caso, onde as abelhas nidificam de forma isolada no ambiente (que pode ser no solo ou em cavidades criadas ou pré-existentes na madeira ou outros substratos), as que nidificam em cavidades pré-existentes, geralmente, nidificam de forma espalhada no ambiente pela própria natureza da distribuição das cavidades na vegetação (Batra 1978). Essas cavidades encontram-se dispersas, o que resulta em uma distribuição igualmente espalhada das fêmeas (MacIvor 2017). Consequentemente, é muito mais difícil observar cópulas nesses casos, pois as abelhas encontram-se dispersas no ambiente. Pouquíssimas espécies dessa categoria possuem dados sobre seus comportamentos de acasalamento (Alcock 2013), embora muitos autores afirmem, de forma geral, que o acasalamento ocorre nas flores.

Entre as espécies solitárias, podemos considerar duas espécies cuja biologia, em termos gerais, é bem conhecida, mas onde não existe qualquer informação publicada sobre aspectos de suas biologias reprodutivas: *Centris tarsata* Smith, 1874 e *C. analis* (Fabricius, 1804) (Costa & Gonçalves 2019; Drumond *et al.* 2023). Ambas as espécies pertencem à tribo Centridini e nidificam em cavidades pré-existentes. Essas abelhas coletam óleo floral para construção de seus ninhos, combinado com material vegetal, no caso de *C. analis*, ou com terra no caso de *C. tarsata* (Drumond *et al.* 2023). Além disso, ambas são generalistas em relação ao pólen utilizado no aprovisionamento das células de cria (Drumond *et al.* 2023).

A biologia de *C. analis* e *C. tarsata* é bem conhecida se comparada com outras espécies do mesmo gênero que nidificam em cavidades pré-existentes (Costa & Gonçalves 2019a). *Centris analis*, por exemplo, é uma espécie com grande potencial para o manejo

em produção de frutas como a acerola (*Malpighia emarginata* DC.) (Oliveira & Schlindwein 2009) e *C. tarsata*, por exemplo, possui grande potencial para o manejo em produção de caju (*Anacardium occidentale* L.) (Freitas 1997).

Apesar dos estudos realizados até hoje sobre a bionomia de *C. analis* e *C. tarsata*, aspectos importantes sobre a sua biologia reprodutiva permanecem totalmente desconhecidos. Dessa forma, o presente trabalho traz dados do comportamento de cópula e alguns fatores que influenciam esse comportamento nessas duas espécies.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Coleta de abelhas e manutenção em laboratório

O presente trabalho foi realizado em quatro áreas localizadas no bioma Amazônia em sua porção mais oriental, próxima a borda com o Cerrado. As áreas estudadas foram: Sítio Aguahy no município de São José de Ribamar (-2.65, -44.15); Área de Proteção Ambiental do Itapiracó (-2.53, -44.22); Parque Estadual do Rangedor (-2.49, -44.27); Campus Maracanã do Instituto Federal do Maranhão (-2.60, -44.26); e Sítio Mangalho (-2.6034, -44.29), todas elas localizadas no extremo norte do Maranhão (fig 1). As duas últimas áreas mencionadas estão localizadas na Área de Proteção Ambiental do Maracanã.

Em cada área, dois ninhos armadilhas com diâmetros de 4, 6, 8, 10, 12, 14 e 16 mm cada, foram instalados em dois suportes de policloreto de vinila (PVC) unidos por rebites (fig 2). Cada conjunto com dois suportes foi considerado uma unidade amostral. As unidades amostrais foram instaladas a cada 200 metros, totalizando 216 unidades em cada área e 864 armadilhas no total. As coletas ocorreram de setembro/2021 a dezembro/2022.

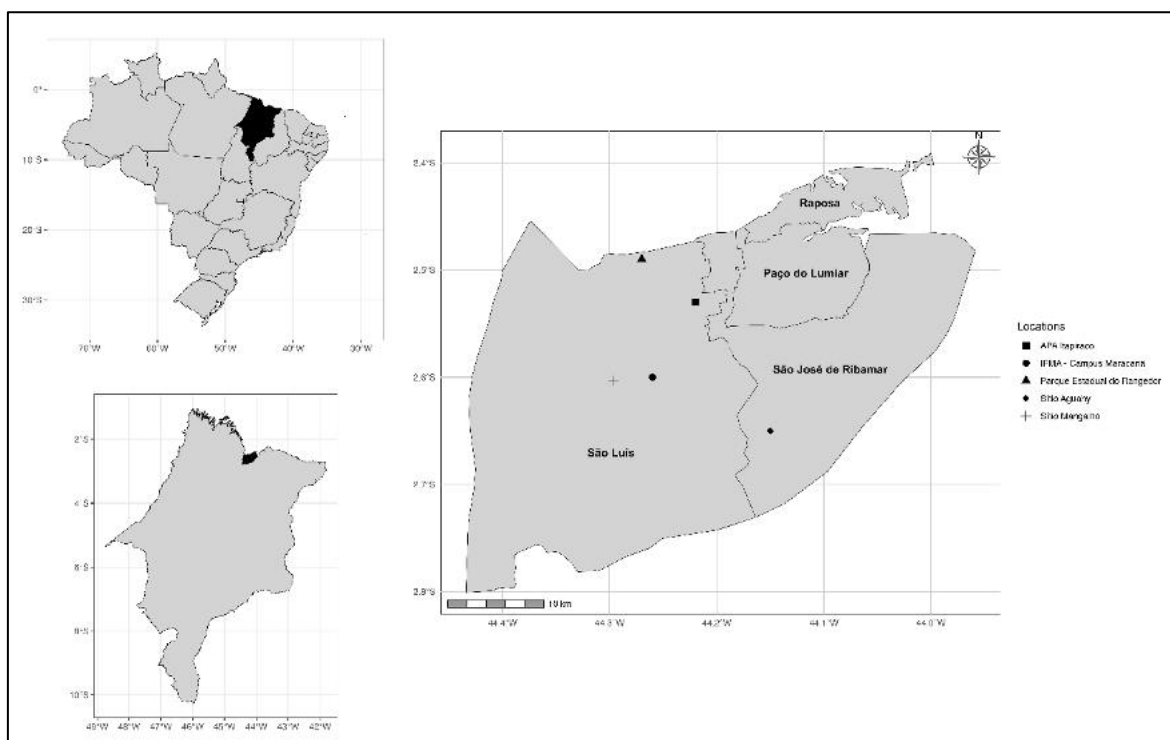


FIGURA 1. Localização das áreas de coleta no presente estudo.



FIGURA 2. Ninhos armadilhas colocados em campo para coleta.

As coletas em cada área aconteceram mensalmente. Os ninhos coletados foram levados para o laboratório e monitorados até a emergência dos adultos. Cada adulto emergido foi separado assim que emergiu da célula de cria, e confinado em uma caixa de acrílico com a parte de cima coberta com organza presa por uma liga de elástico. Em cada caixa de acrílico, uma tampa de eppendorf invertida foi utilizada como recipiente para oferecer alimentação (fig 3). Essa alimentação consistiu, no primeiro ano, de solução de água potável com açúcar refinado na proporção de 50/50. No segundo ano, após a publicação do trabalho de Tadei *et al.* (2021), o açúcar refinado foi substituído pela sacarose ultrapura na concentração de 35%. Esta modificação permitiu um aumento consideravelmente na vida das abelhas até a realização dos experimentos de cópula.



FIGURA 3. Fêmea de *Centris analis* se alimentando com solução de água e sacarose.

2.2.2 Experimentos de cópula

2.2.2.1 Materiais utilizados durante os experimentos

Os experimentos para estudar as cópulas foram executados inicialmente em caixas de acrílico em tamanho 4,5 cm de largura, comprimento e altura. No entanto, devido às atividades das abelhas, a caixa embaçava rapidamente dificultando as gravações. Para resolver este problema, foram então substituídas por caixas de vidro transparente de 12 cm de altura, por 5 cm de largura e 5 cm de comprimento. Antes e depois de cada experimento, as caixas foram higienizadas com álcool etílico absoluto para minimizar a interferência de aromas deixados pelos indivíduos colocados nestas caixas em experimentos anteriores. Cada experimento de cópula foi filmado utilizando uma câmera de 48 megapixels a 32 frames por segundo. O método de registro das sequências comportamentais utilizado foi a amostragem de todas as ocorrências (Del-Claro 2004).

2.2.2.2 Terminologias utilizadas

As terminologias utilizadas ao longo das seções de resultados e discussão são as seguintes: a expressão “união de indivíduos” refere-se ao ato de colocar duas abelhas juntas em um recipiente para observar as interações que podem acontecer pelo tempo que elas permanecerem juntas. O termo “pareamento” refere-se à posição de monta que o macho assume sobre o corpo da fêmea fixando-se em pontos de contato específicos (ver mais a frente os pontos de contato em cada espécie). Todo o processo de antes e depois da cópula é chamado de pré-cópula e pós-cópula, respectivamente. A cópula é considerada realizada quando há contato genital entre as abelhas, ou seja, com o macho inserindo sua genitália no forâmen genital da fêmea. Durante a cópula podem ocorrer ações que são observados na pré-cópula e na pós-cópula. O termo antagonismo frequentemente é utilizado formando a expressão “antagonismo da fêmea” e refere-se a toda ação em que a fêmea evita o contato do macho ou finaliza o pareamento.

2.2.2.3 Análise dos comportamentos observados

Devido à falta de protocolos desenhados especificamente para manutenção de abelhas em laboratório, os comportamentos que as abelhas exibiram durante a junção delas nos recipientes dos experimentos foram registrados em câmera, quantificados e modelados. A modelagem dos dados obtidos foi feita na plataforma R (R Core Team 2024) utilizando os seguintes pacotes: gtsummary (Sjoberg *et al.* 2021), flextable (Gohel & Skintzos 2024),

MASS (Venables & Ripley 2002), pscl (Jackman 2024), ggplot2 (Wickham 2016), ggpubr (Kassambara 2023), ggtext (Wilke & Wiernik 2022), vegan (Oksanen *et al.* 2024), lme4 (Bates *et al.* 2015), lmerTest (Kuznetsova *et al.* 2017), performance (Lüdtke *et al.* 2021), dplyr (Wickham *et al.* 2023), e ggThemeAssist (Gross & Ottolinger 2016). A presunção de normalidade dos dados foi avaliada e descartada por meio do teste de Shapiro-Wilk.

Para verificar se a origem dos ninhos influenciava no tempo de pareamento das abelhas, foi utilizado o teste de Wilcoxon para comparar o tempo de pareamento dos indivíduos que se originaram do mesmo ninho, de ninhos diferentes na mesma área ou de ninhos de áreas diferentes. Para comparar o tempo de pareamento desconsiderando a origem do ninho, foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis.

As variáveis consideradas resultado para as análises de cópula foram “pareamento” para avaliar o tempo, medido em segundos, que o macho levou para conseguir assumir a posição de monta da fêmea. Para esse resultado foram consideradas as variáveis “área”, que se refere à origem do macho: se do mesmo ninho da fêmea, se de ninhos diferentes da mesma área, ou se de uma área diferente. E a variável “antagonismo da fêmea”: qualquer comportamento que a fêmea manifestou para impedir a monta do macho, como levantar as pernas médias para impedir acesso aos pontos de fixação em seu corpo, ou mesmo se debater desalojando o macho caso este consiga subir em cima dela. Para essas análises foram utilizados modelos lineares generalizados com distribuição de Poisson em razão do desfecho ser contagem (medida de tempo).

