

POR QUE MACHOS DE ABELHAS *EULAEMA NIGRITA* (HYMENOPTERA: EUGLOSSINI) COLETAM O MESÓFILO DE FOLHAS DE *GUAREA GUIDONIA* (MELIACEAE)?

MAURO RAMALHO^{1*}, MAISE SILVA^{1,2}, MARÍLIA D. SILVA¹, JAQUELINE F. ROSA^{1,3} & MARIANA L. SILVA BATISTA^{1,4}

¹Instituto de Biologia, Universidade Federal da Bahia

²Doutoranda em Zoologia da Universidade Federal da Paraíba, pesquisadora do IB-UFBA

^{1,3}Bolsista PIBIC-FAPESB

^{1,4}Bolsista PIBIC-CNPq

*Author for correspondence: Instituto de Biologia, Universidade Federal da Bahia
Rua Barão de Geremoabo, s/n, 40170-290, Salvador, Bahia, Brasil (ramauro@ufba.br)

(Por que machos de abelhas *Eulaema nigrita* (Hymenoptera: Euglossini) coletam o mesófilo de folhas de *Guarea guidonia* (Meliaceae)?) – Machos de Euglossini particularizam-se pela coleta de substâncias aromáticas, provavelmente usadas na síntese de feromônios sexuais. Neste estudo relata-se, pela primeira vez, abelhas *Eulaema nigrita* (Euglossini) coletando mesófilo foliar de *Guarea guidonia*. As observações feitas na Costa Atlântica do Brasil, foram norteadas pelas seguintes questões: 1) Machos de *Eulaema nigrita* estavam extraindo compostos aromáticos das folhas de *G. guidonia*? 2) Que substâncias poderiam atraí-los? 3) Por que se concentravam em um único espécime, se existiam vários nas proximidades? Dados publicados confirmaram que as folhas de *G. guidonia* produzem sesquiterpenos, um dos químicos mais procurados nas flores por Euglossini. Durante o forrageio, os machos raspavam com as mandíbulas o mesófilo foliar deixando apenas as nervuras intactas. Agregavam-se num mesmo indivíduo e, freqüentemente, nas mesmas folhas, apesar da agressividade mútua. Esse padrão de forrageio sugere que os machos se beneficiam de defesas induzidas: secreção de toxinas (sesquiterpenos) estimulada pelos danos ao mesófilo.

Palavras-chave: Euglossini, sesquiterpeno, defesa induzida.

(Why do the males of *Eulaema nigrita* (Hymenoptera: Euglossini) harvest the mesophyll from leaves of *Guarea guidonia* (Meliaceae)?) – Males of Euglossini bees harvest aromatic compounds to synthesize sexual pheromones. This work describes the euglossine *Eulaema nigrita* harvesting mesophyll from leaves of *Guarea guidonia* for the first time. Observations were made at the Northern Atlantic Coast of Brazil and the following questions were analyzed: 1) Are the males extracting aromatic compounds from the leaves of *G. guidonia*? 2) If so, what are the aromatic compounds attracting the males? 3) Why do males harvest on the same plant specimens and ignore other in the surroundings? Published data confirm that the leaves of *G. guidonia* produce sesquiterpenes, which are the most exploited floral aromas by Euglossine. During harvest, males scrape mesophyll with their mandibles leaving intact the leaves nervure. They often aggregate on the same plant showing antagonistic interactions. This foraging pattern suggests that males benefit from inducible plant defenses, that is, the positive feedback on the synthesis of sesquiterpene.

Key words: Euglossini, sesquiterpene, inducible defense.

