

Estudos Sobre o Gênero *Melipona* (*) (†)

WARWICK ESTEVAM KERR

Assistente da Cadeira e Secção de Citologia
e Genética Geral da

Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"
Universidade de São Paulo

ÍNDICE

1 — Introdução e agradecimentos	Pg. 182
2 — Sistemática	Pg. 183
3 — Contribuição para o estudo da Bionomia	Pg. 191
4 — Anatomia dos Órgãos Genitais	Pg. 196
Aparelho Genital Masculino	Pg. 196
Aparelho Genital Feminino	Pg. 198
5 — Citologia	Pg. 199
Cromossomos somáticos	Pg. 199
Espermatogênese	Pg. 201
Resumo	Pg. 204
6 — Determinação das castas	Pg. 205
Métodos	Pg. 207
Material	Pg. 208
Resultados	Pg. 208
Discussão	Pg. 214
Provas adicionais	Pg. 218
Proporção das castas durante o inverno	Pg. 227
Discussão de casos análogos em <i>Termitas</i> e <i>Formigas</i>	Pg. 230
Resumo	Pg. 233
7 — Evolução do Gênero <i>Melipona</i>	Pg. 236
Evolução dos meliponíneos	Pg. 237
Evolução das meliponas	Pg. 244
Resumo	Pg. 253
8 — Summary	Pg. 254
9 — Bibliografia	Pg. 266
10 — Explicação das figuras	Pg. 271

(*) — Entregue para a publicação em 26 de Junho de 1948.

(†) — Tese para Doutorado apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", em 30 de Outubro de 1947 e defendida em 9 de Abril de 1948.

1 — INTRODUÇÃO E AGRADECIMENTOS

Iniciei meus estudos e observações nos Meliponíneos em 1942, influenciado principalmente pelos livros e artigos de Rodolpho von Ihering.

Desde o início dessas observações minha atenção foi presa ao sistema de criação existente nessas abelhas, principalmente na diferença biológica fundamental entre o gênero *Melipona* e *Trigona*, que é a formação de rainhas: nas meliponas as rainhas nascem de alvéolos iguais aos das operárias ao passo que nas trigonas nascem de células apropriadas, de maior tamanho. Veio daí a idéia que as diferenças entre operárias e rainhas no gênero *Melipona* talvez pudessem ser genéticas. Imaginou-se primeiramente a possibilidade de existirem diferenças entre cromossômios de rainhas e operárias. Daí terem sido iniciados os estudos citológicos. Os primeiros passos desses estudos foram efetuados nos últimos meses de 1943 em um estágio que fiz sob a direção do Dr. F. G. Brieger. No fim desse estágio, recebi do Dr. F. G. Brieger o conselho de entrar em contato com o Dr. André Dreyfus e D. Martha Erps Breuer, da Seção de Biologia Geral da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de São Paulo. Aí aprendi os métodos particulares para o estudo citológico dos himenópteros. Aos Dr. André Dreyfus e D. Marta Breuer quero deixar consignados meus agradecimentos.

De 1945 em diante esses estudos foram continuados nesta Seção de Genética sob a orientação, auxílio e estímulo do Dr. F. G. Brieger a quem particular e sinceramente sou agradecido pela inestimável ajuda prestada.

Todos os espécimes de meliponíneos utilizados foram classificados pelo especialista brasileiro do grupo, Pe. Jesús Moure, CMF; a ele os meus agradecimentos.

Para o estudo de biologia tive necessidade de consultar toda a literatura sobre o gênero *Melipona*, e sou grato aos Drs. F. Lane e Benedito Soares por terem-me facilitado os meios para tal estudo, pondo-me à disposição a Bibliotéca do Departamento de Zoologia e enviando-me farta bibliografia.

As colônias estudadas foram na sua quase totalidade, provenientes dos municípios de Parnaíba, Araçariguama e Cabreúva (E.S.P.), onde foram localizadas e despachadas para esta Seção por diversos amigos conhecedores da região, entre os quais citarei agradecido:

Sr. Antonio Salustiano, Sr. João Sebastião, Sr. João Bueno, Sr. Raimundo da Silva e Sr. Amaro R. dos Santos.

Por auxiliarem-me em uma ou outra parte do meu trabalho muito agradeço: ao Dr. Charles D. Michener, Assistant Curator, Department of Insect and Spiders of the American Museum of Natural History, por sua bondade em permitir-me o livre uso da sua árvore filogenética das abelhas; ao Dr. George O'Neill Addison, Diretor da Secção de Genética do Instituto Agronômico do Norte, em Belém, por enviar-me colônias da Bacia Amazônica; ao Dr. Paulo Nogueira Neto, do Departamento de Zoologia, S. Paulo, por suas sugestões e por enviar-me uma colônia de Pariquera-Assú, E. S. Paulo; ao Dr. Herbert F. Schwarz, Research Associate of the American Museum of Natural History, por informações valiosas que nos enviou sôbre a distribuição do gênero *Melipona*; ao Sr. Domiciano S. Dias, por sua contribuição em me facilitar fontes bibliográficas e fornecer dados sôbre a bionomia dos bombíneos; ao Sr. Djalma B. Siqueira, de Coruripe, Alagoas, por informações referentes à exploração e domesticação dos meliponíneos no Nordeste; ao Dr. Érico Amaral, Assistente de Entomologia desta Escola pelo auxílio em fornecer-me material e informações sôbre *Apis*; ao Dr. C. A. Krug, Chefe da Sub-Divisão de Genética e da Secção de Genética do Instituto Agronômico, em Campinas, pelas diversas sugestões que recebi após a defesa desta tese.

Pelas sugestões e crítica construtiva agradeço aos meus colegas de Secção: Dr. José T. A. Gurgel, Dr. Marcílio Dias, Dr. Nelson Kobal e Dr. Mario P. Mezzacappa.

Ao Dr. José de Mello Moraes deixo meus agradecimentos pelas facilidades que proporcionou-me na execução deste trabalho.

Pela amizade demonstrada em trabalharem mais do que o exigido em seus cargos, sou agradecido aos Srs.: Sebastião Coelho Fischer, Alberto Thomazzi, João Zandoval Netto, José Penteado Maia e Paulo Amaral.

Finalmente quero deixar registrado aqui meus sentimentos de imensa gratidão aos meus pais, Sr. Américo C. Kerr e D. Bárbara C. Kerr e à minha esposa Lygia F. S. Kerr, dedicando-lhes êste meu trabalho.

2 — SISTEMÁTICA

Os gêneros *Melipona* e *Trigona* compreendem as abelhas selvagens brasileiras conhecidas pelos nomes de: Mandaçáia, Mandurí, Tuluva, Guarupú, Urussú, Jandaira, Mandaguarí, Moça-branca, Tuiú-mirim, Borá, Mirim, Jataí, Irapuá, etc. tôdas abrangidas pela denominação comum de "mel de pau".

Fazem suas casas em ôcos de árvores, em fendas de pedras, no chão, etc., conforme a espécie. Depositam seu mel em potes de cêra de aproximadamente 20cc de capacidade conforme a espécie; êsse mel é excelente e muito procurado pela população rural brasileira, que lhe atribui propriedades medicinais.

No México, em Cuba e no Nordeste Brasileiro os meliponíneos foram domesticados em larga escala, se bem que devido às vantagens de produção oferecidas pela *Apis*, estejam sendo paulatinamente substituídos. Fomos informados pelo Sr. Djalma B. Siqueira, que em sua localidade, Coruripe, Alagoas, não existe no mercado o mel de *Apis*, sendo consumido o de meliponíneos, principalmente o da Urussú (*Melipona fasciata scutellaris*) que é vendido a razão de Cr\$ 5,00 a garrafa; em Maceió já existe à venda tanto o produto da abelha européia como o da Urussú, que são vendidos a Cr\$ 10,00 a garrafa. Em outras localidades do Brasil também encontramos comercializado o mel de meliponíneo, porém em regime de exploração e não de domesticação racional.

Situando os Meliponíneos dentro dos *Arthropoda* podemos dizer rapidamente que pertencem à Classe *Insecta*, sub-classe *Pterigogênea*, ordem *Hymenoptera*, sub-ordem *Clistogastra*, super-família *Apoidea*, família *Apidae*, sub-família *Apinae*, tribu *Meliponini*, gêneros: *Melipona*, *Trigona* e *Lestrimelitta*.

Modernamente há 3 escolas principais que discutem a sistemática dos meliponíneos: a de Ducke, a de Moure e a de Schwarz.

DUCKE (1916), por não achar que as diferenças entre os três gêneros fôssem suficientes para sua separação, agrupou todos os meliponíneos num único gênero: *Melipona*. As *Meliponas*, como as entendemos, são estudadas na classificação de DUCKE sob a letra "K".

