



A QUÍMICA DOS MACHOS DE *TETRAGONISCA ANGUSTULA* (APIDAE: MELIPONINI) EM UM AGLOMERADO

C. F. Santos¹

F. D. S. Araújo²; A. J. Marsaioli²; V. L. Imperatriz - Fonseca¹

1. Universidade de São Paulo, Instituto de Biociências, Laboratório de Abelhas, Rua do Matão, Travessa 14 n^o 321, Cidade Universitária, 05508 - 900, São Paulo, Brasil. Telefone: (11) 30917533 - chasantos@usp.br

2. Universidade de Campinas, Instituto de Química, Cidade Universitária Zeferino Vaz, 13084 - 971, Campinas, São Paulo, Brasil.

INTRODUÇÃO

Os machos de abelhas sem ferrão (Hymenoptera: Apidae: Meliponini) praticamente não realizam tarefas dentro de suas colônias, são indivíduos custosos e praticamente inoperantes (18), sem tarefas específicas (3). Ao atingirem a fase adulta eles abandonam seus ninhos ou são expulsos pelas operárias e não mais retornam para suas colônias (13; 3). Seu principal papel, porém, é o de fecundar suas rainhas virgens (17; 18).

Acredita-se que quando uma rainha virgem está atrativa ela exala feromônios sexuais que atraem os machos para o voo nupcial. Nessa situação, muitos machos se aglomeram próximos das colônias onde haverá a substituição de rainhas ou em ninhos que estão sendo fundados pelas operárias (enxameagem) (8; 13; 17). Entretanto, López & Kraus (7) apresentam indícios de que os machos podem não ser atraídos especificamente pela presença de rainhas virgens dentro das colônias, mas sim pelo odor exalado por outros machos conspecíficos.

Poucos são os trabalhos realizados sobre os compostos químicos de machos em abelhas sem ferrão (3; 12), sendo tais compostos melhor conhecidos em machos de outros grupos de abelhas (1). Em fêmeas de Meliponini, por exemplo, as análises químicas de suas rainhas e operárias têm recebido mais atenção, devido às complexas interações que envolvem estas duas castas (3; 5; 10; 4).

Desse modo, os constituintes químicos dos machos, embora possam desempenhar também papéis fundamentais no comportamento reprodutivo em Meliponini, têm sido minimamente estudados. Por exemplo, López & Kraus (7) sugerem que os odores liberados pelos machos sirvam para atrair indivíduos conspecíficos. Ayasse *et al.*, (1) afirmam que essa é uma das principais funções dos compostos químicos liberados por machos de outros grupos de abelhas, além disso, tais compostos podem atuar na marcação de territórios, defesa e atrativo sexual. Ainda, segundo Ayasse *et al.*, (1), as glândulas mandibulares, labiais e tibiais dos machos são

os órgãos mais comumente relacionados à produção e armazenamento de feromônios sexuais.

Uma das abelhas sem ferrão mais conhecida é a *Tetragonisca angustula*, popularmente jataí. Dados sobre os machos dessa espécie são escassos, sendo registradas apenas referências aos eventos de aglomerados (6; 9). Em relação às análises químicas em *T. angustula*, temos somente aquelas realizadas em glândulas cefálicas de operárias forrageiras (5). A fim de contribuir com o estudo químico em abelhas sem ferrão, especificamente machos, esse estudo visou analisar os compostos químicos desses indivíduos presentes em um aglomerado. Essa análise permitirá identificar quais compostos estão envolvidos durante esse evento reprodutivo e, futuramente, a função deles na interação macho - fêmea.

OBJETIVOS

Identificar os compostos químicos de machos de *Tetragonisca angustula* (Meliponini) presentes em aglomerados reprodutivos.

MATERIAL E MÉTODOS

Os machos foram coletados em um aglomerado de um ninho natural de *T. angustula* presente em uma das colunas de tijolos do Museu do Café na Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto/ USP. O ninho estava a 1,5 m do chão, rodeado por grama e trepadeira e, a aproximadamente 6 metros dele, um outro ninho de *T. angustula* estava presente, porém, em nenhum dia foi registrado machos aglomerados. Segundo informações dos funcionários do museu, esses ninhos já estavam presentes ali há alguns anos, portanto, acreditamos que estava ocorrendo uma substituição da rainha fisogástrica por uma virgem no ninho com machos aglomerados. Durante o período de observação, 10:00 às 18:00 de 07/02/2009 a 16/02/2009, eventualmente leques

“satélites” se formavam a 1 - 2 metros da entrada do ninho, ora do lado esquerdo ora do lado direito.