Foram usadas as variáveis: “origem das abelhas” (0 para indivíduos do mesmo ninho, 1 para indivíduos de ninhos diferentes da mesma área e 2 para indivíduos de áreas diferentes); “antagonismo da fêmea” (0 para ausência de comportamentos de evitação em relação ao macho ou 1 para ocorrência dos comportamentos de evitação); “tempo até o pareamento” (medida em segundos); “pareamento” (“sim” e “não”); “copulou” (0 para a não ocorrência e a valor 1 para a ocorrência de pelo menos uma cópula (contato genital); “número de cópulas” (quantidade de contatos genitais que aconteceram); “estímulo do esterno da fêmea”, “vibração do mesossoma do macho”, “vibração do metassoma do macho” e “vibração das asas do macho” medidas em segundo.

Para verificar quais comportamentos influenciaram ou não na ocorrência de pelo menos uma cópula, foram testadas as variáveis “antagonismo da fêmea”, “tempo até o

pareamento” e “tempo de pré-cópula”. Para essas análises também foram utilizados modelos lineares generalizados com distribuição de Poisson, pois o desfecho é oriundo de dados de contagem. Para verificar o comportamento dos modelos ao retirar as variáveis, os diferentes modelos foram comparados utilizando o pacote “performance”. O melhor modelo que explicou os comportamentos foi aquele que apresentou os melhores valores do R^2 de Nagelkerke, do peso do AIC (*Akaike Information Criteria*) (AICwt), do peso do AIC ajustado (AICcwt) e do BIC (*Bayesian Information Criteria*) ajustado (BICwt), gerando o valor de performance (*performance score*).

Para analisar se a pré-cópula influenciou no número de cópula das abelhas (e.g. número de intromissões da genitália do macho no forâmen genital da fêmea), foram analisados os comportamentos do macho de friccionar os esternos da fêmea com as pernas médias e posteriores, vibrar o seu metassoma e as asas. Para essa análise também foram utilizados modelos lineares generalizados com distribuição de Poisson, pois o desfecho é oriundo de dados de contagem.

As abelhas utilizadas nos experimentos de cópula em *Centris tarsata* foram coletadas nas áreas do Parque Estadual do Rangedor e no Sítio Mangalho (Tabela 1), sendo utilizados 44 indivíduos oriundos dessas duas áreas. Já as abelhas utilizadas nos experimentos de cópula em *C. analis* foram coletadas nas áreas do Parque Estadual do Rangedor e do IFMA do Maracanã, utilizando-se um total de exemplares oriundos dessas duas áreas (Tabela 2).

2.3. RESULTADOS

Os indivíduos estudados emergiram entre os meses de outubro de 2021 e fevereiro de 2021 e 2022. Em ambas as espécies os machos emergiram primeiro que as fêmeas, reconhecendo-as como protândricas.

TABELA 1. Exemplares de *Centris tarsata* utilizados nos experimentos de cópula com suas respectivas origens. Os códigos na coluna “Pareamento” referem-se à origem das abelhas pareadas: 0 = mesmo ninho, (1) = ninhos diferentes, (2) = áreas diferentes.

Experimento	Macho	Fêmea	Pareamento
1	Rangedor	Rangedor	1
2	Rangedor	Rangedor	1
3	Rangedor	Rangedor	1
4	Sítio Mangalho	Rangedor	2
5	Rangedor	Sítio Mangalho	2
6	Sítio Mangalho	Sítio Mangalho	1
7	Sítio Mangalho	Sítio Mangalho	1

8	Sítio Mangalho	Rangedor	2
9	Sítio Mangalho	Rangedor	2
10	Rangedor	Sítio Mangalho	2
11	Rangedor	Rangedor	1
12	Rangedor	Rangedor	1
13	Sítio Mangalho	Rangedor	2
14	Rangedor	Rangedor	1
15	Rangedor	Rangedor	0
16	Rangedor	Rangedor	0
17	Rangedor	Rangedor	0
18	Rangedor	Rangedor	0
19	Rangedor	Rangedor	0
20	Rangedor	Rangedor	0
21	Rangedor	Rangedor	0
22	Rangedor	Rangedor	0

TABELA 2. Exemplares de *Centris analis* utilizados nos experimentos de cópula com suas respectivas origens. Os códigos na coluna “Pareamento” referem-se à origem das abelhas pareadas: 0 = mesmo ninho, (1) = ninhos diferentes, (2) = áreas diferentes.

Experimento	Macho	Fêmea	Pareamento
1	IFMA Maracanã	IFMA Maracanã	1
2	IFMA Maracanã	Rangedor	2
3	IFMA Maracanã	Rangedor	2
4	IFMA Maracanã	Rangedor	2
5	IFMA Maracanã	IFMA Maracanã	1
6	Rangedor	IFMA Maracanã	2
7	IFMA Maracanã	IFMA Maracanã	1
8	IFMA Maracanã	IFMA Maracanã	1
9	IFMA Maracanã	IFMA Maracanã	1
10	Rangedor	IFMA Maracanã	2
11	IFMA Maracanã	IFMA Maracanã	0
12	IFMA Maracanã	IFMA Maracanã	0
13	IFMA Maracanã	IFMA Maracanã	0
14	IFMA Maracanã	IFMA Maracanã	0
15	IFMA Maracanã	IFMA Maracanã	0
16	IFMA Maracanã	IFMA Maracanã	0
17	IFMA Maracanã	IFMA Maracanã	0
18	IFMA Maracanã	IFMA Maracanã	0
19	IFMA Maracanã	IFMA Maracanã	0
20	IFMA Maracanã	IFMA Maracanã	0
21	IFMA Maracanã	IFMA Maracanã	0

2.3.1 Cópula em *Centris (Hemisiella) tarsata* (fig 4)

União de indivíduos. Foram realizadas 22 uniões entre machos e fêmeas, registrando-se 15 acasalamentos, dos quais apenas 14 foram utilizados para calcular as médias, visto uma das uniões foi realizada com dois machos e uma fêmea. Quatro cópulas ocorreram no segundo ano da pesquisa, nos meses de fevereiro e março de 2021, e outras 10 ocorreram entre janeiro e fevereiro de 2022. A média do pareamento com ocorrência de cópula em *Centris tarsata* foi de $233,71s \pm 188,26s$ ($n = 14$). As fêmeas apresentaram comportamento de antagonismo em relação ao macho em cinco experimentos de cópula. Indivíduos oriundos do mesmo ninho (presumivelmente irmãos e irmãs) ficaram indiferentes entre si quando colocados juntos ($n = 7$).

Descrição do comportamento de cópula. Os machos de *C. tarsata* abordaram a fêmea pelos lados, inspecionando-as com as antenas e, geralmente, tentando a posição de monta ($n = 14$). Quando a fêmea apresentou comportamentos antagônicos em relação ao macho, ela levantou as pernas médias e posteriores para impedir que ele subisse em seu corpo. Quando não há comportamentos agressivos em relação ao macho, a fêmea permanece imóvel, permitindo a subida deste.



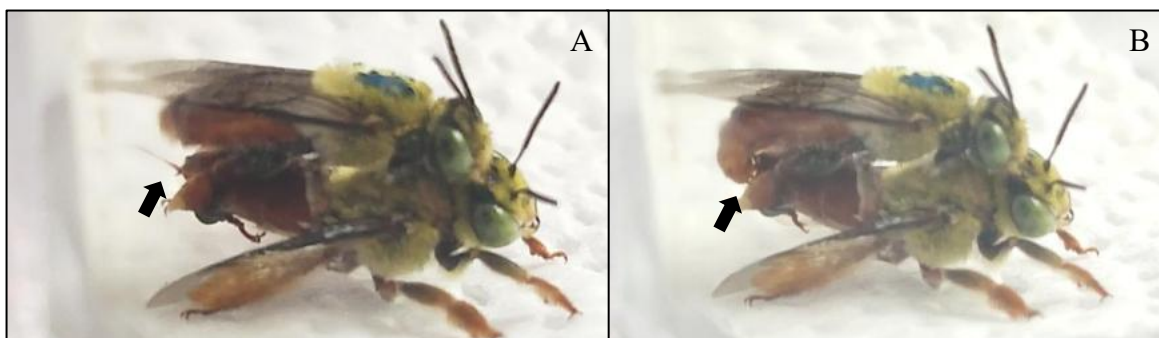
FIGURA 4. Cópula em *Centris tarsata*.

Quando ocorre a posição de monta (fig 5), ou seja, quando o macho consegue subir no corpo da fêmea, suas pernas anteriores se apoiam na cabeça dela, mas às vezes também no pronoto, ou na base das asas anteriores, próximo às tégulas. As pernas médias do macho, geralmente, são posicionadas na altura das tégulas no mesossoma da fêmea, mas podem também ser apoiadas no propódeo. As pernas posteriores sempre rodeiam o



FIGURA 5. Macho de *Centris tarsata* com as pernas envolvendo no metassoma da fêmea. As setas indicam os pontos de contato do macho no corpo da fêmea (base do metassoma, mesossoma na altura das tégulas e cabeça na fêmea. metassoma da fêmea durante todo o contato com ela, especialmente, durante a cópula (fig 5).

O contato genital aconteceu algumas vezes durante os experimentos de cópula (Mediana = 1,5; Intervalo Interquartilico = 1 – 2,75), com 50% do número de intromissões da genitália entre 1 e 2,75 eventos. O contato genital durou, em média, $26,5s \pm 17,58s$ ($n = 14$, considerando os experimentos em que ocorreram cópula). Em duas ocasiões, durante a posição de monta, as fêmeas tentaram desalojar o macho e nessas ocasiões, o tempo de contato genital foi menor do que nas cópulas onde esse comportamento não foi observado. Em uma das cópulas, durante o começo do processo de contato genital, a fêmea expôs o ferrão, obrigando o macho a fazer a intromissão de sua genitália pelo lado oposto a este (figs 6A, B). Nas cópulas que ocorreram em que a fêmea não expôs o ferrão ($n = 13$), o macho fez a intromissão da genitália pela direita.



FIGURAS 6A, B. **A.** Fêmea de *Centris tarsata* expondo o ferrão (seta) antes de o macho realizar a intromissão da genitália. **B.** Macho de *C. tarsata* realizando a intromissão da genitália pelo lado direito (seta) do forâmen genital da fêmea.

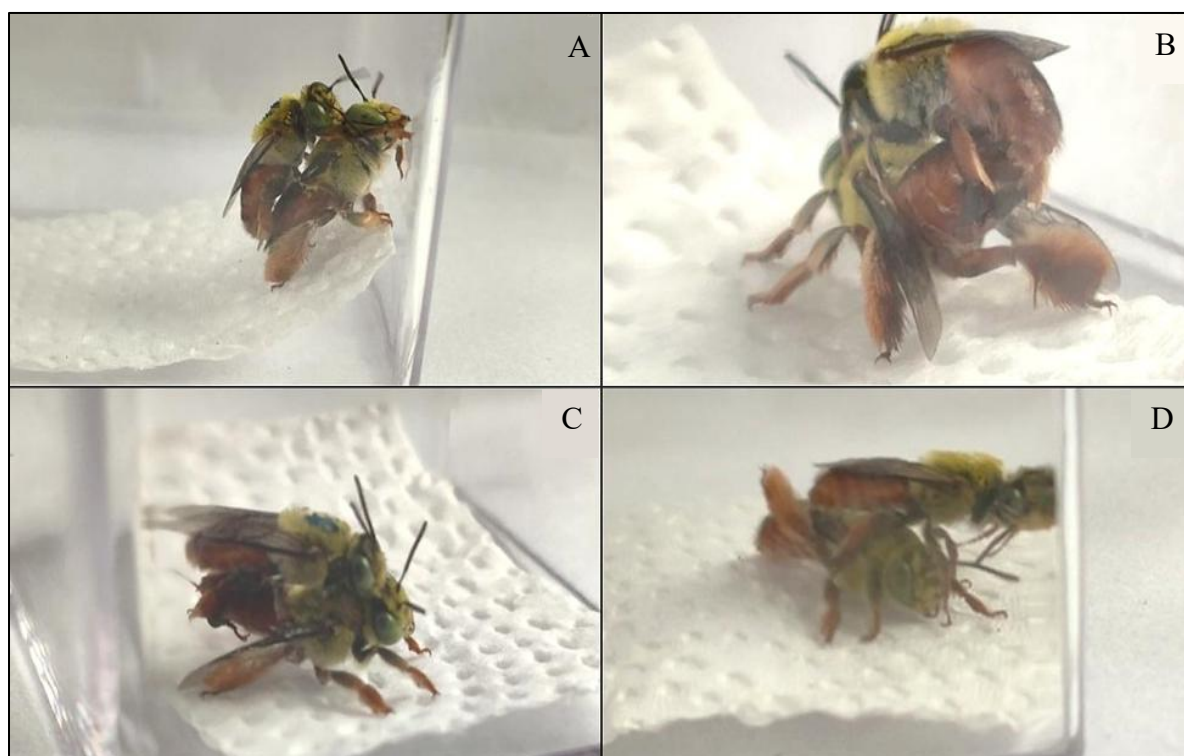


FIGURA 7A–D. Cópula de *Centris tarsata*: **A.** Macho em posição de monta. **B.** Macho realizando a intromissão da genitália na fêmea. **C.** Fêmea expondo o ferrão durante a cópula (detalhe indicado pela seta). **D.** Fêmea levantando as pernas posteriores para desalojar o macho.