INTRODUÇÃO

Por volta de 1960, Vogel descobriu que machos de abelhas Euglossini da região Neotropical coletavam essências florais que serviam como prováveis precursores na síntese de feromônios, para atração de parceiros sexuais (VOGEL, 1960, 1963; DODSON *et al.*, 1969; WILLIAMS & WHITTHEN, 1983). Essas substâncias aromáticas são principalmente monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanos, obtidas nas flores de poucas famílias vegetais, com destaque para: Euphorbiaceae, Araceae, Orquidaceae, Gesneriaceae e Solanaceae (OLIVEIRA & CAMPOS, 1995). Os compostos são extraídos das pétalas ou das estruturas férteis das flores, inclusive do pólen (ENDRESS, 1994). Mais raramente, os machos de Euglossini foram observados explorando outras fontes de essências aromáticas, tais como materiais em decomposição na serrapilheira e fungos (ROUBIK, 1989; PERUQUETTI *et al.*, 1999) e até mesmo da tibia de outros machos recém-mortos (ROUBIK, 1998).

Em inventários extensivos de abelhas nas flores,

é mais comum se capturar fêmeas de Euglossini à procura de néctar e pólen para provisão de células de cria (ACKERMAN, 1983; OLIVEIRA & CAMPOS, 1996). Estudos baseados em ninhos armadilhas (PEREIRA-MARTINS & KERR, 1991; SANTOS & GARÓFALO, 1994) têm contribuído com informações relevantes sobre a biologia reprodutiva das fêmeas e sociabilidade em Euglossini, mas pouco se sabe sobre a biologia dos machos: porquê abandonam o ninho logo após a fase de pupa (PEREIRA-MARTINS & KERR, 1991) e são pouco comuns nas flores.

Eulaema nigrita (Lepelletier, 1841) apresenta ampla distribuição na América, desde a Costa Rica até o Rio Grande do Sul, no Brasil (MOURE, 1950; WITTMANN *et al.*, 1987). Em amostragens com ninhos armadilhas em ecossistemas brasileiros, esta espécie aparece como uma das mais freqüentes e abundantes (NEVES & VIANA, 1997; GARÓFALO, 2000; JESUS & GARÓFALO, 2000; BEZERRA & MARTINS, 2001; SUZUKI *et al.*, 2002). Também é abundante em pequenos fragmentos florestais de Mata Atlântica nos arredores de Salvador (Tatiany Oliveira, inf. pessoal), área de abrangên-

cia deste estudo.

Neste estudo, relata-se a coleta de mesófilo foliar de *Guarea guidonia* (L.) Sleumer (Meliaceae) por machos de *Eulaema nigrata* (Euglossini) a partir de observações em condições naturais. Foram analisadas as seguintes questões: 1) Os machos de *Eulaema nigrata* estariam extraindo compostos aromáticos das folhas de *G. guidonia*? 2) Que substâncias presentes nas folhas poderiam estar atraindo essas abelhas? 3) Por que os machos concentravam a atividade em um único espécime desta planta, se haviam vários nas proximidades?

A partir da consulta aos dados publicados foram avaliadas as premissas de que as folhas de *G. guidonia* são fonte de compostos aromáticos para *E. nigrata* e, secundariamente, a produção desses compostos resulta de resposta induzida pela herbivoria. Por fim, propõe-se a hipótese de causalidade entre o uso de folhas como fontes de compostos aromáticos e a ampla distribuição geográfica e ecológica de *E. nigrata* nos Neotrópicos.

METODOLOGIA

As observações foram feitas no Campus da Universidade Federal da Bahia, em Salvador, Bahia (12°58'59"S, 38°31'19"W). Com 57ha e cerca de 50m de altitude, o Campus está situado a menos de 1km da orla marítima. Contêm bosques alterados com remanescentes de Mata Atlântica e jardins com espécies nativas e ruderais. O clima é tropical quente úmido, com temperatura média anual em torno 25,3°C, média pluviométrica de 1.902mm e umidade relativa média igual a 85% (UFBA, 2000).