No dia 16/02/2009 os machos foram coletados para análise química. Para obtenção dos compostos voláteis, os machos foram dissecados em três porções: cabeça, abdome e três pares de pernas. Dessas porções foram feitos extratos por meio de maceração de cada uma das partes com 10 μ L de acetato de etila bidestilado. Os extratos obtidos foram analisados por CG - EM.

As análises de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG - EM) foram realizadas em cromatógrafo a gás Agilent 6890, acoplado a um detector de massas Hewlett - Packard 5973 operando por impacto de elétrons a 70 eV. O cromatógrafo operava com coluna do tipo DB - 5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m), usando hélio como gás de arraste (fluxo de 1 mL/min), com injetor operando a 250 °C e interface a 280 °C. As amostras injetadas no modo *splitless* (1 μ L) em acetato de etila. A detecção por varredura de íons permaneceu, em todas as análises, no intervalo m/z 40-550 (2,89 scans/s). Programação de temperatura utilizada: forno com temperatura inicial de 50 °C com incremento de temperatura de 12 °C/min até 290 °C e 20 minutos isotermicamente à 290 °C.

RESULTADOS

Os extratos dos machos de *T. angustula* foram representados por nove (9) compostos químicos identificados em cada uma das partes (cabeça, abdome e pernas). Os compostos foram assim representados, com abundância relativa em porcentagem:

Ácido tetradecanóico-cabeça (3,38%), abdome (traços) e pernas (traços); ácido hexadecanóico -cabeça (1,88%), abdome (traços) e pernas (traços); octadecenoato de etila-cabeça (4,84%), abdome (5,98%) e pernas (4,18%); octadecatrienoato de etila-cabeça (5,98%), abdome (3,42%) e pernas (2,66%); pentacosano-cabeça (41,01%), abdome (27,76%) e pernas (36,15%); hexacosano-cabeça (traços), abdome (traços) e pernas (1,64%); heptacosano-cabeça (21,10%), abdome (20,49%) e pernas (25,70%); nonacosano-cabeça (5,53%), abdome (4,52%) e pernas (7,14%); hentriacontano-cabeça (2,66%), abdome (1,99%) e pernas (3,90%); desconhecidos-cabeça (13,61%), abdome (35,86%) e pernas (18,62%); Totalizando 100 % em cada porção corporal.

Os principais compostos identificados nas três partes corporais (cabeça, abdome e pernas) dos machos de *T. angustula* presentes em aglomerado foram os hidrocarbonos, pentacosano (41,01%; 27,76%; 36,15%) e heptacosano (21,10%; 20,49%; 25,70%), respectivamente. Não podemos afirmar, todavia, em que proporções tais componentes estão representadas nas glândulas ou nas ceras cuticulares desses indivíduos. Em um estudo sobre os hidrocarbonos cuticulares de machos e fêmeas de *Melipona scutellaris* (Meliponini), Kerr *et al.*, (2004) constataram que ambos os sexos possuíam esses dois compostos bem representados, mas que, em relação à quantidade de heptacosano, operárias e machos podiam ser diferenciados quimicamente de suas rainhas. Flach *et al.*, (4) registraram quantidade considerável

desses dois compostos em ceras cuticulares de rainhas virgens de *Scaptotrigona* sp. (Meliponini), assim como de flores de *Mormolyca ringens* (Orchidaceae), as quais mimetizam os feromônios sexuais das rainhas de *Scaptotrigona* sp..