Por outro lado, J. MOURE (1946), considera as abelhas selvagens formando a sub-família *Meliponinae*, e divide esta em três tribus:

1) *Meliponini*, com os gêneros: *Melipona* ILLIGER, 1806; *Oxytrigona* COCKERELL, 1917; *Nannotrigona* COCKERELL, 1922; *Scaura* SCHWARZ, 1938; *Plebeia* SCHWARZ, 1938; *Paratrigona* SCHWARZ, 1938; *Partamona* SCHWARZ, 1939; *Scaptotrigona* MOURE, 1942; *Schwarziana* MOURE, 1943; *Friesella* MOURE, 1946; *Mourella* SCHWARZ, 1946; *Meliponula* COCKERELL, 1934; *Lepidotrigona* SCHWARZ, 1939.

2) *Trigonini*, com os gêneros: *Trigona* JURINE, 1807; *Tetragona* LEPELETIER e *SERVILLE*, 1828; *Hypotrigona*

COCKERELL, 1934; *Cephalotrigona* SCHWARZ, 1940; *Geotrigona* MOURE, 1943; *Duckeola* MOURE, 1944; *Dactylurina* COCKERELL, 1934; *Heterotrigona* SCHWARZ, 1939.

3) *Lestrimelittini*, com um único gênero: *Lestrimellita* FRIESE, 1903.

Finalmente temos SCHWARZ (1948) que admite 3 gêneros: *Lestrimellita*, com um sub-gênero: *Lestrimellita*.

Melipona, com um subgênero: *Melipona*.

Trigona, com cerca de 20 subgêneros. Dêstes 14 são americanos (*Hypotrigona*, *Trigona*, *Tetragona*, *Oxytrigona*, *Partamona*, *Scaura*, *Plebeia*, *Mourella*, *Cephalotrigona*, *Nannotrigona*, *Scaptotrigona*, *Paratrigona*, *Schwarziana*, *Parapartamona*). 2 Africanos (*Dactylurina* e *Meliponula*) e 4 Asiáticos (*Heterotrigona*, *Tetragona*, *Hypotrigona* e *Lepidotrigona*). Pode ser que haja mais alguns subgêneros não americanos, pois coletamos êstes das publicações de SCHWARZ que temos em mãos (1937, 1939 e 1948).

Preferimos adotar a classificação de SCHWARZ por ser quem mais tem trabalhado com o grupo ultimamente e também acharmos uma correlação estreita entre a bionomia e sua classificação. Devido a divisão em tribus suspeitamos que talvez seja MOURE (1946) quem esteja mais acorde com um esquema filogenético, pois pela mesma razão que MICHENER (1942) acha que deve haver uma superfamília ou qualquer outro agrupamento que reúna os *Sphecoidea* aos *Apoidea* (para mostrar que há algum parentesco entre elas), deve haver algum agrupamento que mostre que certos subgêneros de *Trigonas* são mais próximos das *Meliponas* que outros. Não podemos entrar em mais detalhe neste sentido por não conhecermos as bases da classificação de MOURE.

Existem conhecidas até hoje, 14 espécies e 59 subespécies do gênero *Melipona*. Damos os seus nomes, um ou outro detalhe morfológico e algumas informações sobre a distribuição geográfica, porém deixamos de descrevê-las devido já existirem diversos trabalhos exaustivos sobre êsse assunto, sendo o principal o de H. F. SCHWARZ, 1932: "The genus *Melipona*".

Dêsse trabalho de SCHWARZ e de outro também de sua autoria: *The Stingless Bees (Meliponidae) of British Guiana and Some Related Forms*" (1938), extraímos os dados abaixo:

Melipona flavipennis SMITH (1854) que é relativamente constante em seus caracteres. Existe na região tropical, desde Costa Rica até Mato Grosso.

Melipona quadrifasciata LEPELETIER (1836) com duas

subespécies: *quadrifasciata* LEP., quando os tergitos possuem fundo vermelho a castanho com largas bandas amarelas não interrompidas e *anthidloides* LEP., quando os tergitos possuem fundo preto e bandas interrompidas. É uma espécie sub-tropical distribuída desde Minas e Espírito Santo até Rio Grande do Sul.

Melipona mandaçaiá SMITH (1863) muito próxima a *M. quadrifasciata* diferindo dessa principalmente por ter pelos esbranquiçados na região entre antena e ocelo, clipeo fortemente pontuado e abdômem uniformemente brilhante. Habita os Estados da Bahia, Sergipe e Alagoas.

Melipona interrupta LATREILLE (1811) que é subdividida em 8 sub-espécies de acordo com a extensão e caráter das maculações, cor dos pelos dos tergitos abdominais, bandas dos tergitos 1-5 e linha mediana longitudinal do clipeo. São elas: *interrupta* LAT. (1811); *oblitescens* COCKERELL (1919); *salti* SCHWARZ (1929); *fasciculata* SMITH (1854); *manaosensis* SCHWARZ (1932); *sicophanta* GRIBODO (1893); *triplaridis* COCKERELL (1925); *grandis* GUÉRIN (1844).

Com exceção da *M. i. grandis* que habita a zona do Canal, todas as outras sub-espécies vivem na Bacia Amazônica e seu arredores.

Melipona beecheii BENNETT (1831), com duas sub-espécies: *beecheii* BENNETT, e *fulvipes* GUÉRIN (1835) facilmente diferenciáveis devido a primeira ter pernas pretas (habita o continente: México, Nicarágua, Guatemala, Costa Rica) enquanto que a segunda tem pernas quase totalmente fulvas (habita as ilhas de Cuba e Jamaica).

Melipona quinquefasciata LEPELETIER (1836) estreitamente relacionada com *M. beecheii* e *M. interrupta*, habita principalmente a Argentina, Paraguai, Mato Grosso e Góias.

Melipona favosa FABRICIUS (1798) com 7 sub-espécies: *favosa* FAB. (1798) *orbigny* GUÉRIN (1844); *phenax* COCKERELL (1919); *baeri* VACHAL (1904); *lunulata* FRIESE (1900); *peruviana* FRIESE (1900); *variegatipes* GRIBODO (1893). Sua distribuição geográfica é relativamente ampla, indo desde a Bolívia em direção Norte até a Guiana Inglesa, Venezuela, Colômbia e Panamá; a sub-espécie *orbigny* é frequente no Brasil, (Mato Grosso, Maranhão e Ceará) e a *variegatipes* existe nas ilhas dos grupos Leeward e Windward.

Melipona fasciata LATREILLE (1811). Com 22 sub-espécies: *fasciata* LAT. que habita o México e América Central; *melanopleura* COCKERELL (1919) habita a Costa Rica; *belli-zeae* SCHWARZ (1932) conhecida nas Honduras Britânicas;

indecisa COCKERELL (1919) que é muito parecida com a sub-espécie *fasciata* diferindo desta principalmente pela completa inexistência de bandas abdominais; existe na Venezuela. A sub-espécie *fuscata* LEP. (1836) é encontrada no Perú; *nigrescens* FRIESE (1900), conhecida somente da Colômbia; *seminigra* FRIESE (1903) conhecida somente do lado Norte do baixo Amazonas; *abunensis* COCKERELL (1912) existente na Bolívia e Mato Grosso; *boliviana* SCHWARZ (1932) conhecida da Bolívia; *lateralis* ERICHSON (1848) habita a parte Norte da Bacia Amazônica; *trinitatis* COCKERELL (1919) conhecida somente de Trindade; *pseudocentris* COCKERELL (1912) que é muito próxima da sub-espécie *cramptoni*, habita a Bacia Amazônica; *cramptoni* COCKERELL (1920) que habita a Venezuela e Guiana Inglesa; *merrillae* COCKERELL (1919) ocupa uma posição intermediária entre *seminigra* e *pseudocentris* e como essas habita a Bacia Amazônica; *ruffiventris* LEPELETIER (1836) existe em toda a América do Sul e talvez no México (FRIESE, 1916); *paraensis* DUCKE (1916) habita a Bacia Amazônica e seus arredores; *melanoventer* SCHWARZ (1932) que habita a parte baixa da Bacia Amazônica; *scutellaris* LATREILLE (1811) habita o Nordeste Brasileiro; *eburnea* FRIESE (1900) habita a parte Oeste do alto Amazonas até os Andes; *rufescens* FRIESE (1900) habita o Norte da América do Sul; *mimetica* COCKERELL (1919) conhecida até agora somente do Equador.

Melipona puncticollis FRIESE (1902) que possui em certo grau a aparência de uma *M. marginata* grande, tanto que algumas das sub-espécies de *M. marginata* podem quase ser consideradas como intergraus ligando *marginata* a *puncticollis*. Por outro lado DUCKE a acha também muito aparentada com *M. fasciata*. Possui duas sub-espécies *puncticollis* FRIESE (1902) conhecida do Estado do Pará e *ogilviei* SCHWARZ (1932) conhecida da Guiana Inglesa.

Melipona concinnula COCKERELL (1919). Segundo SCHWARZ talvez seja uma forma aberrante de *M. puncticollis* pois foi descrita de um só exemplar da Venezuela.

Melipona subnitida DUCKE (1910) possui semelhanças com *M. fasciata* e é conhecida do Ceará e Maranhão.