Durante o contato genital, a porção distal do metassoma do macho, cujos segmentos são telescopáveis, se estende, fazendo contato com o final do metassoma da fêmea e do seu forâmen genital. Em três cópulas, os machos estimularam com fricção os últimos esternos da fêmea com as pernas posteriores, utilizando o esporão da tíbia, e contraindo e relaxando concomitantemente os últimos tergitos metassomais diversas vezes. Ao final do contato

influenciaram a ocorrência de uma ou mais cópulas durante o pareamento (2) foram utilizados Modelos Lineares Generalizados. Em (1) foram produzidos **quatro** modelos, sendo o primeiro com as seguintes variáveis: **“origem das abelhas”** (ver tabelas 1 e 2), “antagonismo da fêmea”, “tempo de pré-cópula” e “tempo até o pareamento”; e outros três modelos sempre excluindo uma das variáveis para verificar qual o melhor modelo para explicar os resultados. Para escolher o melhor modelo que explicasse o desfecho “pelo menos uma cópula”, foi utilizada a função “compare_performance” do pacote performance. Os modelos estão apresentados na tabela 3 abaixo e o resultado do melhor modelo na tabela 4:

TABELA 3. Modelos Lineares Generalizados para modelagem do comportamento de *Centris tarsata*.

Característica	Modelo 1			Modelo 2			Modelo 3			Modelo 4		
	IRR ¹	95% CI ¹	p-value	IRR ¹	95% CI ¹	p-value	IRR ¹	95% CI ¹	p-value	IRR ¹	95% CI ¹	p-value
Antagonismo da fêmea	0.81	0.14, 3.57	0.788	1.02	0.24, 3.72	0.973	1.08	0.17, 4.82	0.927			
Tempo de pré-cópula	1.01	1.00, 1.03	0.141	1.01	1.00, 1.03	0.100				1.01	1.00, 1.02	0.132
Tempo até o pareamento	1.00	0.99, 1.01	0.535				1.00	1.00, 1.02	0.317	1.00	0.99, 1.01	0.566

¹IRR = Razão da Taxa de Incidência, IC = Intervalo de confiança

TABELA 4. Comparação dos modelos apresentados na Tabela 3 (acima). O melhor modelo que explica a ocorrência de pelo menos uma cópula em *Centris tarsata* é o modelo 4.

Modelo	Modelo	R ² Nagelkerke	RMSE	Sigma	Score log	Score spherical	AIC Wt	AICc wt	BIC wt	Performance Score
Modelo 4	glm	0,4298	0,4064	1	-0,8199	0,1976	0,3822	0,4326	0,4356	0,7781
Modelo 3	glm	0,4028	0,3793	1	-0,8271	0,1977	0,3261	0,3691	0,3717	0,6264
Modelo 2	glm	0,4360	0,4045	1	-0,8182	0,1974	0,1459	0,0992	0,0963	0,2957
Modelo 1	glm	0,4360	0,4045	1	-0,8182	0,1974	0,1459	0,0992	0,0963	0,2957

R² Nagelkerke – versão ajustada do coeficiente de determinação (R²) em modelos de regressão logística; RMSE (*Root Mean Square Error*): mede a diferença entre os valores previstos e os valores observados; Sigma: desvio padrão dos resíduos do modelo estatístico; Score log: avalia a qualidade de ajuste do modelo; AICwt - usado para comparar modelos estatísticos com base no Critério de Informação de Akaike; AICcwt - uma versão corrigida do peso de Akaike, ajustada para amostras pequenas; BICwt - Peso do Critério de Informação Bayesiano, usado para comparar modelos estatísticos; Performance Score - Uma métrica geral para avaliar a qualidade de um modelo estatístico.

O modelo que melhor explicou a ocorrência de pelo menos uma cópula em *Centris tarsata* foi o número 4, ou seja, o tempo de pré-cópula **e o tempo até o pareamento**. As variáveis do melhor modelo em relação ao desfecho (ocorrência de cópula) estão representadas graficamente na fig 9.

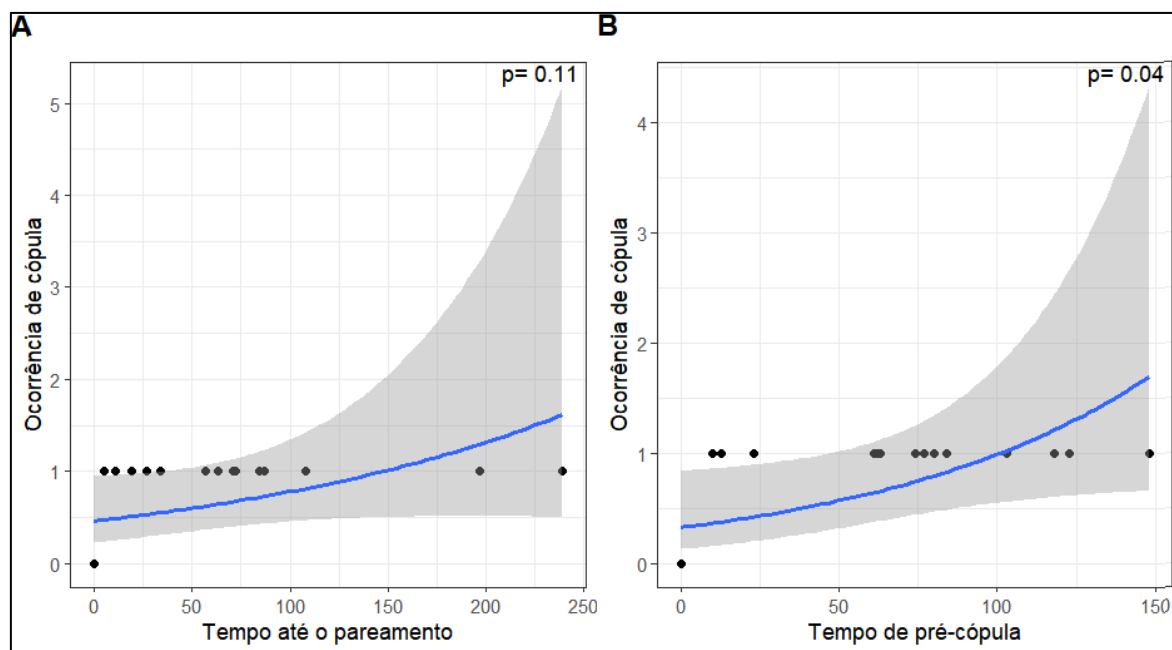


FIGURA 8A, B. Relação das variáveis “tempo até o pareamento” e “tempo de pré-cópula” para a ocorrência de cópula em *Centris tarsata*.

Considerando os fatores que influenciaram a ocorrência de uma ou mais cópulas durante o acasalamento em *Centris tarsata* o mesmo processo foi realizado conforme a situação 1. No entanto, devido a apenas duas variáveis terem sido extraídas dos experimentos de cópula, não foi possível realizar a comparação dos modelos retirando uma variável de cada vez para inferir quais delas influenciaram mais no desfecho ocorrência de uma ou mais cópulas.

As seguintes variáveis foram consideradas na modelagem do desfecho ocorrência de uma ou mais cópulas: “estímulo do esterno da fêmea pelo macho” e a “vibração do mesossoma do macho” durante o experimento de cópula. Apenas o estímulo do esterno da fêmea foi fator que influenciou o número de contato genital entre os indivíduos. Os valores são apresentados na tabela 5 abaixo:

TABELA 5. Comportamentos que influenciaram no desfecho “ocorrência de uma ou mais cópulas em *Centris tarsata*.”

Comportamento	RTI ¹	95% IC ¹	<i>p</i>
Estímulo do esterno da fêmea pelo macho	1,06	1,01; 1,11	0,026
Vibração do mesossoma do macho	1,14	0,98; 1,34	0,097

¹RTI = Razão de Taxa de Incidências, IC = Intervalo de Confiança

2.3.2. Cópula em *Centris (Heterocentris) analis* (fig 10).

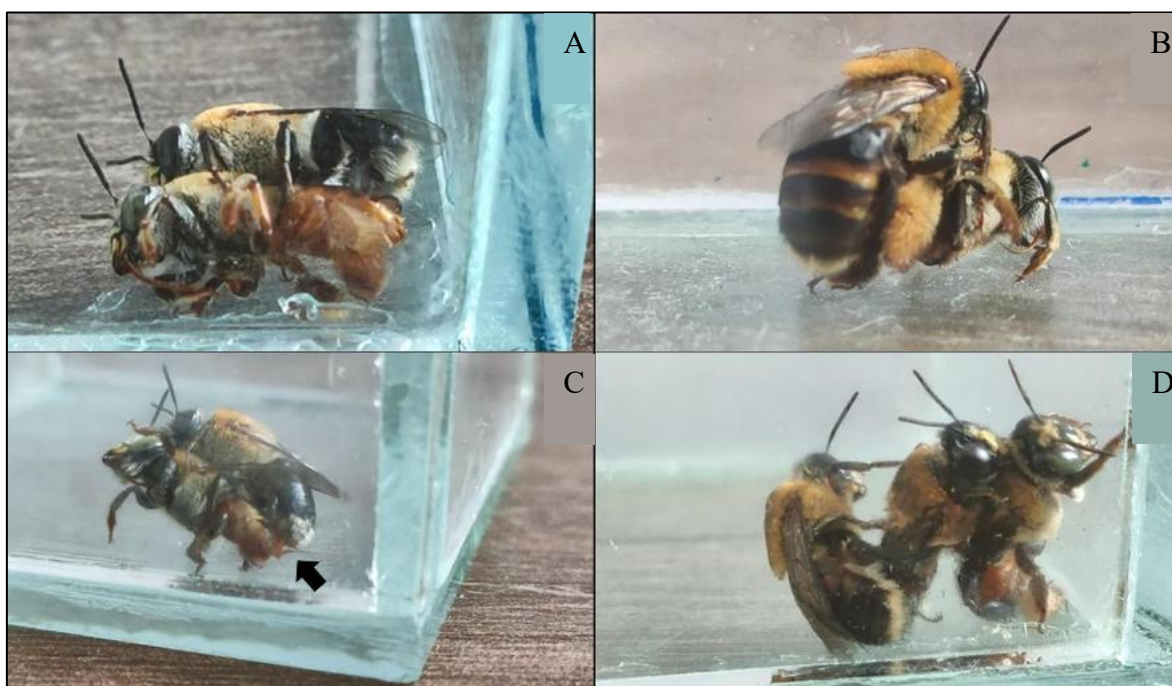
União dos indivíduos. Nesta espécie foram realizadas 21 uniões, resultando em 10 pareamentos e nove cópulas. No pareamento que não resultou em cópula, o macho assumiu a posição de monta na fêmea e ambos ficaram parados imóveis durante 1420 segundos. As cópulas ocorreram em outubro de 2021, dezembro de 2021, janeiro de 2022, fevereiro de 2022 e março de 2022. A média do tempo de pareamento com ocorrência de cópula foi de $746,77s \pm 705,43$ ($n = 9$). Para avaliar a interação entre machos e fêmeas oriundos do mesmo ninho foram colocados juntos um casal de cada vez com exceção de um experimento em que foram colocados macho e fêmea de um mesmo ninho e um macho de ninho diferente. Em três ocasiões eles ficaram indiferentes entre si; nas outras oito ocasiões o macho tentou montar na fêmea, mas esta exibiu comportamentos antagonísticos, impedido que ele estabelecesse a posição de monta. Em sete dos outros nove experimentos de cópulas houve antagonismo por parte da fêmea, mesmo a cópula ocorrendo.