Estudos realizados com machos de várias espécies de *Bombus* (Apidae: Bombini) tem revelado que suas glândulas cefálicas (labiais) possuem baixa quantidade (<2 - 5%) de pentacosano e heptacosano (15; 14; 16; 2). As secreções de tais glândulas, de acordo com os autores aqui mencionados, podem atuar na marcação de territórios ou em interações macho - fêmea nesse gênero. Já, em glândulas cefálicas de operárias de *T. angustula*, espécie em estudo, Francke *et al.*, (5) encontraram 36 componentes, sendo o éster tetradecil butirato e os ácidos linoléico, oléico, octadecanóico e hexadecanóico, os principais compostos. Os ácidos hexadecanóico e tetradecanóico foram registrados em glândulas cefálicas de outras operárias de abelhas sem ferrão analisadas por Francke *et al.*, (5). Nos machos de *T. angustula* aqui analisados, tais ácidos - hexadecanóico (1,88%) e tetradecanóico (3,38%) - foram representados praticamente apenas na porção cefálica, sendo que nas porções corporais restantes (abdome e pernas) apenas traços foram encontrados. A porcentagem de tais ácidos, aqui observada, difere de outras encontradas em glândulas labiais de, pelo menos, 5 espécies de *Bombus* (<0,1%) (15, 14; 2).

Hentriacontano, outro hidrocarbono identificado em nosso estudo, representou 1,99 a 3,90% dos extratos corporais dos machos de *T. angustula*. Pianaro (11) observou que apenas os machos de *Plebeia droryana* (Meliponini) possuíam este composto (0,27% no abdome), porém, Flach *et al.*, (4), o constataram em rainhas virgens de *Scaptotrigona* sp. (1,20%); em *Psithyrus rupestris* (Bombini), Urbanová *et al.*, (15) encontraram 0,5% desse composto nas glândulas labiais dos machos.

O estudo químico de machos é interessante porque pode responder algumas questões ainda não muito bem esclarecidas. Por exemplo, há um consenso de que o aglomerado de machos em abelhas sem ferrão é formado devido aos feromônios exalados pelas rainhas virgens (13; 17). Porém, López & Kraus (7) tem sugerido que, pelo menos em *Scaptotrigona mexicana* (Meliponini), tais agregações são resultado de uma possível marcação feromonal deliberado por um ou poucos machos em uma localidade específica. Segundo esses autores inclusive, em um bioensaio, os machos foram significativamente atraídos para odores de outros machos conspecíficos do que em relação ao controle.

Os compostos químicos dos machos de *T. angustula* coletados em aglomerado no presente trabalho servirão, portanto, de base para estudos comparativos com outros indivíduos conspecíficos, não maduros sexualmente, além de machos de outras espécies de abelhas sem ferrão. Com isso, espera-se conhecer quais compostos estão presentes em machos de diferentes *status* reprodutivos e quais as funções biológicas que os mesmos desempenham em diferentes situações de seu ciclo de vida.

CONCLUSÃO

O presente trabalho identificou os compostos químicos de

machos de *T. angustula* (Meliponini) em um aglomerado, revelando compostos comuns com outros machos de abelhas sem ferrão ou nem tão intimamente relacionados a eles, Bombini, por exemplo. As análises químicas de machos sexualmente maduros e imaturos de outras espécies de Meliponini e testes de bioensaios poderão elucidar o papel biológico dos compostos químicos aqui identificados e seu uso pelos indivíduos envolvidos em tais aglomerados. (CAPES, CNPQ e FAPESP - Projeto Biota)