Melipona schencki GRIBODO (1893) possui duas sub-espécies: *schencki* e *picadensis* STRAND (1910) tendo esta última pelugem escura no escutelo, mesopleura e mesonoto enquanto que a outra a tem fulva. A *M. schencki* é encontrada desde o Espírito Santo e Minas até o Paraguai e Rio Grande do Sul, predominando no Sul a subespécie *picadensis*.

Melipona marginata LEP. (1836) é uma espécie extremamente variável e possui 8 subespécies: *marginata* LEP. (1836)

que é encontrada principalmente de Minas Gerais para o Sul; *amazonica* SCHULZ (1905) habita a região Amazônica na sua parte inferior; *torrida* FRIESE (1916), muito aparentada com a *amazonica*, é conhecida da Costa Rica; *carrikeri* COCKERELL (1919) também relacionada com a *amazônica* e também da Costa Rica; *bradleyi* SCHWARZ (1932) conhecida do Perú e Guiana Inglesa; *illustris* SCHWARZ (1932) largamente distribuída, desde Mato Grosso, Pará até a Venezuela; *tumupasae* SCHWARZ (1932) muito similar a *M. puncticollis* porém menor, mais delicada na pontuação de seu mesonoto e com largas bandas abdominais; conhecida da Bolívia. A subespécie *ghilianii* SPINOLA (1853) é conhecida do Pará.

Melipona rufipes FRIESE (1900) conhecida somente de Minas Gerais.

Como, durante todo este nosso estudo, nos referimos aos gêneros dos *Meliponini* achamos por bem colocar aqui a chave para sua determinação, tanto para operárias como para rainhas e machos. Das diversas chaves existentes resolvemos reproduzir a mais completa, que sem dúvida é a de SCHWARZ (1948).

CHAVE PARA OS GÊNEROS DE ABELHAS SEM FERRÃO, SEGUNDO SCHWARZ (1948)

OPERÁRIAS

1. Artículo 3 da antena quase tão comprido como os artículos 4 + 5. A metade superior da cabeça fortemente convexa vista de perfil. O labrum com dois fortes tubérculos e uma depressão mediana pronunciada. O espaço malar relativamente comprido, sendo em sua parte mais curta no mínimo tão comprido quanto a largura do flagelo. O clipeo muito curto, aproximadamente um terço da largura. Cabeça não somente larga, mas também grossa, a área genal (além da órbita exterior dos olhos) tendo uma maior largura que aquela dos olhos compostos. A face exterior da tibia trazera de superfície um tanto uniforme, quase totalmente lisa, com a parte apical dessa face não modificada e não deprimida; os contornos ântero-lateral e posterior dessa tibia são convexos, tendo uma franja simples (não plumosa) de pêlos. Anteriormente, no ápice das tibias trazeiras, não possui pente tibial

Lestrimelitta FRIESE (1903).

Artículo 3 usual e visivelmente mais curto que os artículos 4 + 5. A face exterior da tibiás trazeiras ou mais achata-da no ápice que do lado da base, ou mais ou menos depri-mida ou escavada no ápice, e em algumas espécies com uma escavação estendendo-se desde o ápice até quase a base. Possui um pente tibial anteriormente no ápice da tí-bia trazeira 2

2. Estigma fracamente desenvolvido, um tanto estreito e linear, tendente às vezes a ser levemente côncavo ao longo da sua metade apical ou afilando em direção a um ponto co-locado apicalmente, não sendo arredondado em baixo. Asas relativamente curtas, não se estendendo além do ápice do abdome (a não ser excepcionalmente). Número de hamu-li, por asa inferior, em nenhuma espécie com média abaix-o de 9, embora excepcionalmente um indivíduo ocasional possa ter apenas 8 hamuli; varia usualmente entre 9 e 16 hamuli. Propódeo em regra densamente marchetado. As tibiás trazeiras de uma forma triangular alongada, o ân-gulo apical exterior definido e apontado para baixo ou para fora, não arredondado nem com ângulo colocado interior-mente. Robusta. Comprimento, 6 a 13,5 mm.

Melipona ILLIGER (1806)

Estigma mais completamente desenvolvido, arredondado em baixo. Asas relativamente longas, estendendo-se bem além do ápice do abdome. Número de hamuli, por asa inferior, em nenhuma das espécies do Novo Mundo com média tão alta quanto 9 hamuli, embora em uma ou duas espécies (quadripunctata e capitata) haja indivíduos que têm 9 ou mesmo 10 hamuli por asa inferior; varia usual-mente entre 4 e 8 hamuli. Comprimento do corpo raramente mais que 8 mm., muito excepcionalmente 11mm., na grande maioria dos casos abaixo de 8 mm., descendo gradualmente até espécies nas quais o comprimento é ao redor de 2 mm.

Trigona JURINE (1807)

RAINHAS

1. Artículo 3 da antena visivelmente mais comprido que o 4 e não muito mais curto que 4 + 5. A metade superior da cabeça de perfil fortemente convexa. O clipeo muito curto, sendo na sua maior largura três vezes o comprimento. O labro com uma área elevada como tubérculo em cada uma das suas margens laterais. A área genal bastante ma's

larga que os pequenos olhos compostos paralelos. A face exterior das tíbias trazeiras um tanto lisa e brilhante (grandemente até totalmente desprovida de pêlos); o contôrno anterior distintamente convexo, mais convexo que o contôrno póstero-lateral franjado.

Lestrimelitta FRIESE

Os demais 2

- 2. Estigma fracamente desenvolvido, um tanto estreito e linear, tendendo às vezes a ser levemente côncavo estendendo-se por baixo da sua metade apical ou afilando para um ponto apicalmente colocado, não arredondado por baixo. A rainha virgem é levemente menor na estatura, nunca maior que a operária **Melipona ILLIGER**

Estigma mais completamente desenvolvido, arredondado em baixo. A rainha de maior estatura, com um tórax visivelmente mais largo, que a operária

Trigona JURINE

- 1. O 4.º artículo antenal visto de baixo é somente um pouco mais comprido que o 3.º; por cima, levemente mais curto que o terceiro. Labro com um tubérculo, mesmo se às vezes fraco, em cada extremidade lateral e com uma área mais ou menos deprimida entre elas. Clípeo muito curto, sendo o seu comprimento menor que a metade da largura. O contôrno ântero-lateral das tíbias trazeiras mais convexo, se alguma coisa, que o contôrno póstero-lateral

Lestrimelitta FRIESE

Não possuindo essa combinação de caracteres, o quarto artículo antenal visto de baixo usualmente, no mínimo, o dôbro e frequentemente diversas vezes o comprimento do terceiro artículo antenal 2

- 2. Estigma fracamente desenvolvido, um tanto estreito e linear, tendente a ser levemente emarginado ao longo de sua metade apical por baixo ou afilando para um ponto apicalmente colocado, não arredondado em baixo. Asas relativamente curtas, somente excepcionalmente estendendo-se de leve além do ápice do abdome. Número de hamuli por asa, pequeno, variando de 9 a 15, com uma média acima de 9 em tódas as espécies. Propódeo em regra densamente marchetado. Robusto

Melipona ILLIGER

Estigma mais completamente desenvolvido, arredondado em baixo. Asas relativamente longas, estendendo-se bem além do ápice do abdome. Número de hamuli por asa inferior usualmente 5 ou 6, em sômente duas espécies do Novo Mundo (*quadripunctata* e *capitata*) variando de 7 a 9 ou mesmo 10, porém mesmo nessas espécies com uma média abaixo de 9

Trigona JURINE

3 — CONTRIBUIÇÃO PARA O ESTUDO DA BIONOMIA

Temos estudado há um ano e meio o mecanismo da determinação das castas nos meliponíneos. Durante êste estudo fizemos diversas anotações sôbre a sua blonomia, que passamos a relatar.

Um dos fatos conhecidos a respeito dos gêneros *Melipona* e *Trigona* é coexistirem em uma colônia rainhas fecundadas, rainhas virgens, zangões e operárias. Desde que por qualquer motivo a rainha fecundada venha a faltar, uma ou mais das virgens será fecundada e, após um certo número de dias iniciará a postura. Na alimentação de uma rainha de *Apis*, desde larva até o fim da vida, as operárias usam grande quantidade de uma geléia glandular (SNODGRASS, 1925), porém para as larvas de machos e operárias só dão dêsse alimento até o terceiro dia; daí por diante recebem uma alimentação "progressiva" que inclui mel e pólen. Nas *Meliponas* a nutrição das larvas é intermediária entre o "alimento massal" de certas abelhas solitárias e o "alimento progressivo" das *Apis*, e é igual para operárias, zangões e rainhas. Dizemos que é intermediária porque as obreiras de *Melipona* enchem totalmente de alimento o alvéolo, que vai receber o ôvo, com mel, pólen e alimento glandular e logo após à postura fecham a célula. Como os alimentos são de densidade diferente a pequena larva, que fica boiando ao eclodir, se nutrirá primeiro de secreção glandular e depois de mel e pólen.