Descrição dos comportamentos de cópula. Os machos de *Centris analis* abordaram as fêmeas inspecionando-as com as antenas e, geralmente, tentando a posição de monta. Quando a monta é permitida, a fêmea permanece imóvel. Os machos apoiam-se sobre a fêmea com as pernas anteriores na região do lobo pronotal, com as mandíbulas tocando a porção anterior do mesoescuto, as pernas médias na altura do propódeo ou sobre o fêmur da perna média da fêmea, e com as pernas posteriores envolvendo o metassoma dela (fig 10A). Ao realizar o contato genital, os machos emitem um zumbido através da vibração do mesossoma, alternado a contração e relaxamento do metassoma e batendo suas antenas nas laterais da cabeça da fêmea. Quando o par não está realizando o contato genital, ambos se mantêm a posição de monta. O contato genital aconteceu várias vezes durante os experimentos de cópula (Mediana = 3, Intervalo Interquartilico = 2 – 4), com 50% do número de intromissões da genitália entre 2 e 4 eventos (figs 10.2 e 10.3). O contato genital durou em média $61,78s \pm 53,1s$ ($n = 9$). A fêmea se mantém imóvel durante boa parte do tempo, contraindo e relaxando ocasionalmente os segmentos distais do metassoma.

Em um dos experimentos de cópula, foram colocados dois machos, um do mesmo ninho da fêmea e outro de um ninho diferente (fig 10.4). Durante esse experimento, a fêmea permitiu unicamente a monta do macho do ninho diferente, embora o macho presumivelmente irmão dela, tenha passado boa parte do tempo tentando desalojar o rival da posição de monta. O par em posição de monta se manteve levantando as pernas

posteriores e médias para impedir que o segundo macho separasse o casal. Algumas vezes, o macho irmão da fêmea tentou acasalar com a cabeça da fêmea.

Em metade das cópulas registradas, a fêmea tentou desalojar o macho mesmo quando este já estava fixado sobre seu corpo, tentando alçar voo ou se jogando de costas. Em duas cópulas, a fêmea expôs o ferrão durante o contato genital (fig 10.3). Quando ela está receptiva permanece imóvel, permitindo que o macho consiga subir sobre ela e se postar de forma a tentar o contato genital.



FIGURAS 9A–D. Cópula em *Centris analis*: **A.** Macho em posição de monta sobre a fêmea. **B.** Macho fazendo a intromissão da genitália pela direita. **C.** Fêmea expondo o ferrão durante a cópula (seta). **D.** Macho tentando desalojar outro macho em posição de monta sobre a fêmea.

Modelagem no acasalamento de *Centris analis*. O comportamento agressivo da fêmea em relação ao macho não teve influência no pareamento do casal (Teste de Fisher, p -valor $< 0,001$). Já a origem dos indivíduos teve influência no tempo que os machos levaram para conseguir subir na fêmea. Houve diferença entre os exemplares de mesmo ninho (onde ou as abelhas eram indiferentes entre si, ou a fêmea rechaçava o macho impedindo sua monta) e abelhas da mesma área, mas de ninhos diferentes (teste de Wilcoxon, p -valor = 0,0012) e abelhas de áreas diferentes (teste de Wilcoxon, p -valor $< 0,001$). Não houve diferença entre o tempo de pareamento entre abelhas de ninhos diferentes da mesma área ou de áreas diferentes (teste de Wilcoxon, p -valor $< 0,001$). Quando

comparados simultaneamente os três grupos, houve diferença significativa no tempo de pareamento (Kruskal-Wallis, p -valor $< 0,001$) (fig 11).

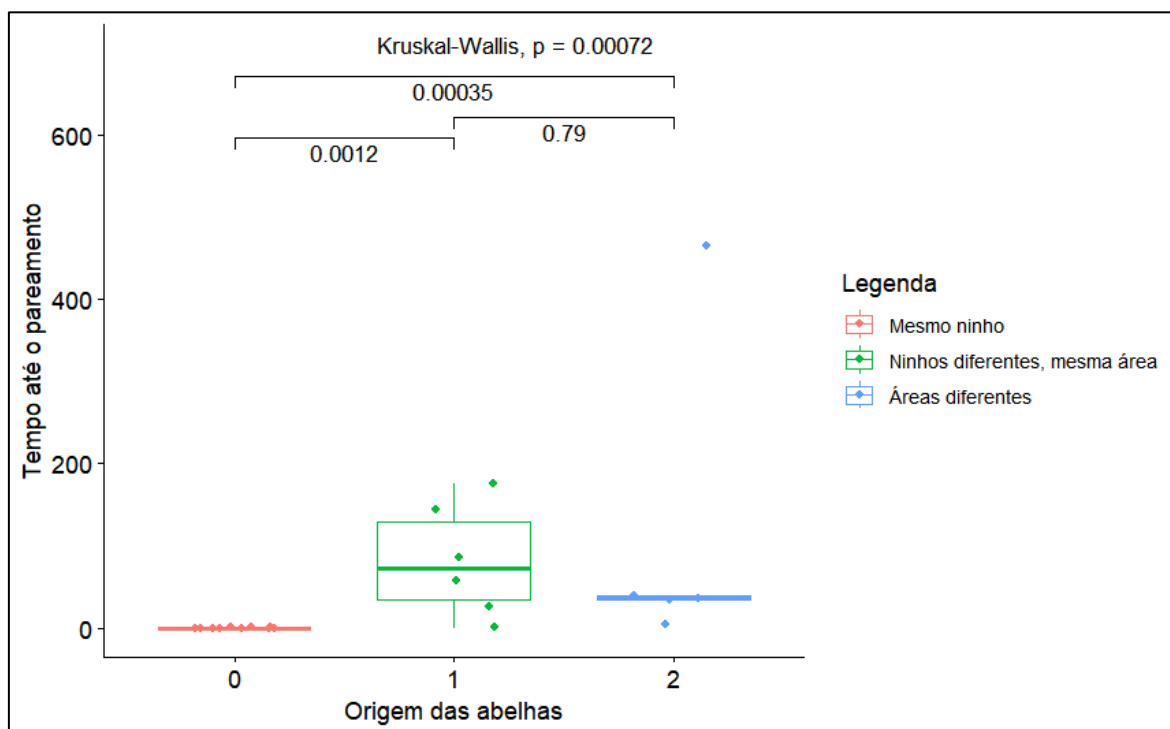


FIGURA 10. Teste de Wilcoxon e Kruskal-Wallis para verificar se a origem dos indivíduos de *Centris analis* teve influência no tempo até o pareamento.

Para analisarmos os fatos que influenciam na ocorrência de pelo menos uma cópula durante o pareamento de *Centris analis* (1) e aqueles que influenciariam a ocorrência de uma ou mais cópulas durante o pareamento foram utilizados Modelos Lineares Generalizados. Em 1 foram produzidos quatro modelos, o primeiro com as seguintes variáveis: “antagonismo da fêmea”, “tempo de pré-cópula” e “tempo até o pareamento”; e outros três modelos sempre excluindo uma das variáveis. Para escolher o melhor modelo que explicasse o desfecho “pelo menos uma cópula” foi utilizada a função ‘compare_performance’ do pacote perfomance. Os modelos estão apresentados na tabela 6 abaixo e o resultado do melhor modelo, o modelo 3, está na tabela 7:

TABELA 6. Modelos Lineares Generalizados para modelagem do comportamento de *Centris analis*.

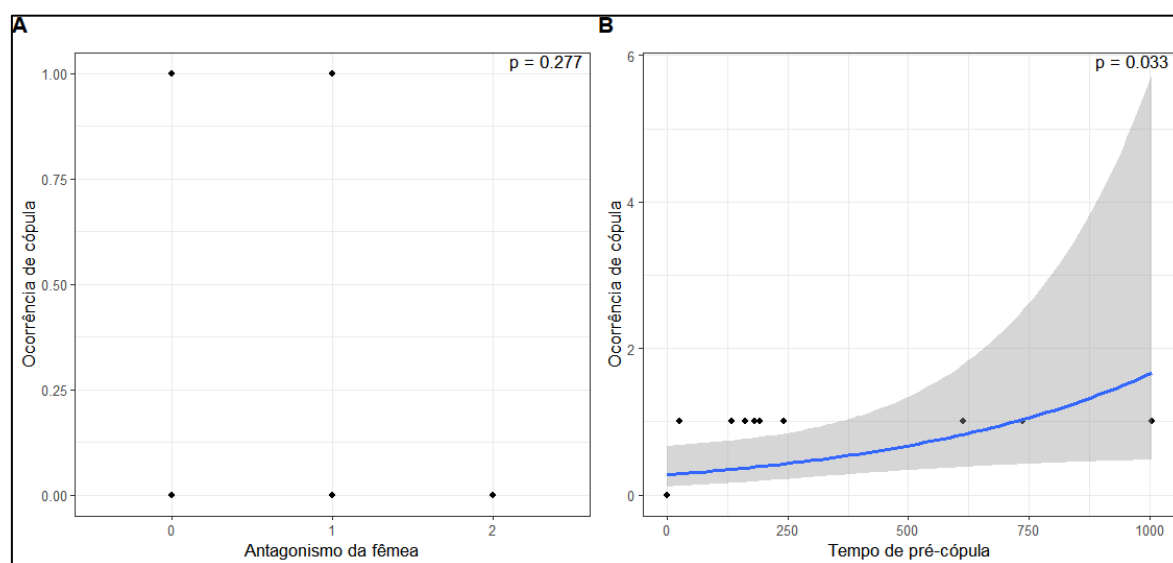
	Modelo 1			Modelo 2			Modelo 3			Modelo 4		
Variáveis	IRR ¹	CI ¹	p	IRR ¹	CI ¹	p	IRR ¹	CI ¹	p	IRR ¹	CI ¹	p
Antagonismo da fêmea	0,34	0,07; 1,70	0,189				0,35	0,07; 1,70	0,194	0,48	0,11; 2,04	0,316
Tempo de pré-cópula	1,00	1,00; 1,01	0,084	1,00	1,00; 1,00	0,082	1,00	1,00; 1,00	0,042			
Tempo até o pareamento	1,00	0,99; 1,00	0,657	1,00	0,99; 1,01	0,690				1,00	1,00; 1,01	0,213

¹IRR = Razão da Taxa de Incidência, CI = Intervalo de Confiança 95%

TABELA 7. Comparação dos modelos apresentados na tabela 6 (acima).