REFERÊNCIAS

1. Ayasse, M. Paxton, R.J., Tengo, J. Mating behavior and chemical communication in the order Hymenoptera. *Annu. Rev. Entomol.*, 46: 31 - 78, 2001.
2. Bertsch, A.; Schweer, H., Titze, A. Chemistry of the cephalic labial gland secretions of male *Bombus morrisoni* and *B. rufocinctus*, two North American bumblebee males with perching behavior. *J. Chem. Ecol.*, 34: 1268 - 1274, 2008.
3. Engels, W.; Engels, E., Francke, W. Ontogeny of cephalic patterns in queens and mating biology of the neotropical stingless bee, *Scaptotrigona postica*. *Invertebr. Reprod. Developm.*, 30: 251 - 256, 1997.
4. Flach, A.; Marsaioli, A.J. Singer, R.B.; Amaral, M.C.E.; Menezes, C.; Kerr, W.E.; Batista - Pereira, L.G., Correa, A.G. Pollination by sexual mimicry in *Mormolyca ringens*: a floral chemistry that remarkably matches the pheromones of virgin queens of *Scaptotrigona* sp.. *J. Chem. Ecol.*, 32: 59 - 70, 2006.
5. Francke, W.; Lübke, G.; Schröder, W.; Reckziegel, A.; Imperatriz - Fonseca, V.; Kleinert, A.; Engels, E.; Hartfelder, K.; Radtked, R., Engels W. identification of oxygen containing volatiles in cephalic secretions of workers of brazilian stingless bees. *J. Braz. Chem. Soc.*, 11: 562 - 571, 2000.
6. Imperatriz - Fonseca, V.L.; Matos, E.T.; Ferreira, F., Velthuis, H.H.W. A case of multiple mating in stingless bees (Meliponinae). *Insectes Soc.*, 45: 231 - 233, 1998.
7. López, J.C.G., Kraus, F.B. Cherchez la femme? Site choice of drone congregations in the stingless bee *Scaptotrigona mexicana*. *Anim. Behav.*, 77: 1247 - 1252, 2009.
8. Nogueira - Neto, P. Notas bionômicas sobre Meliponíneos. III. Sobre a enxameagem. *Arqu. Museu Nac.*, 42: 419 - 451, 1954.
9. Nogueira - Ferreira, F.H., Soares, A.E.E. Male aggregations and mating flight in *Tetragonisca angustula* (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). *Iheringia*, 84: 141 - 144, 1998.
10. Patrício, E.F.L.R.A.; López, L.C.; Maile, R., Morgan, E.D. Secretions of stingless bees: the Dufour glands of some *Frieseomelitta* species (Apidae, Meliponinae). *Apidologie*, 34: 359 - 365, 2003.
11. Pianaro, A. Ecologia química de abelhas brasileiras: *Melipona rufiventris*, *Melipona scutellaris*, *Plebeia droryana*, *Nannotrigona testaceicornis*, *Tetragonisca angustula* e *Centris trigonoides*. Instituto de Química, Campinas, SP, UNICAMP. 2007, 132 p.
12. Pianaro, A.; Menezes, C.; Singer, R.B., Marsaioli, A.J. Diferenciação química de operárias e machos de *Nannotrigona testaceicornis* Lepelletier e *Plebeia droryana* Friese (Apidae: Meliponinae). Anais do VII Encontro sobre Abelhas, Ribeirão Preto, SP. 2006.
13. Roubik, D.W. Mate location and mate competition in males of stingless bees (Hymenoptera: Apidae: Meliponinae). *Entomol. Gener.*, 15: 115 - 120, 1990.
14. Terzo, M.; Urbanová, K.; Valterova, I., Rasmont, P. Intra and interspecific variability of the cephalic labial glands' secretions in male bumblebees: the case of *Bombus (Thoracobombus) ruderarius* and *B. (Thoracobombus) sylvarum* [Hymenoptera, Apidae]. *Apidologie*, 36: 85 - 96, 2005.
15. Urbanová, K.; Hahk, J.; Hovorka, O.; Kindl, J., Valterova, I. Marking pheromones of the cuckoo bumblebee males (Hymenoptera, Apoidea, *Bombus* Latreille): compositions of labial gland secretions of six species found in the Czech Republic. *Biochem. Syst. Ecol.*, 32: 1025 - 1045, 2004.
16. Valterová, I.; Kunze, J.; Gumbert, A. Luxova', A.; Liblikas, I.; Kalinova', B., Borg - Karlson, A - B. Male bumble bee pheromonal components in the scent of deceit pollinated orchids; unrecognized pollinator cues? *Arthrop. Plant Inter.*, 1: 137 - 145, 2007.
17. van Veen, J. W., Sommeijer, M.J. Observations on gynes and drones around nuptial flights in the stingless bees *Tetragonisca angustula* and *Melipona beecheii* (Hymenoptera, Apidae). *Apidologie*, 31: 47 - 54, 2000.
18. Velthuis, H.H. W.; Koedam, D., Imperatriz - Fonseca, V.L. The males of *Melipona* and other stingless bees, and their mothers. *Apidologie*, 36: 169 - 185, 2005.