As rainhas das trígonas (Irapoá, Borá, Jataí, Mirins, Tulumirim, Mandaguari, Tapessoá, Sanharão, etc.) originam-se da mesma maneira que as rainhas de *Apis* (abelha européia), isto é, por uma alimentação especial. Assim se tomarmos um ôvo botado em um alvéolo de operária e o colocarmos em um alvéolo de rainha, não mais nascerá uma operária mas sim uma rainha, porque a constituição do ôvo é a mesma, dependendo unicamente da quantidade e qualidade de alimentos, o fato de tornar-se numa ou noutra casta.

As rainhas de *Melipona* (Tuluva, Mandaçáia, Guarupú,

Urussú, Jandaira, Mandurí, Urussuboi, etc.), têm, todavia, uma origem diferente. Nascem de alvéolo do mesmo tamanho e com a mesma quantidade e qualidade de alimentação que o de uma operária. Se aumentarmos a quantidade de alimentos na ração de uma operária somente conseguiremos uma operária de maior tamanho, mas não lograremos transformá-la numa rainha. Portanto nos ovos de meliponas já se acha determinada a casta a que deve pertencer o indivíduo, e a nutrição não pode alterar tal natureza. (Kerr, 1947).

Como a rainha virgem de *Melipona* recebe a mesma alimentação e nasce de alvéolo do mesmo tamanho que o de uma operária ela não se encontra habilitada a iniciar a postura logo após sua fecundação.

Por isso, depois da cópula, as operárias começam a nutrir-la com alimento glandular, que lhe faltou no estado larvário, e assim inicia-se um forte desenvolvimento dos ovários, dando em poucas semanas, um aspecto fisiogástrico a rainha. O tempo, desde a fecundação até o início da postura, varia de acôrdo com a alimentação que as operárias fornecem à rainha, e portanto, é diretamente proporcional ao número de operárias existentes.

Damos em seguida o tempo levado por diversas rainhas desde sua fecundação até o início da postura:

Melipona fasciata rufiventris: colônia forte (13-1 a 29-1-45) 16 dias.

Melipona schencki schencki: colônia fraca (17-1 a 16-2-45) 30 dias.

Melipona quadrifasciata anthidioides: colônia média (2-1 a 22-1-45) 20 dias.

Outras observações que fizemos foi a respeito do ciclo biológico de *Melipona quadrifasciata anthidioides*. É o seguinte, segundo varie a temperatura e outras condições ambientes:

Fases	Operária	Rainha
Óvo	— desde 4,5 até 6,5 dias	Desde 4,5 até 6,5 dias
Larva	— desde 7 até 8 dias	Desde 7 até 8 dias
Pupa	— desde 15,5 até 18 dias	Desde 11,5 até 15 dias
Prepupa	— desde 5 até 5,5 dias	Desde 4,5 até 5 dias
De óvo à imago	— desde 34 até 37 dias	Desde 30 até 34 dias

Como vemos, a rainha é um pouco mais precoce que a operária, confirmando uma afirmativa de F. Müller (1878), pg. 231.

Para termos uma idéia da vitalidade das colméias dos meliponíneos damos aqui os seguintes dados sobre a postura de duas rainhas, uma de *Melipona* e outra de *Trigona*:

Melipona quadrifasciata anthidioides: (Mandaçáia) — Em 44 dias (9-7 a 22-8-46) pôs 590 ovos, o que dá uma média de 13 ovos diários, tendo um máximo de 22 ovos por dia.

Trigona (Plebéia) *mosquito* (Mirim Guassú) — De (9-7 a 24-7-46) pôs 249 ovos. De (9-8 a 24-8-46) pôs 1.035 ovos, o que deu uma média de 69 ovos por dia; teve um máximo de 120 ovos diários.

Também no estudo da vida dos meliponíneos, tivemos nossa atenção atraída para seus favos de cria e seus potes de mel e de pólen.

Esses potes são conhecidos na ciência desde a sua descrição por Pierre Huber em *Melipona domestica* do México (que segundo SCHWARZ, 1932, é *M. beechellii*) e já DARWIN, 1860, fez algumas hipóteses a respeito da sua evolução. Nas meliponas esses potes alcançam o tamanho e forma de um ovo de galinha ou de um limão galego. Comumente possuem de 15 a 20 cc. de capacidade. Este modo de armazenar só existe nos *Bombus* e meliponíneos e evoluiu divergentemente do processo adotado pelas *Apis* em geral. No gênero *Apis* os alvéolos tanto são utilizados para criar filhos como para armazenar mel, ao passo que nos meliponíneos os alvéolos são usados exclusivamente para a criação de filhos. Um fato interessante ocorreu em duas de nossas colméias: Em fevereiro de 1945, tivemos uma colônia de *Melipona schencki schencki*, muito fraca e parasitada por *Phoridae* que construiu para armazenamento, alvéolos iguais aos de filhos. Caso análogo observamos a 9-7-1946 em uma colônia de *Melipona marginata marginata* que construiu colados a potes antigos, alvéolos tipo de cria, para armazenar mel (Fig. 1). Isso mostra que em casos de extrema penúria, essas abelhas utilizam para suas reservas células idênticas às de criação; mostra também a grande maleabilidade existente em seus atos instintivos, provavelmente devido ao fato de serem espécies em evolução.

Os alvéolos têm o tamanho do corpo de uma abelha adulta, e são uniformes em tamanho e formato para cada espécie. (Fig. 2).

A respeito da forma dos alvéolos temos a fazer a seguinte observação:

No gênero *Melipona* há só um tipo de alvéolo para todas as castas. No gênero *Trigona* há alvéolos com dois tamanhos: os pequenos que se destinam a operárias e a zangões, e os

grandes destinados a rainhas. Nas *Apis* mais inferiores, como *Apis dorsata*, há células reais, porém não há diferença entre alvéolos de operárias e de zangões (S. SINGH — citado por E. Root, 1943), e nas mais evoluídas, como *Apis mellifera*, existe um tipo de alvéolo especial para cada casta.

Um detalhe importante da economia doméstica dos meliponíneos com referência aos alvéolos de criação que observamos foi o seguinte: As operárias constroem esses alvéolos com cera secretada por suas glândulas dorsais, enchem-no com alimentos, e, após a postura da rainha fecham-nos hemeticamente. Após uns tantos dias (14 aproximadamente na *M. q. anthidioides*) as larvas dessas células já se transformaram em prepupas e começam a tecer um casulo no seu interior. Nesse mesmo tempo as operárias começam a retirar essa cera para utilizá-la em outros misteres, deixando o casulo quase nú (esta mesma particularidade foi observada por RAU, 1933, pg. 23 e 24, em *Trigona*).

Após a operária emergir de sua célula, esta é destruída e jogada fora por constituir-se em grande parte de dejeções e material inaproveitável. Esse último fato, comum a todos os meliponíneos, foi também observado, porém mal interpretado, por IHERING (1903), que julgou a destruição dos resíduos finais como atos perdulários das abelhas selvagens brasileiras. Esse mesmo procedimento de deixar o casulo semi-descoberto, é encontrado em *Bombus* (WHEELER, 1923, pg. 116-117), e, como verificamos, em menor grau em *Apis*.

A disposição dos alvéolos é muito variável. Assim encontramos espécies, como *Trigona silvestrii*, que possuem seus alvéolos agrupados irregularmente em cachos, unidos uns aos outros por pequenas colunetas de cera, visivelmente pertencentes a um tipo primitivo.

Tôdas ou quase tôdas as espécies de meliponíneos que constroem seus alvéolos em favos organizam esses alvéolos preferencialmente em camadas superpostas (Fig. 4); porém em uma ou outra época da vida da colônia, mudam essa organização, para um arranjo helicoidal. Este procedimento, comum nas *Trigonas*, observamos também nas *Melíponas*, em colônias de *M. fasciata rufiventris* e *M. quadrifasciata anthidioides* (Fig. 5).

Também observamos que a forma de um alvéolo após sua construção é de prisma cilíndrico com as bases abauladas. Essa forma permanece até o fim nos alvéolos das margens dos favos; porém nos do interior, esse formato muda para o de prisma exagonal, devido às pressões que são exercidas interna-

mente pelas larvas crescidas comprimindo-se mutuamente nas paredes das células.

Nas Trigonas que arrumam seus alvéolos em caixos tôdas as células são oval-alongadas devido não existir pressão lateral entre elas, porém quando dois desses alvéolos estão grudados, a parede entre êles tornar-se-á plana.

Os machos aparecem esporadicamente durante o inverno. Após o inverno os primeiros ovos que originarão machos são postos em meados de Agôsto. Damos abaixo um quadro com as porcentagens de machos observadas em amostras retiradas das colônias em diversas épocas do ano.