Modelo	Modelo	R ² Nagelkerke	RMSE	Sigma	Score log	Score spherical	AIC wt	AICc wt	BIC wt	Performance Score
Modelo 3	glm	0,5612	0,3636	1	-0,6206	0,1987	0,4506	0,4179	0,4129	0,8113
Modelo 1	glm	0,5739	0,3457	1	-0,6159	0,1986	0,1827	0,0800	0,0993	0,4539
Modelo 2	glm	0,3312	0,4125	1	-0,6979	0,2004	0,2416	0,3861	0,3732	0,4501
Modelo 4	glm	0,3824	0,4134	1	-0,6817	0,1988	0,1248	0,1158	0,1144	0,0982

O modelo que melhor explicou a ocorrência de pelo menos uma cópula em *C. analis* foi o número 3, onde o tempo de pré-cópula resultou ser significativo (fig 12).

**FIGURA 11.** Relação das variáveis “antagonismo da fêmea” e “tempo de pré-cópula” para a ocorrência de cópula em *Centris analis*.

Considerando os fatores que influenciaram a ocorrência de uma ou mais cópulas durante o acasalamento em *Centris analis* o mesmo processo foi realizado conforme a situação (1). Em *C. analis*, o comportamento de pré-cópula do macho é representado por três etapas que puderam ser identificadas visualmente: “estímulo do esterno da fêmea através da fricção das pernas posteriores do macho”, “vibração das asas” e “vibração do

metassoma”. Nesse caso, também foram realizados modelos para ver como o desfecho “número de cópulas” foi influenciado pela ocorrência e duração das etapas supracitadas. Quatro modelos foram construídos para essa análise (Tabela 8):

O Modelo 5 com todas as etapas apresentadas pelos machos: “estímulo do esterno da fêmea”, “vibração das asas” e “vibração do mesossoma”.

O Modelo 6 com as variáveis “estímulo do esterno da fêmea” e “vibração do mesossoma”.

O Modelo 7 com as variáveis “estímulo do esterno da fêmea” e “vibração das asas”.

O Modelo 8 com as variáveis “vibração do mesossoma” e “vibração das asas”.

TABELA 8. Modelos Lineares Generalizados para modelagem do desfecho “número de cópulas” no acasalamento de *Centris analis*.

Variáveis	Modelo 5			Modelo 6			Modelo 7			Modelo 8		
	IRR ¹	CI ¹	p	IRR ¹	CI ¹	p	IRR ¹	CI ¹	p	IRR ¹	CI ¹	p
Estímulo do esterno da fêmea	1.01	1.00, 1.02	0.07 0	1.00	1.00, 1.01	0.395	1.02	1.01, 1.03	0.000			
Vibração do mesossoma	1.02	1.01, 1.03	0.00 0	1.02	1.01, 1.03	0.000				1.02	1.01, 1.03	0.000
Vibração das asas	0.90	0.79, 1.03	0.11 0				0.87	0.78, 0.98	0.014	1.00	0.94, 1.07	0.885

¹IRR = Razão da Taxa de Incidência, CI = Intervalo de Confiança 95%

O modelo que melhor explica o número de cópulas em *Centris analis* foi o número 6 (Tabela 9).

TABELA 9. Comparação dos modelos apresentados na Tabela 8 (acima). O melhor modelo que explica o número de cópulas em *Centris analis* é o 6.

Modelo	Modelo	R ² Nagelkerke	RMSE	Sigma	Score log	Score spherical	AIC wt	AICc wt	BIC wt	Performance Score
Modelo 6	glm	0,9768	1,3314	1	-1,0833	0,1868	0,3485	0,4200	0,4174	0,8214
Modelo 5	glm	0,9811	1,1501	1	-1,0285	0,1859	0,4055	0,2836	0,2881	0,8173
Modelo 8	glm	0,9754	1,3342	1	-1,1008	0,1848	0,2415	0,2910	0,2892	0,5780
Modelo 7	glm	0,9556	1,5837	1	-1,2922	0,1877	0,0043	0,0052	0,0051	0,1428

R² Nagelkerke – versão ajustada do coeficiente de determinação (R²) em modelos de regressão logística; RMSE (*Root Mean Square Error*): mede a diferença entre os valores previstos e os valores observados; Sigma: desvio padrão dos resíduos do modelo estatístico; Score log: avalia a qualidade de ajuste do modelo; AICwt - usado para comparar modelos estatísticos com base no Critério de Informação de Akaike; AICcwt - uma versão corrigida do peso de Akaike, ajustada para amostras pequenas; BICwt - Peso do Critério de Informação Bayesiano, usado para comparar modelos estatísticos; Performance Score - Uma métrica geral para avaliar a qualidade de um modelo estatístico.

Quando analisamos as variáveis do modelo 6 para o número de cópulas, observa-se que a estimulação dos esternos da fêmea e a vibração do metassoma do macho foram significativos no número de cópulas, conforme a fig 13.

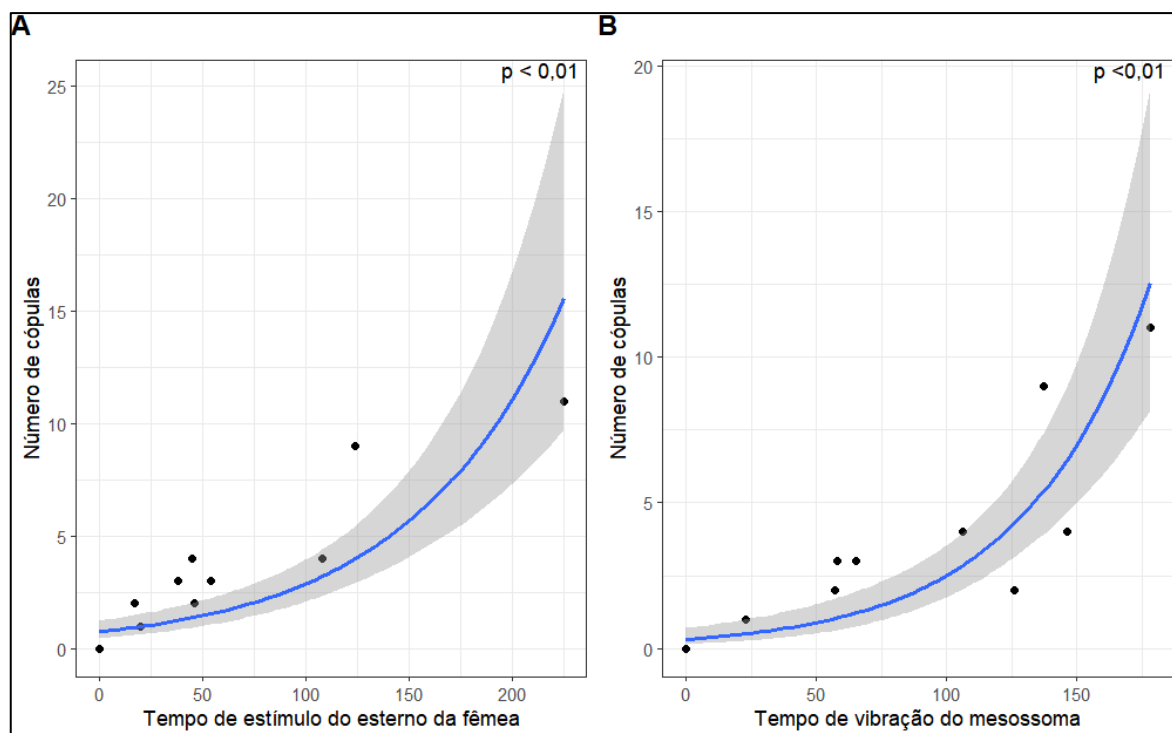


FIGURA 12. Relação das variáveis “tempo de estímulo do esterno da fêmea” e “tempo de vibração do metassoma” para a ocorrência de cópula em *Centris analis*.

2.4. DISCUSSÃO

O presente trabalho é o primeiro a trazer informações sobre o comportamento reprodutivo de *Centris tarsata* e *C. analis*. Estas duas espécies são muito bem estudadas do ponto de vista de sua biologia de nidificação e ambas são comuns em diferentes regiões e biomas do Brasil (Costa & Gonçalves 2019; Drumond et al. 2023). Este estudo exploratório traz padrões gerais observados em algumas populações de ambas as espécies, levantando hipóteses para os achados encontrados. Adicionalmente, também é o primeiro trabalho a apresentar dados sobre comportamento reprodutivo em espécies de Centridini que constroem seus ninhos em cavidades pré-existentes, já que dados da biologia reprodutiva de outras espécies da tribo estão restritos às espécies que nidificam no solo (Alcock et al. n.d.; Dec & Vivallo 2019, 2021a; O. Sabino et al. 2017; Pina et al. 2022; Vivallo 2021).

O padrão de cópula observado em *Centris tarsata* e *C. analis* foi similar ao identificado para outras espécies de abelhas que nidificam em cavidades pré-existentes, tal como indicado por Danforth et al. (2019). Estes autores fizeram uma revisão das táticas de

acasalamento em abelhas solitárias e elencaram alguns padrões de acordo com o hábito de nidificação das diferentes espécies (e.g. abelhas que nidificam no solo e abelhas que nidificam em cavidades pré-existentes). Como observado no presente estudo, os machos de ambas as espécies se encontravam nas células mais externas dos ninhos e emergiram primeiro que as fêmeas, mostrando que as populações amostradas são protândricas. Essa característica pode estar diretamente ligada à estratégia de acasalamento de espécies que nidificam em cavidades pré-existentes e que fazem ninhos com geometria linear (Gerber & Klostermeyer 1970).

Os experimentos de cópula trouxeram algumas informações importantes quanto à origem das abelhas e a possibilidade de ocorrer ou não acasalamento. Em nenhum dos experimentos ocorreu endogamia. Em *Centris tarsata*, as abelhas oriundas de ninhos diferentes se mantiveram indiferentes entre si, mas em *C. analis*, na maioria dos experimentos nos quais duas abelhas do mesmo ninho foram colocadas juntas, as fêmeas impediram que os machos acasalassem com elas. Isso evidencia que nesta última espécie a fêmea consegue discriminar machos irmãos, ao passo que para o macho se a fêmea é ou não sua irmã parece ser uma característica totalmente irrelevante.

No caso de *Centris analis*, o fato dos experimentos terem sido realizados em cativeiro, pode ter influenciado a abordagem de machos de mesmo ninho com as fêmeas (Richardson & Zuk 2023), uma vez que, como em condições naturais, eles emergem primeiro, eles acabam reduzindo as chances de encontrarem irmãs na natureza. Nesse caso, o processo de evitar endogamia aconteceria pela dispersão dos machos no ambiente (Pike *et al.* 2021). Além disso, sob o prisma da conservação dessas espécies, se o padrão de evitar a endogamia for encontrado em outras espécies de *Centris*, a redução da cobertura vegetal mais antiga, e, portanto, a fonte de cavidades que essas abelhas utilizam para construir seus ninhos (Morato & Martins 2006), pode impactar severamente as populações em áreas em que não haja corredores para a existência de um fluxo de indivíduos entre populações. Adicionalmente, efeitos danosos a nível populacional sobre essas abelhas, como machos inférteis frutos de endogamia, podem reduzir as populações dessas abelhas, impactando negativamente funções ecológicas como a polinização.

A diferença do tempo utilizado pelos casais para realizar a cópula em *Centris tarsata* e *C. analis* foi um aspecto relevante observado no estudo. *Centris analis* apresentou um tempo de cópula muito maior do que *C. tarsata*. O tempo gasto durante o

acasalamento é também o tempo em que o casal fica exposto e vulnerável a predadores (Daly 1978). Comparando com outros membros do grupo o tempo que essas espécies ficam em média formando um casal (*Centris burgdorfi* Friese, 1901 419s em média [Sabino et al. 2017]; *Epicharis dejeanii* Lepeletier, 1841 95s em média [Dec & Vivallo 2021b]), observamos que *C. analis* é a espécie com a cópula mais extensa. Dessa forma, copular escondido na natureza pode ser uma estratégia para reduzir o risco de ser descoberto por predadores, o que acaba, por sua vez, dificultando a observação da cópula na natureza. Nas duas espécies de *Centris* estudadas aqui, em algumas cópulas foi observado que a fêmea expunha o ferrão. Esse comportamento foi observado também numa espécie de *Epicharis* Klug, 1807 (Dec & Vivallo 2020). Apesar de especulativo, podemos considerar que a exposição do ferrão poderia ser, de alguma forma, uma tentativa de a fêmea influenciar no processo de cópula após o início do contato genital. Estudos futuros podem investigar esse tipo de comportamento nas espécies de Centridini.