Durante cinco dias consecutivos (24 a 28/11/05), os machos de *Eulaema nigrata* foram observados coletando nas folhas de um espécime de *Guarea guidonia*, em um dos bosques locais de Mata Atlântica. O comportamento foi analisado em campo e com auxílio de fotos e filmagem, registrando-se o tempo de raspagem do mesófilo, vôos entre folhas e interações antagônicas. Durante esse período, alguns machos foram capturados e sacrificados para análise e confirmação da espécie, sendo depositados na coleção do Laboratório de Ecologia da Polinização (ECOPOL/UFBA). Ramos da parte vegetativa do espécime de *G. guidonia* foram herborizados e identificados pela prof.^a MsC. Maria Lenise Silva Guedes, curadora do Herbário Alexandre Leal Costa (HALCB/UFBA), onde a exsicata foi depositada.

RESULTADOS

Os machos de *Eulaema nigrata* sobrevoavam o espécime de *Guarea guidonia* e pousavam preferencialmente sobre folhas com sinais de danos foliares prévios ou que já estavam sendo exploradas por outros indivíduos. De maneira geral, a exploração de uma folha iniciava-se pelo ápice do limbo, na parte lateral. Algumas folhas eram mordidas e abandonadas, talvez porque não apresentassem recompensas adequadas ou porque os machos aguardassem resposta induzida pela herbivoria. As folhas escolhidas tinham

a maior parte ou a totalidade de seu limbo retirado pelos machos (Figs. 1A, 1B): usando as mandíbulas, raspavam o mesófilo deixando as nervuras intactas. Em um período de 5h, um grupo de machos extraiu totalmente uma superfície de 18cm² de limbo (Fig. 1B). Em uma amostragem instantânea, contou-se 17 folhas com limbos totalmente removidos, com suas nervuras preservadas (Fig. 1A).



Fig 1. A) Espécime jovem de *Guarea guidonia* (Meliaceae). Observam-se folhas com mesófilo removido em dias anteriores; as nervuras já estão com coloração marrom. B-C) Machos de *Eulaema nigrata* (Apidae, Euglossini) coletando mesófilo de *G. guidonia*. Setas brancas indicam machos em atitude agressiva. Observam-se nervuras intactas ainda verdes.

Cada macho raspava a folha continuamente, durante cerca de 1 minuto; a seguir fazia vôos rápidos, próximos à vegetação rasteira no entorno, retornando à folha da planta "hospedeira". Permaneciam nesta atividade alternada por cerca de 5 minutos. Em um caso, um macho continuou coletando por cerca de 10 minutos consecutivos.

Ao final da coleta, voavam próximo ao solo, pousavam na vegetação e abrigados pela folhagem transferiam o material macerado da mandíbula para a tíbia posterior, com auxílio das pernas anteriores.

O número de machos em atividade na planta variou entre 3 e 12, durante o período de cinco dias de observações, quando, finalmente, desapareceram do local. Vários machos compartilhavam uma folha (Fig. 1B) e, frequentemente, a cada dia, concentravam-se em pelo menos duas folhas do espécime de *G. guidonia*, com média de $9,3 \pm 1,97$ indivíduos ($n=7$) na manhã em que se registrou maior atividade. Em uma ocasião, foram registrados oito machos em uma mesma folha. Quando aparentemente já não havia “espaço” na face adaxial (superior) da folha, alguns se deslocavam para a face abaxial.

Embora coletasse em grupo, cada macho defendia pequenas áreas sobre as folhas, repelindo de maneira agressiva indivíduos muito próximos (Fig. 1B): elevavam as pernas anteriores e davam pequenos golpes uns nos outros; em algumas ocasiões levantavam vôo e confrontavam-se.

A atividade de coleta do material foliar pelos machos encontra-se na Tabela 1; observa-se que foi mais intensa entre 8:00h e 13:00h.

Tabela 1. Número de machos de *Eulaema nigrita* (Apidae, Euglossini) em atividade nas folhas de *Guarea guidonia* (Meliaceae) na Costa Atlântica do Brasil. Os valores abaixo são contagens instantâneas a intervalos de 1 hora em dois dias de observação.

Horário	Dia 1	Dia 2
08:00-09:00	-	9
09:00-10:00	-	12
10:00-11:00	-	9
11:00-12:00	4	7
12:00-13:00	7	-
13:00-14:00	6	-
14:00-15:00	3	-
15:00-16:00	3	-
16:00-17:00	3	-

Os traços (-) indicam período chuvoso, sem observações em campo.

DISCUSSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por que os machos de *Eulaema nigrita* coletam o mesófilo de *Guarea guidonia*?

As folhas de *G. guidonia* produzem terpenóides, em maior abundância sesquiterpenos (LAGO *et al.*, 2002), um dos três principais compostos aromáticos procurados nas flores pelas abelhas Euglossini (ENDRESS, 1994). Após a raspagem do mesófilo, os machos transferiam o macerado para as tíbias posteriores, onde normalmente se dá a adsorção de substâncias aromáticas para a câmara de armazenamento.

Apesar dos grupos de machos removerem totalmente o mesófilo, mantinham as nervuras intactas. Potencialmente, isso manteria a translocação de substâncias

produzidas continuamente por defesa induzida, para as áreas do mesófilo em exploração. Por exemplo, para evitar efeitos deletérios da concentração de compostos secundários, resultantes de defesa induzida, alguns herbívoros desenvolveram o comportamento de cortar a base da nervura central das folhas de plantas hospedeiras (KARBAN & BALDWIN, 1997).

O significado da coleta de compostos aromáticos na biologia dos machos de Euglossini ainda não está bem esclarecido, embora a hipótese de estreita relação com atividade sexual seja a mais aceita. ROUBIK (1998) argumenta que ao coletarem essências, os machos tornam-se capazes de comunicar três características importantes às fêmeas: longevidade, sucesso no forrageio e co-especificidade.

Muito provavelmente as folhas de *G. guidonia* secretam quantidades suficientes de sesquiterpenos para desempenhar papel relevante na biologia reprodutiva dos machos de *E. nigrita* e, por isso, são intensivamente exploradas e disputadas nos grupos.

Por que os machos concentravam a atividade em um único espécime desta planta, se havia vários nas proximidades?

Diferentes autores encontraram variação na composição e quantidade dos compostos aromáticos nas folhas de *G. guidonia*, dependendo da população de origem (LAGO *et al.*, 2002; NÚÑEZ & ROQUE, 1999). Além de variações genéticas, é possível que a planta module a produção de compostos aromáticos em resposta a variações sazonais locais ou regionais no clima (Nídia Roque, inf. pessoal). Aqui, formulamos a hipótese de que variações locais entre indivíduos próximos, sob as mesmas condições, decorrem também de defesas induzidas pela herbivoria (KARBAN & BALDWIN, 1997). Os espécimes que mais prontamente respondem aos danos da herbivoria acabam sendo selecionados pelos machos de *E. nigrita*.

Em última instância, a hipótese de defesa induzida em *G. guidonia* deverá ser testada com análise comparativa de folhas (e indivíduos) expostas e não expostas à herbivoria. A priori, o comportamento de forrageio dos machos sustenta a premissa básica de que se beneficiam da defesa induzida para obter taxas maiores de sesquiterpenos. Frequentemente, os machos visitavam folhas produzindo pequenos danos, para em seguida abandoná-las. Aparentemente, essas folhas eram selecionadas subsequente, em função do nível de resposta induzida pela herbivoria. Defesas induzidas estão amplamente difundidas e podem perdurar por horas após os danos iniciais (KARBAN & BALDWIN, 1997): assim, tanto a produção de pequenos cortes, como a agregação dos machos são evidências de acúmulo de toxinas em determinadas folhas ou indivíduos. As análises das fotografias e filmagem confirmaram o argumento de que os machos preferiam folhas anteriormente mordidas ou que já estavam sendo exploradas por outros machos. Os machos também se mantinham forrageando em grupos nas folhas já bastante danificadas, a despeito dos custos decorrentes das frequentes interações antagônicas. Esses custos seriam compensados se o recurso (sesquiterpeno) estiver

em maior oferta nas folhas previamente danificadas. Os grupos de machos de *E. nigrita* também exercem efeito inibidor sobre outras espécies, inclusive indivíduos com tamanho corporal muito maior, como *E. bombiformis* Friese, 1899.