QUADRO I

Meliponas Grandes		
N. de caixas analisadas	Data	Porcentagem
10 caixas	16- 2 a 1- 7-46	0,0 %
3 caixas	9- 8 a 22- 8-46	22,8 %
3 caixas	13- 9 a 28- 9-46	34,9 %
6 caixas	29- 9 a 19-11-46	7,9 %
6 caixas	18-11 a 2- 1-47	0,7 %
4 caixas	17- 1 a 28- 2-47	4,0 %
4 caixas	25- 2 a 26- 3-47	15,0 %
1 caixa	10- 4 a 23- 4-47	18,9 %

QUADRO II

<i>Melipona Marginata</i>		
N. de caixas analisadas	Data	Porcentagem
1 caixa	24- 3 a 1- 4-46	0,0 %
3 caixas	1- 4 a 18- 6-46	0,0 %
2 caixas	23- 7 a 25- 8-46	0,0 %
2 caixas	21- 8 a 24- 9-46	28,7 %
3 caixas	2-11 a 18-11-46	39,3 %
1 caixa	28-12 a 11- 1-47	3,6 %

Após o inverno de 1946, os primeiros ovos não fecundados foram postos dia 10 de Agosto na colônia 8, dia 15 de Agosto na colônia 1, e dia 24 de Agosto na colônia 5. Como vemos os machos aparecem em diversas colméias aproximadamente na mesma época.

4 ANATOMIA DOS ÓRGÃOS GENITAIS

Aparelho genital masculino

Como métodos de trabalho e de dissecação tomámos por base os descritos no livro de KENNEDY (1932). Usámos, quando necessário, como corante morfológico a Hematoxilina de Hansen.

Material: Como a dissecação de individuos adultos é muito difficil devido haver uma grande quantidade de traquéias embaraçando os órgãos genitais, preferimos dissecar principalmente pupas, de diversas idades. Apesar de, para nossos desenhos usármos principalmente pupas, usámos também larvas e imagos para poder esquematizar todo o desenvolvimento.

Usámos machos de: *M. marginata*, *M. quadrifasciata anthidioides* (em maior quantidade), e *M. schencki schencki*.

O aparelho genital masculino do género *Melipona* (fig. 6) é formado por 2 testículos, 2 vasos deferentes, 2 vesículas seminais, canal ejaculador e penis. No nosso desenho para dar melhor idéia da localização acrescentámos a genitália em vista dorsal.

Testículo: — Os testículos são corpos esbranquiçados na pupa, envolvidos por uma tênue membrana, formados por quatro tubos, (fig. 7) que na larva são facilmente identificados, porém já na prepupa são unidos e emaranhados, de tal modo que só por cuidadosa dissecação podemos isolá-los. Esses quatro tubos acabam em quatro canais bem curtos, que por sua vez se abrem em um conduto único, o canal deferente.

Cada tubo testicular é composto de numerosas lojas com forma elipsóide, tendo um tamanho variando ao redor de 68,5 μ de comprimento por 44,6 μ de diâmetro (medidas tomadas em *Melipona schencki*).

Cada uma dessas lojas contém células na mesma fase de desenvolvimento, porém se examinarmos todo o comprimento do tubo veremos que conforme vamos caminhando para a extremidade desse tubo, as células vão nos aparecendo em estágio pouco mais adiantado.

É interessante notar que quando essas lojas, na prepupa, contêm espermatogônios em metáfase, tôdas ou quase tôdas as placas metafásicas estão orientadas tangencialmente, talvez devido a qualquer pressão interna (fig. 20). Desde essa fase até a fase da formação dos espermatozoides o comprimento dessas lojas aumenta cerca de 4 vezes, passando de uma forma esférica para uma forma elipsóide, sendo que os espermatozoides acumulam-se num pólo (Fig. 40).

Para cada loja há uma ou duas células alimentares, endopoliplóides que começam a se desenvolver antes da meiose e alcançam seu tamanho máximo na espermatogênese e servem, talvez devido a sua função alimentar, como orientadoras dos espermatozoides de cada loja.

Vasos deferentes: São muito tênues, e na sua extremidade anterior acham-se ligados aos testículos. Seu comprimento é variável segundo a espécie.

Glândulas acessórias: — Constatámos a não existência das glândulas acessórias no aparelho genital masculino das *Meliponas*. Nesse ponto as *Meliponas* diferem tanto das *Apis* (SNODGRASS 1925) como das *Bombus* (BORDAS, 1895) que possuem essas glândulas (Fig. 46 I, II e III).

Vesícula seminal: — É um alargamento mediano-terminal dos vasos deferentes e tem tamanho e formas variáveis conforme o gênero e espécie. Essa vesícula atinge seu tamanho máximo no inseto adulto, ao passo que os testículos têm seu maior tamanho na fase pupal.

Canal ejaculador: — É de origem ectodérmica e na pupa ainda não se uniu perfeitamente com o canal deferente post-vesicular. Após sua união, não sabemos quando se rompe a parede celular que os separa, pois já achámos zangões prestes a emergir com a mesma intacta.

Pênis: — É relativamente pequeno e fica localizado no meio da genitália, assim como as vesículas seminais, segundo indica a figura 6.

O aparelho genital masculino de *Bombus*, segundo verificámos pela publicação de BORDAS (1895), pode ser considerado como intermediário entre o de *Melipona* e o de *Apis*. Vemos por exemplo que, enquanto as *Meliponas* possuem sempre 4 tubos seminíferos, as *Apis* possuem número muito elevado, variável, e os *Bombus* possuem número variável, porém ao re-

dor de 4 (pois em 36 indivíduos analisados BORDAS encontrou: 22 com 4 canais seminíferos, 8 com 5, e 6 com 3). Outro detalhe é a existência das glândulas acessórias somente nos *Bombus* e *Apis*, faltando nas *Melíponas*. Quanto ao pênis verificamos ser o dos *Bombus* e *Melíponas* de um mesmo tipo, enquanto que o das *Apis* sofreu diversas modificações (Fig. 46 — I, II e III).

Deixamos de escrever a genitália das *Melíponas* devido acharse bem descrita nos trabalhos de SNODGRASS (1941) e SCHWARZ (1932, 1939) porém queremos frisar que a genitália das *Melíponas* é bem semelhante à dos *Bombus*, diferendo no entanto da das *Apis* (Fig. 46 — A,A' e E).

APARELHO GENITAL FEMININO

Dissecamos larvas, pupas e imagos, tanto de operárias como de rainhas. Desde a fase larval os ovários das rainhas são muito mais desenvolvidos que os das operárias. Na fase de imago é muito difícil observar qualquer porção do ovário devido ao emaranhado dos tubos traqueais. Cremos que esse foi o motivo que levou IHERING (1932) a dizer: "Tentei preparar o aparelho genital, para desenhá-lo, mas nada consegui, pois que os respectivos órgãos não se acham desenvolvidos (pg. 453)", e em outro lugar (pg. 669): "O exame anômico revelou que os órgãos genitais, isto é, especialmente os tubos ovarianos, ainda não se haviam desenvolvido. Estas rainhas, portanto, só poderiam entrar em função na primavera subsequente e este lapso de tempo seria, pois, suficiente para o gradativo amadurecimento dos ovários".

Sabemos agora, tanto devido aos nossos estudos sobre a bionomia quanto aos da anatomia dos órgãos genitais, que as rainhas virgens estão aptas para entrarem em funcionamento pouco após seu nascimento, e de maneira nenhuma hibernam, pois, se não forem mortas pelas operárias, morrem em mais ou menos 5 a 10 dias.

Para poder desenhar os órgãos genitais usamos pupas de rainhas e de operárias. Para desenharmos o aparelho genital da rainha fecundada usamos uma rainha já em decrepitude.

Material: Rainhas e operárias em diversos estágios do seu desenvolvimento de: *M. marginata marginata*, *M. quadrifasciata anthidioides*, *M. schencki schencki*, *M. fasciata rufiventris* e *M. fasciata melanoventer*.

Os órgãos reprodutivos da fêmea consistem de: 1) dois ovários, 2) dois ovidutos, 3) útero, vagina e 4) espermateca.

1) Ovários: — são formados por 4 ovariolos cada um. Seu tamanho e seu volume variam nas castas operárias (Fig. 10) e rainhas e também entre as rainhas virgens (Fig. 8) e fecundadas (Fig. 11). Os comprimentos dos ovariolos são: 1,7 a 2mms. na operária, 11,1 a 11,5mms. na rainha virgem e 76 mms. na rainha fecundada (medidas tomadas em *Melipona fasciata melanoventer*). Tanto na rainha virgem como na rainha fecundada, as extremidades dos ovariolos de ambos os ovários são grudadas; deixamos de desenhá-las dessa maneira na Fig. 9 por facilidades técnicas.

2) Ovidutos: — Cada ovário entrega os seus óvulos ao respectivo oviduto. Também estes ovidutos variam de tamanho nas diferentes castas. Na operária e rainha virgem possuem um alargamento esférico (calix) na desembocadura dos ovariolos muito bem desenvolvido.

3) Útero e vagina: — Formam o tubo condutor restante para levar o ovo ao exterior.

4) Espermateca: — Fica situada logo acima do útero. Tem forma esférica achatada; na operária mede aproximadamente 144u x 187u. Possui duas glândulas acessórias aderentes à sua base, cujo volume é de aproximadamente 1/8 da espermateca.

O aparelho genital feminino não difere em essência daquele encontrado no gênero *Apis* a não ser nas proporções e no número de ovariolos, que na *Apis* é aproximadamente de 180 ao passo que nas *Meliponas* é somente de 8, porém é extremamente parecido com o de *Bombus*, o que verificamos por dissecações em *Bombus morio* e *Bombus medius*, que a não ser nas proporções é essencialmente igual ao das *Meliponas*, contendo também 4 ovariolos em cada ovário.