Apesar de vários trabalhos argumentarem que muitas espécies de abelhas solitárias copulam nas flores, quase nenhuma espécie solitária possui dados a respeito de sua cópula (Danforth et al. 2019a). No caso específico de *Centris analis*, a cópula demorada pode justificar o fato do casal não copular nas flores, local mais exposto a predadores. Outra espécie do gênero, *C. burgdorfi* (Sabino et al. 2017), possui um tempo de cópula médio superior a 5 minutos, no entanto, essa espécie nidifica de forma agregada, o que reduz a chance de predação porque existem vários indivíduos em volta.

Ainda sobre o tempo despendido por *Centris analis* na cópula, a demora do macho ao proceder com a pré-cópula e a pós-cópula pode ser explicada de duas formas: (1) o macho monopoliza a fêmea por mais tempo reduzindo assim qualquer eventual janela de aceitação de cópula para outros machos; (2) as fêmeas dessa espécie são mais “criteriosas” na escolha dos machos e o aumento do tempo de pré-cópula e pós-cópula por parte do macho poderia demonstrar boas características, aumentando as chances deste de ser pai das fêmeas geradas (Alcock 2013a; Andersson 1994). Em ambos os cenários, as fêmeas são o ponto chave e a razão pela qual o comportamento dos machos respondeu (Eberhard 1996a) deve ser alvo de mais experimentos de cópula manipulativos para estabelecer uma relação de causalidade.

Considerando os comportamentos dos machos e fêmeas, observa-se que o comportamento agressivo da fêmea em relação ao macho foi comum em *Centris tarsata*.

No entanto, esse comportamento não teve influência na ocorrência de pelo menos uma cópula nesta espécie. Ao observarmos os modelos produzidos no presente estudo, observa-se que o tempo de pré-cópula foi a variável que influenciou a ocorrência de pelo menos uma cópula nessa espécie. O modelo revelou que o tempo de pré-cópula teve um efeito positivo e significativo na resposta, sugerindo que um aumento no tempo de pré-cópula está associado a um aumento na taxa esperada de cópula.

Quando observamos os resultados para o desfecho “ocorrência de uma ou mais cópulas”, vimos que em *Centris tarsata* o estímulo do esterno da fêmea pelo macho esteve associado a um aumento significativo na taxa de incidência do desfecho. Por outro lado, a vibração do metassoma do macho apresentou uma tendência de aumento, porém, não foi estatisticamente significativo.

Em *Centris analis*, o comportamento agressivo também não teve influência no pareamento. No entanto, a origem das abelhas (se do mesmo ninho ou se de ninhos diferentes) teve sim. Abelhas de mesmo ninho nunca parearam, principalmente por causa do comportamento da fêmea em relação a machos (presumivelmente) irmãos do mesmo ninho. As observações feitas para essa espécie sugerem que as fêmeas impedem a endogamia por rejeitarem machos irmãos. Também observamos no único evento em que dois machos e uma fêmea, um do mesmo ninho que a fêmea e outro de ninho diferente, foram colocados juntos, a fêmea rejeitou fortemente o macho (provavelmente) irmão e a cópula aconteceu unicamente com o macho de outro ninho.

Das variáveis investigadas para o acontecimento de “pelo menos uma cópula”, observamos que apenas o tempo de pré-cópula teve um efeito positivo e significativo na taxa de incidência. Já quando analisamos as variáveis para o desfecho “número de cópulas”, vimos que a variável vibração do metassoma foi associada a um aumento significativo da taxa de incidência.

A pré-cópula e todos os comportamentos que podem ser considerados dentro desse conjunto é condição observada em vários grupos de abelhas e, provavelmente, é através dos comportamentos de corte durante a pré-cópula que a fêmea avalia a qualidade do macho como pai de sua prole (Eberhard 1996b). Observa-se quem em ambas as espécies estudadas, pelo menos um dos comportamentos descritos durante a pré-cópula teve influência no desfecho (pelo menos uma cópula e no número de cópulas). Em outros grupos de abelhas como nos gêneros *Epicharis* (Apidae) (Dec & Vivallo 2021b; Pina *et al.*

2022) e *Heriades* Spinola, 1808 (Megachilidae) (Ganuza *et al.* 2022), parece que a ocorrência de tais comportamentos, como a vibração das asas, é algo comum e está ligado diretamente ao sucesso da cópula por parte dos machos.

As fêmeas que já haviam acasalado se mostraram não atrativas para machos. Na literatura, para as espécies que possuem dados de acasalamento em Centridini, as fêmeas acasalam apenas uma vez (Danforth *et al.* 2019a). Em um trabalho recente, estudando *Epicharis dejeanii*, Dec & Vivallo (2021b), propuseram uma hipótese para explicar esse fato: que o “cheiro de virgem” das fêmeas desaparece com a estimulação que os machos realizam no corpo da fêmea, e que essa estimulação ocorreria já no começo da cópula e não na pós-cópula, como acontece em outras abelhas. A falta de atratividade de fêmeas que já acasalaram para machos em *Centris analis* e *C. tarsata* pode estar ligada a esse mesmo mecanismo.

O impacto do comportamento das fêmeas de abelhas solitárias que acasalam apenas uma vez reflete diretamente na razão sexual operacional da sua população. Isso acontece porque a cada fêmea que acasala e não está mais receptiva ou não é mais atrativa para o macho, a razão sexual fica cada vez mais e mais enviesada ao longo do tempo para o número de machos (Danforth *et al.* 2019). Dessa forma, a quantidade de fêmeas e sua distribuição afetam diretamente a estrutura dos sistemas de acasalamento em abelhas (Alcock 2013), e no caso particular, em *Centris analis* e *C. tarsata*, como apontam as evidências aqui apresentadas.

CAPÍTULO 2 - CÓPULA EM *MEGACHILE (PTILOSARUS) MICROSOMA* COM NOTAS SOBRE O COMPORTAMENTO REPRODUTIVO DO GÊNERO *MEGACHILE*

3.1. INTRODUÇÃO

O comportamento reprodutivo na família Megachilidae é mais bem conhecido na tribo Anthidiini Ashmead, 1899 (Danforth *et al.* 2019a), principalmente porque algumas espécies nessa tribo possuem fêmeas poliândricas. Esse comportamento de acasalar com vários machos é uma exceção ao que é normalmente observado nas abelhas, com as fêmeas acasalando apenas uma vez ao longo de sua vida (Alcock 2013).

Na tribo Megachilini Latreille, 1802, o gênero *Megachile* Latreille, 1802 possui muitos dados relativos à *Megachile rotundata* (Fabricius, 1787) (Pitts-Singer & Cane 2011; Rossi *et al.* 2010), ao passo que para outras espécies do mesmo gênero, como *M. willughbiella* (Kirby, 1802) (Wittmann & Blochtein 1995) existem poucos dados, ou nenhum para a grande maioria de táxons que compõem essa linhagem (Batra 1978). As espécies de *Megachile* possui forte dimorfismo sexual e muitas peculiaridades morfológicas estão relacionadas à reprodução (Wittmann *et al.* 2004; Wittmann & Blochtein 1995). Entre estas últimas podemos apontar as modificações nos basitarsos e a presença de glândulas aromáticas nas pernas dos machos. No entanto, essas modificações são apontadas como evidências na cópula das espécies de *Megachile* no geral, embora existam dados para apenas duas das suas espécies.

Desse modo, o presente capítulo traz dados do comportamento de cópula de *Megachile (Ptilosarus) microsoma* em condições de laboratório.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

Os dados desse capítulo foram coletados conforme a seção de Material e Métodos do capítulo 1.

As coletas foram realizadas nas seguintes áreas: Sítio Aguahy no município de São José de Ribamar (-2.65, -44.15); Área de Proteção Ambiental do Itapiracó (-2.53, -44.22); Parque Estadual do Rangedor (-2.49, -44.27); Campus Maracanã do Instituto Federal do Maranhão (-2.60, -44.26); e Sítio Mangalho (-2.6034, -44.2966), todas elas localizadas no extremo norte do Maranhão (fig 1, capítulo 1). As coletas ocorreram de Setembro/2021 a Dezembro/2022.

Os indivíduos utilizados para os experimentos de cópula foram todos oriundos de ninhos coletados no Campus Maracanã do Instituto Federal do Maranhão. O tratamento com os ninhos desta espécie foram os mesmos realizados com as espécies de *Centris* e estão descritos no capítulo 1.

3.3. RESULTADOS

Foram realizados 12 experimentos e cinco cópulas foram observadas. Os machos nasceram primeiro que as fêmeas. As cópulas nessa espécie duraram em média $25,2s \pm 7,29s$.

Os pontos de contato do macho durante a monta na fêmea são as pernas anteriores posicionadas na frente da cabeça dela, com as garras do macho apoiadas na área hipostomal, as pernas médias apoiadas sobre as tégulas próximas à base das asas da fêmea e as pernas posteriores posicionadas na porção médio-ventral do metassoma da fêmea. As asas da fêmea ficam impossibilitadas de abrir, impedindo a fêmea de voar durante a posição de monta do macho (fig 14A–D).

Após o macho se estabelecer na posição de monta, ele usa as pernas posteriores para levantar o metassoma da fêmea realizando nessa posição o contato genital. Durante grande parte da cópula a fêmea permanece com o corpo em forma de “U”. Observou-se que os machos, durante o contato genital (fig 15), esfregam suas pernas anteriores nos olhos compostos e na região paraocular da fêmea. Após todas as cópulas, a fêmea realizou comportamento de limpeza.



FIGURAS 13A–D. A. Macho de *Megachile (Ptilosarus) microsoma* abordando a fêmea. B. Macho montando na fêmea por trás. C. Contato genital entre macho e fêmea. D. Macho sendo desalojado da posição de monta pela fêmea.

Nessa espécie, os pareamentos foram realizados a partir de indivíduos do mesmo ninho, ou seja, todos eles provavelmente eram aparentados entre si. Apesar disso, observamos cinco cópulas, o que sugere que há possibilidade de endogamia na espécie. No entanto, esse resultado precisa ser considerado com cautela visto que o número amostral analisado foi baixo.

Também foi observado que as fêmeas só acasalaram uma vez. Após o acasalamento, colocaram-se as fêmeas com machos diferentes dos que elas tinham acasalado inicialmente para verificar se haveria cópula, porém, tanto as fêmeas quanto os machos ficaram indiferentes ($n = 4$). Os machos sobreviveram apenas dois dias após acasalarem.

Não houve tratamento estatístico dos dados devido ao baixo número de indivíduos coletados para esse estudo.



FIGURA 14. Contato genital entre macho e fêmea de *Megachile microsoma* com o corpo da fêmea em U. A seta indica a posição das garras e dos tarsômeros na área da base da mandíbula e dos olhos compostos da fêmea.

3.4. DISCUSSÃO

Existem poucos dados publicados relativos à copula para o gênero *Megachile*. No entanto, existem algumas informações para outros gêneros dentro da família Megachilidae. A partir da literatura disponível, podemos observar algumas semelhanças entre as cópulas observadas para *M. microsoma* e outras espécies na família Megachilidae.