Por que apenas machos de *E. nigrita* estavam coletando nas folhas de *G. guidonia*?

É notório que machos de *Eulaema* são atraídos em grande quantidade e quase que simultaneamente para certos compostos aromáticos (ROUBIK, 1998). Isto traz certas vantagens nas interações inter-específicas, especialmente a defesa de recursos. Em quatro ocasiões foram observados espécimes de *Euglossa* spp. e de *E. bombiformis* sobrevoando a área de atividade dos grupos de *E. nigrita*, mas deixaram o local sem pousar no substrato. Essas outras espécies eram atraídas à longa distância pelos compostos aromáticos de *G. guidonia*, provavelmente liberados em maiores concentrações devido à atividade de *E. nigrita*, mas evitavam interações inter-específicas.

Haveria relação entre a ampla distribuição geográfica e ecológica de *E. nigrita* na Região Neotropical e o comportamento de extração de substâncias aromáticas de folhas, como *G. guidonia*?

A distribuição geográfica de *E. nigrita* (MOURE, 1950; WITTMANN *et al.*, 1987) sobrepõe-se amplamente àquela de *G. guidonia* (WEAVER, 1988): ambas ocorrem desde a Costa Rica até o sul do Brasil. Esta sobreposição potencializou as oportunidades de exploração dos compostos aromáticos das folhas desta planta por uma abelha generalista, como *E. nigrita*. Os machos do gênero *Eulaema* são considerados oportunistas no uso de fontes de compostos aromáticos, coletando essências inclusive da tibia de outros machos mortos (Roubik, 1998).