5 — CITOLOGIA

Cromossômios somáticos

Usamos para a contagem de cromossômios somáticos os gânglios nervosos de larvas e prepupas, e também tecidos somáticos do ovário de pupas jovens. O método utilizado mais comumente foi o seguinte: Dissecávamos a larva em Ringer, (NaCl 0,65 gr. + KCl 0,025 gr. + CaCl₂ 0,03 gr. + Água bidistilada 100cc.) levávamos a gânglio isolado para outra lâmina onde era esmagado rapidamente. Observávamos sob o microscópio até que a pouca água existente nas margens do material desaparecesse sob o mesmo; nesse instante colocávamos de 6 a 10 gotas do fixador. Usamos como fixadores principais neste método: Kahle modificado segundo SMITH,

1941 (15cc Alcool 95% + 6cc Formol comercial + 1cc Acido Acético Glacial) e Gilson-Petrunkewitsch, (150cc. Água destilada + 100cc. Alcool Absoluto + 45cc. Acido Acético Glacial + 5cc Acido Nítrico 1,4 + Sublimado corrosivo até a saturação, que corresponde aproximadamente a 5 grs.), variando o tempo de 4 a 10 minutos. Depois de lavado, o material era submetido à reação de Feulgen e montado pelos métodos comuns. Quando necessário usávamos "Fast-green" como corante de fundo.

Também fizemos diversos "smears" provisórios, utilizando orceína acética como corante.

Podemos resumir o nosso trabalho neste sentido da seguinte maneira :

Melipona fasciata rufiventris — larva de operária — cérebro — 18 cromossômios.

Melipona fasciata rufiventris — larva de rainha — cérebro — 18 cromossômios.

Melipona marginata marginata — pupa de operária — ovário — 18 cromossômios.

Melipona marginata marginata — pupa de rainha — ovário — 18 cromossômios.

Melipona schencki schencki — larva macho — cérebro — 9 cromossômios.

Melipona schencki schencki — larva operária — cérebro — 18 cromossômios.

Melipona quadrifasciata anthidioides — larva operária — cérebro — 18 cromossômios.

Melipona quadrifasciata anthidioides — larva rainha — cérebro — 18 cromossômios.

Melipona quadrifasciata anthidioides — larva macho — cérebro — 9 cromossômios.

O tecido em que encontramos menos aberrações foi o cérebro, pois em outros tecidos é muito comum a poliploidia, quer de uma ou outra célula isolada, como também de toda uma zona. Porém mesmo assim encontramos larvas com algumas células poliplóides no cérebro. Os cromossômios das células poliplóides são mais delgados que os da célula diplóides.

Verificamos por esses resultados que o número de cromossômios, tanto nas operárias como nas rainhas é o mesmo (18), e em virtude de serem de tamanho diminuto não nos foi possível encontrar quaisquer diferenças cromossômicas entre rainha e operária. Também ficou verificado que o número de cromossômios somáticos dos machos é a metade do número encontrado nas fêmeas, isto é, 9.

ESPERMATOGÊNESE

O estudo da espermatogênese foi feito com o intuito de verificar a que esquema pertenceria o gênero *Melipona* dos diversos existentes entre os Hymenoptera como relatados por DREYFUS e BREUER (1944, pg. 72).

Assim queríamos saber se havia divisão igual ou desigual do espermatogônio, se haveria ou não expulsão de brôto citoplasmático e se esta dar-se-ia na primeira ou segunda divisão e finalmente quantos espermatozóides resultariam no final da meiose oriundos de um espermatônio.

Os métodos que utilizámos são os utilizados comumente em estudos citológicos. Na fixação usámos os seguintes fixadores enumerados segundo a maior frequência de utilização: **Gilson-Petrunkewitsch, Dubosc-Brasil** (Solução A: 150cc. Alcool 80% + 10 gr. Acido Picrico. Na hora de usar juntar: 15 cc. Solução A + 6cc. Formol puro neutro + 1,5cc. Acido Acético Glacial) **Kahle modificado, Carnoy de Farmer** (3 Alcool absoluto + 1 Acido Acético) e **Carnoy de Semmen** (3 Alcool absoluto + 1 Acido Acético Glacial + 1 Clorofórmio), ambos como prefixadores, **Navashin, Flemming forte**, (3,1cc. Ac. crômico 10% + 30,0cc. Acido Acético Glacial 10% + 12,0cc. de ácido Ôsmico a 2% em solução aquosa de Acido Crômico a 2% + Agua bidistilada 11,9cc.) e **Acetona**.

Como corantes usámos: **Feulgen, Feugen e Hematoxilina de Heidenhain, Hematoxilina de Heidenhain, Janus green, Orceína acética e Violeta cristal**.

Tanto o método de "smears", permanente ou provisório, como o de inclusão em parafina foram largamente utilizados.

Tomámos sempre o cuidado de utilizar os machos logo após retirados da colméia, pois sua permanência por muito tempo no laboratório pode ocasionar distúrbios na realização da melose. Esses distúrbios são provocados pela temperatura baixa que existe fora da colônia.

BUCHNER (1915) descrevendo a técnica que se deve empregar no estudo da espermatogênese de *Apis* aconselha também que se utilize somente os machos recém-retirados da colônia para evitar aberrações. Os distúrbios observados em *Melipona* serão analisados futuramente em uma publicação à parte.

Material — Larvas, prepupas e pupas em diversos estágios de: *M. marginata marginata*, *M. quadrifasciata anthidioides* e *M. schencki schencki*. Tratámos do processo da melose em geral por termos observado que não existe qualquer particularidade nas diversas espécies pela qual pudessem ser identificadas. Usámos também exemplares de *Trigona (Plebeia) mosquito* para estudos que serão publicados posteriormente, porém utilizámos duas figuras (20 e 40) para mostrar o crescimento do cisto desde a última fase espermatogonial até o final da espermatogênese.

Na metáfase do último espermatogônio contámos 9 cromossômicos. Dessa divisão resultam dois espermátocitos de primeira ordem. Não há divisão desigual de citoplasma, como é o caso em *Telenomus fariai*, Lima, (DREYFUS e BREUER, 1944). Esses espermátocitos de primeira ordem iniciam um período de crescimento até alcançarem um estágio adulto em que executam a primeira divisão. O diâmetro do espermátocito porém aumenta de 2 a 3 vezes até sua completa maturação. O estágio do macho, em que encontramos essas fases, vai de prepupa jovem até pupa de olhos brancos. Em cada cisto dos tubos testiculares encontramos células na mesma fase, porém conforme nos aproximamos da saída para o canal deferente, achamos cistos com células um pouco mais adiantadas.

No espermátocito primário os cromossômios aparecem primeiramente nas margens dos núcleos, aparentando, mesmo nos estágios mais avançados, um aspecto de cromossômios em cadeia, até individualizarem-se completamente no fim da diacinese e finalmente organizarem-se na placa equatorial na primeira metáfase. Não há, em nenhum estágio da prófase dessa primeira divisão, qualquer indício de pareamento.

O fuso que se forma nessa primeira metáfase é inteiro. Frizámos isso porque em certo himenópteros como: *Diprion polytomum* Htg. (SMITH, 1941) *Xylocopa violacea*, (GRANATA, 1909), e outros, há formação de apenas um semi-fuso na I divisão.

Durante a primeira metáfase há formação de diversas porções de condriossômios (fácilmente observadas pela coloração com Janus green ou fixação com Flemming ou Benda), que se aglomeram formando 2 ou 3 paranúcleos, um dos quais completa-se após sua expulsão no brôto citoplasmático.

Após os cromossômios estarem alinhados na placa equatorial, alinhamento esse que é muito imperfeito devido à falta de pareamento, a membrana nuclear reforma-se e o núcleo vai para um polo da célula, sendo expulso, do outro lado, o

brôto citoplasmático supra citado. (Fig. 24). A célula resultante é agora o espermatócito de segunda ordem.

Após o término dessa primeira divisão que deu origem ao espermatócito de segunda ordem, a célula entra numa fase de repouso, intérfase (Fig. 26), em que vemos um núcleo grande com seu nucléolo. Encontramos a primeira divisão em pupas com olhos brancos até pupas com olhos rosa-claro.

A prófase da segunda divisão, é mais rápida que a da primeira. Os cromossômios aparecem, aglomerados ou não, em uma zona mais restrita que quando na primeira divisão. (Figs. 27 e 28).

Alinham-se normalmente no equador, onde como na primeira metáfase, podem-se contar os 9 cromossômios (Fig. 29). Na anáfase é comum contarmos no início 10, 15, 16 cromossômios mostrando que há alguns mais lentos e outros mais rápidos na sua divisão. Devido ao tamanho diminuto dos cromossômios não nos foi possível fazer um ideograma nem dizer qual a sua ordem em iniciar a divisão.

A idade do macho em que se encontra a segunda divisão é a da pupa com olhos rosa a vermelho.