Em *M. willughbiella* o macho apresenta uma posição similar à posição do macho de *M. microsoma*, com as pernas posteriores posicionadas na frente da cabeça da fêmea, paralela aos olhos compostos, posicionando as antenas da fêmea para baixo, sob os tarsos com pernas posteriores presas abaixo da base das mandíbulas da fêmea (Wittmann & Blochtein 1995). No entanto, ao contrário de *M. willughbiella*, a posição do corpo da fêmea de *M. microsoma* durante a cópula é muito diferente: ela fica com o corpo em forma de “U” e o macho posiciona suas pernas posteriores de forma que ela se mantenha nessa posição. Na cópula em *Osmia bicornis* (Linnaeus, 1789) (Seidelmann 1999, citada como *O. rufa* (Linnaeus, 1789)), a fêmea e o macho mantêm seus corpos paralelos entre si; no

entanto, em *Heriades truncorum* (Linnaeus, 1789), os machos levantam o metassoma das fêmeas durante a cópula para realizar o contato genital (Boff 2022). Dessa forma, pode haver diversas formas de movimento durante a cópula na família Megachilidae para que haja o contato genital entre macho e fêmea.

A partir das observações feitas no presente trabalho em relação à posição do metassoma da fêmea de *M. microsoma*, nota-se que algumas peculiaridades da morfologia da espécie e do subgênero *M. (Ptilosarus)* Mitchell, 1943 podem estar ligadas à reprodução, por exemplo, a concavidade do primeiro terço do metassoma da fêmea e a posição da abertura do forâmen genital do macho (Silveira *et al.* 2002). Essas duas características contribuem para o acontecimento da cópula nessa espécie.

Em outras espécies de Megachilidae, como em *Osmia bicornis* (Seidelmann 1999a) e *M. willughbiella* (Wittmann & Blochtein 1995) o comportamento de passar as pernas anteriores sobre os olhos compostos da fêmea já foi registrado. Embora não existam grandes modificações nos tarsos de *M. microsoma* que poderiam estimular mecanicamente a região dos olhos compostos e antenas como em espécies de *Megachile* do subgênero *Pseudocentron*, por exemplo, o mesmo *M. willughbiella* (Wittmann *et al.* 2004), há indícios comportamentais que glândulas podem existir nessa região que estimulam as antenas da fêmea durante a cópula. Essa inferência é feita com base nas observações de Wittmann & Blochtein (1995) para outras espécies de *Megachile* como *M. ericetorum* Lepeletier, 1841, *M. rotundata*, *M. anthidioides* Smith, 1879 com o mesmo comportamento em relação à posição das pernas posteriores que não possuem grandes modificações no tarso, mas possuem glândulas que estariam ligadas a produção de feromônios. Além disso, investigações mais recentes mostram que machos e fêmeas de outras espécies de Megachilidae utilizam pistas químicas para induzir o comportamento de corte ou a receptividade da fêmea durante a corte (Ganuza *et al.* 2022; Romani *et al.* 2003).

Embora poucas cópulas foram observadas nessa espécie, inferimos que as fêmeas da espécie em questão são monogâmicas e acasalam apenas uma vez, enquanto os machos parecem ser poligínicos. Essa conclusão se dá porque em outras espécies de Megachilidae que nidificam em cavidades pré-existentes, a competição por fêmeas se dá através do primeiro acesso que o macho tem a elas (Thornhill & Alcock 1983). Dessa forma, provavelmente, os machos procuram as fêmeas que estão dispersas no ambiente, não

havendo vantagem nem para machos maiores ou territoriais, mas para aqueles com melhores habilidades para encontrar a fêmea (Seidelmann 1999b).

Apesar dos poucos dados para o gênero *Megachile* disponíveis na literatura, a observação do comportamento reprodutivo de *M. microsoma* traz evidências do porquê de algumas modificações morfológicas existirem na espécie. Essas observações servirão de base para futuros estudos com essa e outras espécies do gênero *Megachile*.

CONCLUSÃO GERAL

Centris analis e *C. tarsata* são abelhas protândricas cujas fêmeas acasalam uma única vez. Em *C. analis* a pré-cópula, a pós-cópula e o contato genital duram mais que em *C. tarsata*. Infere-se que esses comportamentos diferenciados estão relacionados às respostas que as fêmeas apresentam, levando em consideração a teoria do conflito entre os sexos. No entanto, precisamos de estudos de manipulação para estabelecer relações de causalidade entre o comportamento dos dois sexos.

Em *Centris tarsata*, tanto o macho como a fêmea foram indiferentes ao par originário do mesmo ninho. Em *C. analis*, as fêmeas apresentaram comportamento de evitação do macho originário de mesmo ninho (provavelmente irmão), não copulando com eles. Ambos os comportamentos podem implicar em consequências populacionais perigosas em ambientes de perda de habitat, onde haveria redução do fluxo gênico entre as populações dessas espécies.

Apesar das diferenças entre o comportamento de cópula das duas espécies, os eventos de pré-cópula tiveram um efeito positivo no desfecho “ocorrência de cópula”. Experimentos de manipulação desses eventos podem estabelecer relações de causalidade entre tais eventos e a ocorrência de cópula nas espécies em tela.

Megachile microsoma é uma espécie protândrica que realiza uma cópula rápida e mais movimentada, se comparada com as espécies de *Centris* mencionadas anteriormente. O macho prende-se a fêmea através da região do hipostoma, bem como da base das asas e do metassoma. Durante a cópula, o macho levanta o metassoma da fêmea deixando o corpo dela em forma de “U”, realizando assim o contato genital. Algumas características morfológicas do macho e da fêmea permitem que as posições aconteçam, e de acordo com as observações feitas nessa espécie, podemos observar quais funções essas peculiaridades morfológicas possuem durante a reprodução dessa espécie.

Observou-se também que nessa espécie, machos e fêmeas do mesmo ninho são capazes de copular. No entanto, mais cópulas dessa espécie devem ser observadas para afirmarmos se a espécie evita ou não a endogamia, ou se esta foi apenas um artefato do experimento ter acontecido com casais em confinamento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alcock, H.N., Barrows, E.M., Gordh, S.A.G., Hubbard', L.J., Kirkendall, L., Pyle³, D.W., Ponder⁴, T.L. & Zalom⁵, F.G. (1978) *The ecology and evolution of male reproductive behaviour in the bees and wasps*.
- Alcock, J. (1980) Natural selection and the mating systems of solitary bees. *American Scientist*, 68 (2), 146–153.
- Alcock, J. (2013a) Sexual selection and the mating behavior of solitary bees. *In: Advances in the Study of Behavior*. Vol.45 Academic Press Inc., pp. 1–48.
- Alcock, J. (2013b) Sexual selection and the mating behavior of solitary bees. *In: Advances in the Study of Behavior*. Vol.45 Academic Press Inc., pp. 1–48.
- Alcock, J., Eickwort, G.C. & Eickwort, K.R. (1977a) 2 Behav. Ecol. Sociobiol *Behavioral Ecology and Sociobiology The Reproductive Behavior of Anthidium maculosum (Hymenoptera: Megachilidae) and the Evolutionary Significance of Multiple Copulations by Females*.
- Alcock, J., Eickwort, G.C. & Eickwort, K.R. (1977b) The reproductive behavior of *Anthidium maculosum* (Hymenoptera: Megachilidae) and the evolutionary significance of multiple copulations by females. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 385–396.
- Alcock, J., Jones, C.E. & Buchmann, S.L. (1976) Location before emergence of the female bee, *Centris pallida*, by its male (Hymenoptera: Anthophoridae). *Journal of Zoology*, 179 (2), 189–199.
- Alcock, J., Jones, C.E. & Buchmann, S.L. (1977c) 111 No. 977 Amer. Natur *MALE MATING STRATEGIES IN THE BEE CENTRIS PALLIDA FOX (ANTHOPHORIDAE: HYMENOPTERA)*.
- Alcock, J., Jones, C.E. & Buchmann, S.L. 111 Source: The American Naturalist *Male Mating Strategies in the Bee Centris pallida Fox (Anthophoridae: Hymenoptera)*.
- Alexander, R.D., Marshall, D.C. & Cooley, J.R. (1997) Evolutionary perspectives on insect mating. *The evolution of mating systems in insects and arachnids*, 4–31.
- Andersson, M. (1994) 72 *Sexual selection*. Princeton University Press.

- Antoine, C.M. & Forrest, J.R.K. (2021) Nesting habitat of ground-nesting bees: a review. *Ecological Entomology*, 46 (2), 143–159.
- Barrows, E.M. (1975) Occupancy by *Hylaeus* of subterranean halictid nests (Hymenoptera: Apoidea). *Psyche*, (1580), 74–78.
- Bates, D., Mächler, M., Bolker, B. & Walker, S. (2015) Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software*, 67 (1), 1–48.
<https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01>
- Batra, S.W.T. (1978) 51 Source: Journal of the Kansas Entomological Society *Aggression, Territoriality, Mating and Nest Aggregation of Some Solitary Bees (Hymenoptera: Halictidae, Megachilidae, Colletidae, Anthophoridae)*.
- Batra, S.W.T. (1984) Solitary bees. *Scientific American*, 250 (2), 120–127.
- Bembé, B. (2004) Functional morphology in male euglossine bees and their ability to spray fragrances (Hymenoptera, Apidae, Euglossini). *Apidologie*, 35 (3), 283–291.
- Boff, S. (2022) Mating behaviour of the large-head resin bee *Heriades truncorum* (Megachilidae: Osminii) suggests female plastic strategy in selection of a mating partner and male quality assessment. *Apidologie*, 53 (1).
<https://doi.org/10.1007/s13592-022-00916-7>
- Costa, C.C.F. da & Gonçalves, R.B. (2019a) What do we know about Neotropical trap-nesting bees? Synopsis about their nest biology and taxonomy. *Papéis Avulsos de Zoologia*, 59, e20195926.
- Costa, C.C.F. & Gonçalves, R.B. (2019b) What do we know about neotropical trap-nesting bees? Synopsis about their nest biology and taxonomy. *Papeis Avulsos de Zoologia*, 59.
<https://doi.org/10.11606/1807-0205/2019.59.26>
- Daly, M. (1978) The Cost of Mating. Source: *The American Naturalist*, 112 (986), 39.
- Danforth, B., Minckley, R. & Neff, J. (2019a) *The solitary bees: biology, evolution, conservation*. Princeton University Press, New Jersey, 1–503 pp.
- Danforth, B.N., Minckley, R.L., Neff, J.L. & Fawcett, F. (2019b) *The Solitary Bees: Biology, Evolution, Conservation* Princeton, NJ: Princeton Univ. Press

comprehensive, thoughtful, and readable synthesis of all that is known about solitary bees.

Darwin, C. (1859) On the origins of species by means of natural selection. *London: Murray*, 247, 1859.

Darwin, C. (1868) *Variation of plants and animals under domestication*. MobileReference.

Darwin, C. (1872) 2 *The descent of man, and selection in relation to sex*. D. Appleton.

Dec, E. & Vivallo, F. (2019) Nesting biology and immature stages of the oil-collecting bee *Epicharis dejeanii* (Apidae: Centridini). *Apidologie*, 50 (5), 606–615.

<https://doi.org/10.1007/s13592-019-00673-0>

Dec, E. & Vivallo, F. (2020) Reproductive behavior of the oil-collecting bee *Epicharis dejeanii* (Apidae: Centridini). *APIDOLOGIE*.

<https://doi.org/10.1007/s13592-020-00825-7>

Dec, E. & Vivallo, F. (2021) Reproductive behavior of the oil-collecting bee *Epicharis dejeanii* (Apidae: Centridini). *Apidologie*, 52 (2), 358–366.

<https://doi.org/10.1007/s13592-020-00825-7>

Del-Claro, Kleber. (2004) *Comportamento animal: uma introdução à ecologia comportamental*. Livraria Conceito, 132 pp.

Drumond, P.M., Morato, E.F. & Azevedo, G.G. (2023) Uso de ninhos-armadilha no manejo e conservação de abelhas *Centris Fabricius, 1804* (Apidae, Centridini). In: Resende, H. C. & Werneck, H. de A. (Eds), *Estudos sobre abelhas e vespas brasileiras: uma homenagem ao Professor Lucio Campos*. Universidade Federal de Viçosa, Florestal, Minas Gerais, pp. 1–264.