Embora seja contingente em escala local, a relação entre *E. nigrita* e *G. guidonia* deve ser regionalmente previsível, dada a ampla sobreposição geográfica e à natureza química dos compostos aromáticos e sua reconhecida atratividade sobre os Euglossini. Será relevante verificar a frequência desta relação em escala temporal e espacial mais ampla e verificar se na ausência de *E. nigrita*, outros Euglossini também exploram *G. guidonia*.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq e à FAPESB pelo suporte financeiro (Bolsas PIBIC) e à Dra. Nídia Roque pelas sugestões e trabalhos cedidos de *Guarea guidonia* (Meliaceae).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACKERMAN JD. 1983. Diversity and seasonality of male Euglossinae bees (Hymenoptera: Apidae) in Central Panamá. **Ecology** 64(2): 274-283.
- BEZERRA CP & CF MARTINS. 2001. Diversidade de Euglossinae (Hymenoptera, Apidae) em dois fragmentos de Mata Atlântica localizados na região urbana de João Pessoa. Paraíba, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia** 18: 823-835.
- DODSON CH, RL DRESSLER, GH HILLS, RM ADAMS & NH WILLIAMS. 1969. Biologically active compounds in orchid fragrances. **Science** 164: 1243-1249.
- ENDRESS PK. 1994. **Diversity and evolutionary biology of tropical flowers**. Cambridge: Cambridge University Press.
- GARÓFALO CA. 2000. Comunidade de abelhas (Hymenoptera, Apoidea) que utilizam ninhos-armadilha em fragmentos de matas do Estado de São Paulo. In: ENCONTRO SOBRE ABELHAS-RIBEIRÃO PRETO, 4. **Anais...** Ribeirão Preto: USP. p. 121-128.
- JESUS, BMV & CA GARÓFALO. 2000. Nesting behaviour of *Centris (Heterocentris) analis* (Fabricius) in southeastern Brazil (Hymenoptera, Apidae, Centridini). **Apidologie** 31: 503-515.
- KARBAN R & IT BALDWIN. 1997. **Induced responses to herbivory**. Chicago: The University of Chicago Press.
- LAGO JHG, CB BROCHINI & NF ROQUE. 2002. Terpenoids from *Guarea guidonia*. **Phytochemistry** 60: 333-338.
- MOURE JS. 1950. Contribuição para o conhecimento do gênero *Eulaema* Lepeletier. **Dusenía** 1: 181-200.
- NEVES EL & BF VIANA. 1997. Inventário da fauna de Euglossinae (Hymenoptera, Apidae) do baixo sul da Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia** 14(4): 831-837.
- NÚÑEZ CV & NF ROQUE. 1999. Sesquiterpenes from the stem bark of *Guarea guidonia* (L.) Sleumer (Meliaceae). **J. Essent.oil Res.** 11: 439-440.
- OLIVEIRA ML & LAO CAMPOS. 1995. Abundância, Riqueza e Diversidade de abelhas Euglossinae (Hymenoptera, Apidae) em Florestas Contínuas de Terra Firme na Amazônia Central, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia** 12(3): 547-55
- OLIVEIRA ML & LAO CAMPOS. 1996. Preferência por estratos florestais e por substâncias odoríferas em abelhas Euglossinae (Hymenoptera, Apidae). **Revista Brasileira de Zoologia** 13: 1075-1085.
- PEREIRA-MARTINS SR & WE KERR. 1991. Biologia de *Eulaema nigrita*. 1. Construção de células, oviposição e desenvolvimento. **Papéis avulsos Zool.** 37: 227-235.
- PERUQUETTI RC, LAO CAMPOS, CDP COELHO, CVM ABRANTES & LCO LISBOA. 1999. Abelhas Euglossini (apidae) de áreas de Mata Atlântica: abundancia, riqueza e aspectos biológicos. **Revista Brasileira de Zoologia** 16: 101-118.
- ROUBIK DW. 1989. **Ecology and natural history of tropical bees**. New York: Cambridge University Press.
- ROUBIK DW. 1998. Grave-robbing by male *Eulaema* (Hymenoptera, Apidae): implications for Euglossine biology. **Journal of the Kansas Entomological Society** 71(2): 188-191.
- SANTOS ML & CA GARÓFALO. 1994. Nesting biology and nest re-use of *Eulaema nigrita* (Hymenoptera: Apidae, Euglossini). **Ins.-Soc.** 41: 99-110.
- SUZUKI KM, LF ALVAREZ, G UYHEARA & SHK SOFIA. 2002. Comunidade de Euglossinae no Parque Arthur Thomas, Londrina, PR. In: ENCONTRO SOBRE ABELHAS-RIBEIRÃO PRETO, 5. **Anais...** Ribeirão Preto: USP. p. 269.
- UFBA. 2000. **Relatório Final Projeto Campus**: Mapeamento e levantamento de dados ambientais e de infra-estrutura do campus Federação da UFBA, com uso de um sistema de informações geográficas-SIG: Informações básicas para a gestão territorial. Salvador: Diretório acadêmico de Geologia, Instituto de Geociências, UFBA.
- VOGEL S. 1960. (Note) In: W TROLL. Kommission für Biologische Forschung. **Akad. Wiss. Lit. Mainz, Jahrb.** p. 81-94.
- VOGEL S. 1963. Das sexuelle Anlockungsprinzip der Catsetinen und Stanhopeen-Blüten und die wahre Funktion ihres sogenannten Futtergewebes. **Österreichische Botanische Zeitschrift** 110: 308-337.

- WEAVER PL. 1988. *Guarea guidonia* (L.) Sleumer, p. 248-250. American Muskwood, New Orleans LA.US. Department of Agriculture, Forest Service, Southern Forest Experimental Station.
- WILLIAMS HH & WM WHITTENS. 1983. Orchid floral frangance and male Euglossine bees. Methods and avances in the last sesquidecade. **Biological Bulletin** 164: 355-395.
- WITTMANN D, R RADTKE, M HOFFMANN & B BLOCHTEIN. 1987. Seasonality and changes in preferences for chemical baits of males *Eufriesea violacea* in Rio Grande do Sul, southern Brazil, p.730-731. *In*: J EDER & H REMBOLD (ed.). **Chem. Biol. Soc. Insec.** Munique.