Na telófase (Figs. 34 a 36) observamos um fenômeno interessante: há um deslocamento dos dois núcleos recém-formados, de modo que um deles se aproxima da membrana celular, força-a e é expulso para fora. Essa segunda divisão dá, portanto, origem a somente um espermatídio funcional, sendo o outro abortivo, desaparecendo tarde, ao iniciar-se a formação do espermatozóide. (Figs. 37 a 39).

É interessante notar as diferentes variações na espermatogênese dos Himenópteros.

Nos *Tenthredinidae* (*Diprion*, SMITH, 1941; *Pteronidea*, SANDERSON, 1933), no gênero *Osmia* (ARMBRUSTER, 1913) e alguns outros não há expulsão de brôto citoplasmático na primeira divisão. No *Telenomus fariol*, Lima (DREYFUS e BREUER, 1944) há divisão desigual no espermatogônio, e a primeira divisão é normal, sendo a segunda a abortiva. Na maioria dos *Aculeata* a primeira divisão resulta na expulsão de um brôto citoplasmático. (*Vespa*, MEVES e DUESBERG, 1908; *Xylocopa*, GRANATA, 1909; *Apis*, MEVES, 1907; *Polistes*, *Melipona*, *Trigona*, KERR, 1947; *Camponotus*, LAMS, 1908). Na maior parte dos himenópteros estudados, cada espermatócito de segunda ordem dá origem a dois espermatídios funcionais (*Diprion*, *Pteronidea*, *Habrobacon*, *Vespa*, *Sirex*, *Polistes*, *Camponotus*, etc. Na super-família *Apoidea* entretanto esse espermatócito de segunda ordem dá origem a somente

um espermátido funcional, sendo o outro abortivo, como é o caso no gênero *Melipona*, que acabámos de descrever. M. J. D. WHITE (1945) diz sobre esse fato o seguinte: "The functional significance of these cytoplasmic phenomena is far from clear. The bees are morphologically the most highly evolved group of the *Hymenoptera*, but they have preserved a remnant of the first meiotic division that has been lost in the far more primitive sawflies. Yet when we come to the second meiotic division the bees seem to have acquired a specialized mechanism whereby the cytoplasm is unequally distributed to the two spermatids, one of which is functionless".

Encadeando os dados da literatura sobre o assunto verificamos que há 4 tipos de espermatogênese entre os *Hymenoptera* segundo o modo de usarem o seu citoplasma. 1) Não há expulsão de brôto citoplasmático (*Tenthredinidae*). 2) Há expulsão de brôto citoplasmático na primeira divisão como em *Vespa*, *Polistes*, *Habrobracon* (TORVIK-GREB, 1935), *Sirex* (PEACOCK e GRESSON, 1931), etc.. 3) Há expulsão de brôto citoplasmático na primeira divisão e aborto de espermátido na segunda divisão (*Apis*, *Melipona*, *Trigona*, *Xylocopa*, etc.). 4) Há divisão desigual do espermátogônio e expulsão de brôto citoplasmático na segunda divisão (*Telenomus*). Com excessão do *Telenomus fariat* que forma um caso um tanto particular, os 3 primeiros tipos acham-se aproximadamente encadeados e correlacionados com o grau de evolução dos grupos que os apresentam, pois, nos *Tenthredinidae*, que são os mais primitivos, não há expulsão de brôtos citoplasmáticos. no *Habrobracon*, nas *Vespas*, etc., há na primeira divisão e nas abelhas há expulsão de brotos na primeira e segunda divisões (um citoplasmático e um nucleado).

RESUMO

A — Cromossômios somáticos

1) Usou-se principalmente gânglios nervosos de larvas, prepupas e tecidos somáticos do ovário de pupas jovens.

2) Descreveram-se os métodos utilizados.

3) Constatou-se que as fêmeas, tanto rainhas como operárias, possuem 18 cromossômios em seus tecidos somáticos.

4) Constatou-se que os machos possuem 9 cromossômios nos seus tecidos somáticos.

5) Constatou-se que a *Melipona marginata*, *Melipona fasciata*, *Melipona schencki* e *Melipona quadrifasciata* pos-

suem o mesmo número de cromossômios. 18 nas fêmeas e 9 nos machos.

6) Verificou-se a existência de células, tecidos e zonas poliplóides em diversas partes do corpo, porém não foram encontradas abelhas poliplóides.

B — Espermatogênese

- 1) Descreveram-se os métodos usados.
- 2) Usaram-se prepupas e pupas jovens até com a idade em que possuem olhos vermelhos.
- 3) O espermatogônio possui 9 cromossômios e resulta em dois espermatócitos de primeira ordem.
- 4) A primeira divisão da meiose é abortiva, havendo expulsão de um bróto citoplasmático, originando portanto somente um espermatócito de segunda ordem.
- 5) A segunda divisão é abortiva, como a de *Apis* (MEVES, 1907), originando um espermatídio funcional e um abortivo.
- 6) Comparou-se a espermatogênese encontrada em *Melipona* com a de outros himenópteros estudados.

6 — DETERMINAÇÃO DAS CASTAS

Existem diversos trabalhos em que se discute o problema da determinação das castas nos insetos sociais: Têrmitas, Vespas, Mamangavas, Abelhas e Formigas, cuja extensa bibliografia pode-se ver nos trabalhos de LIGHT (1943) e WHEELER (1928). Em todos esses estudos constatamos a existência de duas teorias explicativas: blastogênica ou determinação genotípica e trofogênica ou somatogênica, que é a determinação por meio de alimentos ou outros fatores devidos ao meio.

Ninguém duvida hoje em dia, que a casta dos machos, nos Himenópteros, seja geneticamente determinada; com um ou outro caso particular (*Habrobracon*, WHITING, 1940) todos os machos dos Himenópteros são determinados por partenogênese arrenótoca. Esse é também o caso das *Meliponas*, como verificado por sua citologia.

A existência da determinação de castas trofogenicamente já foi constatada em diversos grupos dos insetos sociais, como: Mamangavas, (FRISON, 1928 e OSORNO, 1938), Trigonas, (PEREZ, 1895), *Apis*, (JURINE, 1814 e DZIERZON, 1845) e provavelmente algumas formigas (WESSON, 1940) porém a determinação blastogênica só tem um representante comprovado: o gênero *Melipona* (KERR, 1946).

WHEELER (1937) em sua publicação: "Mosaics and other anomalies among ants", sugeriu a determinação genotípica em formigas devida a certos mosaicos e mutações verificadas principalmente em *Acromyrmex octospinosus*. WHITING (1938) fazendo uma revisão do trabalho de WHEELER interpreta os mesmos indivíduos como inter-castas produzidas por alimentação ou como indivíduos inter-sexuados. Sua interpretação é feita devido pôr em dúvida a existência de um esquema genético que explicasse tal mecanismo. Hoje, de acordo com o que sabemos em *Melipona*, podemos apresentar explicações razoáveis para tais aberrações.

Sobre a determinação das castas no gênero *Melipona* há muito pouco trabalho realizado.

PEREZ (1895) estudando a biologia de *Trigona elavipes*, teve oportunidade de comprovar a formação de rainhas por meio de maior quantidade de alimentos, nessa espécie; PEREZ generalizou suas observações para o gênero *Melipona*, que embora sejam corretas tratando-se do gênero *Trigona* não o são para as *Meliponas*.

IHERING (1903) no Brasil e SALT (1929) na Colômbia já ventilaram a questão das castas nas *Meliponas*. SALT acusou a sua importância biológica e IHERING concluiu de alguns dos fatos expostos que os ovos já estavam determinados no momento da postura.

A esse respeito diz IHERING o seguinte: "É absurdo admitir que as condições exteriores devam determinar o sexo e casta do indivíduo durante a sua fase larval, quando nos *Meliponídeos*, da mesma forma como entre as abelhas solitárias, as células são fechadas, logo ao receberem o ovo, o qual portanto, desde este momento, tem a sua evolução predeterminada. É errado, também suppor que irá depender da quantidade de alimento, si do ovo da rainha deverá nascer uma simples obreira ou uma rainha, quando nas *Meliponas*, num e outro caso, a quantidade de alimento é a mesma".

IHERING achou que a existência de células não diferenciadas para rainhas nas *Meliponas* era de tal importância que a considerou por muito tempo como sendo a distinção fundamental entre *Melipona* e *Trigona*, embora mais tarde, devido a observações incompletas em *Trigona capitata*, tenha mudado sua opinião.

SCHWARZ, um dos maiores especialistas na sistemática dos *Meliponíneos*, na definição do gênero *Melipona* (1932)

inclui o seguinte detalhe: "The virgin queens of *Melipona* do not exceed the worker in size, being usually smaller, with thorax narrower than that of the worker; whereas in other *Meliponidae*, so far as known, the queen has a thorax wider than that of the worker and is a bulkier insect. This reversal in the relationship of the size of the worker and of the queen is probably correlated with the fact that in *Melipona* the queen cells are undifferentiated from those of the worker, whereas in *Trigona* the royal cell is easily recognised by its size" (pg. 260).