Eberhard, W.G. (1985) *Sexual selection and animal genitalia*. Harvard University Press.

Eberhard, W.G. (1996) 17 *Female Control: Sexual Selection by Cryptic Female Choice*. Princeton University Press.

Eberhard, W.G. (2021) Relation between sexual allometry and function in the sawfly *Leseha vespa* (Hymenoptera Tenthredinidae). *ETHOLOGY ECOLOGY & EVOLUTION*, 33 (1), 1–14.

<https://doi.org/10.1080/03949370.2020.1777209>

- Eltz, T., Sager, A. & Lunau, K. (2005) Juggling with volatiles: exposure of perfumes by displaying male orchid bees. *Journal of Comparative Physiology A*, 191, 575–581.
- Emlen, S.T. & Oring, L.W. (1977) 197 *SCIENCE Ecology, Sexual Selection, and the Evolution of Mating Systems*.
- Freitas, B.M. (1997) Number and distribution of cashew (*Anacardium occidentale*) pollen grains on the bodies of its pollinators, *Apis mellifera* and *Centris tarsata*. *Journal of Apicultural Research*, 36 (1), 15–22.
- <https://doi.org/10.1080/00218839.1997.11100926>
- Ganuza, C., Ayasse, M. & Boff, S. (2022) Chemical and Mechanical Signals Trigger Courtship in the Wild Large-Headed Resin Bee *Heriades truncorum*. *Journal of Insect Behavior*, 35 (5–6), 160–170.
- <https://doi.org/10.1007/s10905-022-09808-1>
- Gerber, H.S. & Klostermeyer, E.C. (1970) Sex control by bees: A voluntary act of egg fertilization during oviposition. *Science*, 167 (3914), 82–84.
- <https://doi.org/10.1126/science.167.3914.82>
- Gerling, D. & Hermann, H.R. (1978) Biology and mating behavior of *Xylocopa virginica* L.(Hymenoptera, Anthophoridae). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 3, 99–111.
- Gohel, D. & Skintzos, P. (2024) flextable: Functions for Tabular Reporting.
- Gross, C. & Ottolinger, P. (2016) ggThemeAssist: Add-in to Customize ‘ggplot2’ Themes.
- Jackman, S. (2024) pscl: Classes and Methods for R Developed in the Political Science Computational Laboratory.
- Kassambara, A. (2023) ggpubr: ‘ggplot2’ Based Publication Ready Plots.
- Krombein, K. V (1967) Trap-nesting wasps and bees: life histories. *Nests, and Associates*, 584.
- Kuznetsova, A., Brockhoff, P.B. & Christensen, R.H.B. (2017) lmerTest Package: Tests in Linear Mixed Effects Models. *Journal of Statistical Software*, 82 (13), 1–26.
- <https://doi.org/10.18637/jss.v082.i13>

- Lampert, K.P., Pasternak, V., Brand, P., Tollrian, R., Leese, F. & Eltz, T. (2014) 'Late' male sperm precedence in polyandrous wool-carder bees and the evolution of male resource defence in Hymenoptera. *Animal Behaviour*, 90, 211–217.
- Leys, R. & Hogendoorn, K. (2008) Correlated evolution of mating behaviour and morphology in large carpenter bees (Xylocopa). *Apidologie*, 39 (1), 119–132.
<https://doi.org/10.1051/apido:2007044>
- Lüdecke, D., Ben-Shachar, M.S., Patil, I., Waggoner, P. & Makowski, D. (2021) performance: An R Package for Assessment, Comparison and Testing of Statistical Models. *Journal of Open Source Software*, 6 (60), 3139.
<https://doi.org/10.21105/joss.03139>
- MacIvor, J.S. (2017) Cavity-nest boxes for solitary bees: a century of design and research. *Apidologie*, 48 (3), 311–327.
- Marshall, L.D. & Alcock, J. (1981) 193 J. Zool *The evolution of the mating system of the Carpenter bee Xylocopa varipuncta (Hymenoptera : Anthophoridae)*.
- McAuslane, H.J., Vinson, S.B. & Williams, H.J. (1990) Change in mandibular and mesosomal gland contents of male Xylocopa micans (Hymenoptera: Anthophoridae) associated with mating system. *Journal of Chemical Ecology*, 16, 1877–1885.
- Morato, E.F. & Martins, R.P. (2006) An overview of proximate factors affecting the nesting behavior of solitary wasps and bees (Hymenoptera: Aculeata) in preexisting cavities in wood. *Neotropical Entomology*, 35 (3), 285–298.
<https://doi.org/10.1590/S1519-566X2006000300001>
- O. Sabino, W., da Silva, C.I. & Alves-dos-Santos, I. (2017) Mating System and Sleeping Behaviour of the Male and Female Centris (Paracentris) burgdorfi Friese (Apidae, Centridini). *Journal of Insect Behavior*, 30 (1), 103–118.
<https://doi.org/10.1007/s10905-017-9600-x>
- Oksanen, J., Simpson, G.L., Blanchet, F.G., Kindt, R., Legendre, P., Minchin, P.R., O'Hara, R.B., Solymos, P., Stevens, M.H.H., Szoecs, E., Wagner, H., Barbour, M., Bedward, M., Bolker, B., Borcard, D., Carvalho, G., Chirico, M., De Caceres, M., Durand, S., Evangelista, H.B.A., FitzJohn, R., Friendly, M., Furneaux, B., Hannigan,

- G., Hill, M.O., Lahti, L., McGlinn, D., Ouellette, M.-H., Ribeiro Cunha, E., Smith, T., Stier, A., Ter Braak, C.J.F. & Weedon, J. (2024) vegan: Community Ecology Package.
- Oliveira, R. & Schlindwein, C. (2009) Searching for a manageable pollinator for acerola orchards: The solitary oil-collecting bee *Centris analis* (Hymenoptera: Apidae: Centridini). *Journal of Economic Entomology*, 102 (1), 265–273.
<https://doi.org/10.1603/029.102.0136>
- Orr, M.C., Jakob, M., Harmon-Threatt, A. & Mupepele, A.C. (2022) A review of global trends in the study types used to investigate bee nesting biology. *Basic and Applied Ecology*, 62, 12–21.
- Parker, G.A., Baker, R.R. & Smith, V.G.F. (1972) The origin and evolution of gamete dimorphism and the male-female phenomenon. *Journal of theoretical biology*, 36 (3), 529–553.
- Pike, V.L., Cornwallis, C.K. & Griffin, A.S. (2021) Why don't all animals avoid inbreeding? *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 288 (1956).
<https://doi.org/10.1098/rspb.2021.1045>
- Pina, W.C., Souza-Shibatta, L., Uemura, N., Gobatto, A.L., Freiria, G.A. & Sofia, S.H. (2022) Male strategies and mating behavior in the Neotropical bee *Epicharis* (*Anepicharis*) *dejeanii* (Apidae: Centridini). *Journal of Apicultural Research*, 61 (1), 138–146.
<https://doi.org/10.1080/00218839.2020.1733197>
- Pitts-Singer, T.L. & Cane, J.H. (2011) The alfalfa leafcutting bee, *megachile rotundata*: The world's most intensively managed solitary bee. *Annual Review of Entomology*, 56, 221–237.
<https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120709-144836>
- Ramírez, S., Dressler, R.L. & Ospina, M. (2002) Abejas euglosinas (Hymenoptera: Apidae) de la Región Neotropical: Listado de especies con notas sobre su biología. *Biota colombiana*, 3 (1), 7–118.

- Richardson, J. & Zuk, M. (2023) Unlike a virgin: a meta-analytical review of female mating status in studies of female mate choice. *Behavioral Ecology*, 34 (2), 165–182.
- Romani, R., Isidoro, N., Riolo, P. & Bin, F. (2003) Antennal glands in male bees: Structures for sexual communication by pheromones? *Apidologie*, 34 (6), 603–610.
<https://doi.org/10.1051/apido:2003053>
- Rossi, B.H., Nonacs, P. & Pitts-Singer, T.L. (2010) Sexual harassment by males reduces female fecundity in the alfalfa leafcutting bee, *Megachile rotundata*. *Animal Behaviour*, 79 (1), 165–171.
<https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2009.10.023>
- Rubenstein, D.R. & Alcock, J. (2018) *Animal Behavior: an evolutionary approach*. Sunderland, Massachusetts, 1–668 pp.
- Rutowski, R.L. & Alcock, J. (1980) Temporal Variation in Male Copulatory Behaviour in the Solitary Bee *Nomadopsis puellae* (Hymenoptera: Andrenidae). *Behaviour*, 175–188.
- Seidelmann, K. (1999a) The Race for Females: The Mating System of the Red Mason Bee, *Osmia rufa* (L.) (Hymenoptera: Megachilidae). *Journal of Insect Behavior*, 12 (1).
- Seidelmann, K. (1999b) 12 *Journal of Insect Behavior The Race for Females: The Mating System of the Red Mason Bee, Osmia rufa* (L.) (Hymenoptera: Megachilidae).
- Shuker, D.M. & Simmons, L.W. (2014) *The evolution of insect mating systems*. Oxford University Press.
- Silveira, F.A., Melo, G.A.R. & Almeida, E.A.B.. (2002) *Abelhas brasileiras : sistemática e identificação*. 1ª. [Fernando A. Silveira], Belo Horizonte, 253 pp.
- Sjoberg, D.D., Whiting, K., Curry, M., Lavery, J.A. & Larmanange, J. (2021) Reproducible Summary Tables with the gtsummary Package. *The R Journal*, 13 (1), 570–580.
<https://doi.org/10.32614/RJ-2021-053>
- Stubblefield, J.W., Seger, J., Short, R. V & Balaban, E. (1994) Sexual dimorphism in the Hymenoptera. *The differences between the sexes*, 71–103.

- Thornhill, R. & Alcock, J. (1983) The Evolution of Insect Mating Systems. *In*: Thornhill, R. & Alcock, J. (Eds), *The Evolution of Insect Mating Systems*. Harvard University Press, pp. 473–524.
- Venables, W.N. & Ripley, B.D. (2002) *Modern Applied Statistics with S*. Fourth. Springer, New York.
- Available from: <https://www.stats.ox.ac.uk/pub/MASS4/>
- Vivallo, F. (2021) Nesting behavior of the oil-collecting bee *Epicharis* (*Triepicharis*) *analis* Lepeletier (Hymenoptera: Apidae) in an urban area of Rio de Janeiro, RJ, Brazil. *Journal of Apicultural Research*, 60 (1), 135–142.
- <https://doi.org/10.1080/00218839.2020.1820150>
- Wickham, H. (2016) *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag New York.
- Available from: <https://ggplot2.tidyverse.org>
- Wickham, H., François, R., Henry, L., Müller, K. & Vaughan, D. (2023) *dplyr: A Grammar of Data Manipulation*.
- Wilke, C.O. & Wiernik, B.M. (2022) *ggtext: Improved Text Rendering Support for ‘ggplot2’*.
- Wittmann, D. & Blochtein, B. (1995) Why males of leafcutter bees hold the females' antennae with their front legs during mating. *Apidologie*, 181–195.
- Wittmann, D., Schindler, M., Blochtein, B. & Barouz, D. (2004) *Mating in Bees: How Males Hug their Mates*.
- Zucchi, R., Sakagami, S.F. & de Camargo, J.M.F. (1969) Biological Observations on a Neotropical Parasocial Bee, *Eulaema nigrita*, with a Review on the Biology of Euglossinae (Hymenoptera, Apidae).: A Comparative Study (With 21 Text-figures, 2 Plates and 9 Tables). 北海道大學理學部紀要, 17 (2), 271–380.