Depois dessas sugestões ninguém mais preocupou-se a fundo com este problema, se bem que nos pareça de suma importância não só para a questão especializada da biologia dos *Meliponíneos* mas também para o problema geral da filogenia, da diferenciação social dos Apoidea e outros insetos sociais, como formigas, térmitas e vespas.

Para demonstrar a determinação genética das castas no gênero *Melipona* daremos um resumo de todos os nossos dados até o presente momento inclusive os já publicados. (KERR, 1946).

MÉTODOS

Tomámos favos com número variável de alvéolos, trouxemos ao laboratório, e registramos as castas após as larvas terem-se tornado pupas ou após a abelha emergir da sua célula. Em ambos os casos a diferenciação entre operária e rainha é facilíma.

No caso de serem pupas, reconhece-se facilmente a rainha pelo tamanho diminuto da cabeça e olhos, ou pelo grande abdome. Para saber se é macho ou operária temos que, ou examinar a genitália, que é facilmente diferenciável, ou então contar os artigos das antenas que no macho são em número de 13 e na fêmea de 12. No caso de serem insetos adultos podemos distinguir as operárias das rainhas devido as primeiras serem maiores e de cores mais vivas e acentuadas que as rainhas, e também por ser o formato e tamanho do abdome diferentes. O tórax e principalmente a cabeça são menores nas rainhas.

Não nos é possível fazer as contagens das castas por uma amostra ao acaso da população de uma colônia devido as abelhas matarem as numerosas rainhas logo após seu nas-

cimento desde que não tenham necessidade delas. Por isso estabelecemos o critério de levar os favos para o laboratório e esperar aí o nascimento das abelhas.

MATERIAL

Colônias de: — *Melipona quadrifasciata anthidioides* (LEP., 1836); *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* (LEP., 1836); *Melipona schencki schencki* (GRIBODO, 1893); *Melipona fasciata rufiventris* (LEP., 1836); *Melipona fasciata melanoventer* (SCHWARZ, 1932); *Melipona marginata marginata* (LEP., 1836).

Acrescentámos também dados referentes a *M. quadrifasciata vicina* (LEP., 1836) porém deixámos aqui o aviso que nos foi feito pelo Pe. J. Moure: "sistemáticamente esta subespécie é discutível, pois talvez trate-se de uma simples variação de *M. quadrifasciata anthidioides*". Com exceção da *Melipona marginata* que é um tipo pequeno, os demais são abelhas grandes.

RESULTADOS

Os resultados das contagens foram registrados em dois quadros, um, Quadro III, para as meliponas grandes, (*M. quadrifasciata*, *M. schencki*, *M. fasciata*) e outro, Quadro IV, para a *Melipona marginata*.

Como podemos ver em ambos os quadros (III e IV) há dois períodos na porcentagem de rainhas durante o ano: um, de alta porcentagem e que vai de Setembro a Abril, e outro durante o inverno, de Maio a Agosto, com baixa porcentagem.

Analisaremos em primeiro lugar essa porcentagem alta, que chamaremos normal, em virtude de ser nesse período que a colméia tem o seu máximo de atividade e por as condições ambientes favorecerem o seu amplo desenvolvimento.

Devido a moléstias ou outras influências externas, a porcentagem de rainhas pode ser alterada; êsses resultados foram agrupados no Quadro V para estudos no final dêste capítulo.

Tanto no Quadro III como no Quadro IV chamámos a série de dados dêsse período normal de grupo 1 + grupo 3.

Verificamos que, num total de 1489 abelhas do Quadro III haviam 169 rainhas e 1320 operárias, dando 11,35% de rainhas. Por outro lado, no Quadro IV em 398 abelhas (grupo 1 + grupo 3) existem 87 rainhas e 311 operárias, dando uma porcentagem de rainhas igual a 21,86%. Vemos que esses dados estão muito próximos de duas segregações mendelianas 7:1 (12,5%) e 3:1 (25%). Como o número de indivíduos analisados é bastante grande e foi tomado em diversas amostras pequenas, porém suficientes para testes estatísticos, resolvemos tomar como valores ideais esperados nas análises estatísticas os calculados segundo as proporções 7:1 e 3:1.

Usamos para essas análises o χ^2 teste, e como podemos verificar pelos Quadros III e IV na coluna em que relatamos o resultado do teste, não há significância alguma para os χ^2 sôbre as amostras individuais e nem sôbre o χ^2 para o total (grupo 1 + grupo 3).

A soma dos χ^2 individuais é:

Quadro III (15 amostras)		operárias =	1,7072
		rainhas =	11,9524
		χ^2 =	13,6596
Quadro IV (6 amostras)		operárias =	1,9014
		rainhas =	5,7043
		χ^2 =	7,6057

Também aqui vemos que os dados variam ao acaso ao redor dos valores teóricos estabelecidos (3:1 e 7:1), não havendo qualquer significância, pois os limites são:

para $nf = 15$	(1% = 30,6
	(
	(5% = 25,0
para $nf = 6$	(1% = 16,8
	(
	(5% = 12,6

Temos assim a verificação estatística de que os nossos dados correspondem aos valores teóricos que lhes propusemos.

QUADRO III

SEGREGAÇÃO EM MELIPONAS TRIFATORIAIS

Espécies	Data da postura	Castas ♀		Rainha %	Oper.	χ ²	Ma-chos
		Oper.	Rainha				
Grupo 1							
4-fasc. ant.	16- 2 a 27- 2-46	69	8	10,39	0,0392	0,2744	0
4-fasc. ant.	20- 2 a 5- 3-46	144	18	11,10	0,0357	0,2499	0
4-fasc. ant.	27- 2 a 7- 3-46	52	8	13,30	0,0048	0,0336	0
4-fasc. ant.	6- 3 a 17- 3-46	45	10	18,10	0,2092	1,4644	0
4-fasc. vic.	14- 3 a 26- 3-46	56	4	6,60	0,2333	1,6333	0
4-fasc. vic.	26- 3 a 28- 3-46	29	4	12,10	0,0005	0,0038	0
Grupo 2							
4-fasc. ant.	9- 5 a 16- 5-46	52	2	3,70	0,4775	3,3426	0
4-fasc. ant.	14- 5 a 24- 5-46	73	2	2,67	0,8288	5,8017	0
4-fasc. ant.	28- 5 a 6- 6-46	56	2	3,45	0,5431	3,8017	0
4-fasc. ant.	20- 6 a 1- 7-46	43	2	4,70	0,3337	2,3361	0
4-fasc. ant.	9- 8 a 16- 8-46	79	3	3,66	0,7326	5,1280	1
4-fasc. ant.	12- 8 a 22- 8-46	77	4	4,94	0,5293	3,7052	57
4-fasc. ant.	12- 8 a 17- 8-46	31	2	6,60	0,1564	1,0947	0
4-fasc. ant.	13- 9 a 17- 9-46	85	1	1,16	1,2633	8,8430	0
4-fasc. ant.	16- 9 a 22- 9-46	40	0	0,00	0,7143	5,0000	0

Grupo 3

schenc. schenc.	13	20-9 a 28-9-46	11	4	15	26,66	0,1004	0,7028	75
4-fasc. ant.	2	29-9 a 6-10-46	78	8	86	9,30	0,0097	0,0682	2
4-fasc. ant.	14	26-10 a 10-11-46	57	9	66	13,60	0,0509	0,3560	15
schenc. schenc.	13	28-10 a 2-11-46	71	8	79	10,13	0,3027	2,1191	20
schenc. schenc.	13	6-11 a 13-11-46	41	2	43	4,65	0,1430	1,0014	5
4-fasc. ant.	2	11-11 a 19-11-46	91	8	99	8,08			0
fasc. melan.	16	18-11 a 20-11-46	28	2	30	6,66			0
fasc. rufivent.	17	8-12 a 12-12-46	18	4	22	18,18	0,0024	0,0175	0
4-fasc. ant.	12	13-12 a 23-12-46	156	23	179	12,85	0,0277	0,1938	0
4-fasc. ant.	12	17-1 a 25-1-47	97	12	109	11,01	0,3096	2,1675	7
4-fasc. ant.	12	22-2 a 11-3-47	177	17	194	8,76	0,2381	1,6866	106
4-fasc. ant.	12	10-4 a 23-4-47	100	20	120	16,66			28
Grupo 1		—	395	52	447	11,63	0,0384	0,2687	—
Grupo 2		—	536	18	554	3,25	5,4183	37,929	—
Grupo 3		—	925	117	1042	11,23	0,1936	1,3479	—
Grupo 1 + 3		—	1320	169	1489	11,35	0,2251	1,5756	—

Nota : Os dados do grupo 1 já foram publicados anteriormente (Kerr, 1946 pg. 303 e 304)

Os números que acrescentámos diante da subespécie correspondem ao número da colmeia em nosso laboratório.

QUADRO IV
SEGREGAÇÃO EM MELIPONA MARGINATA

Número	Data da postura	Operária	Castas ♀ Rainha	Total	Rainha %	Oper.	χ ²	Rainha	Ma- chos
Grupo 1									
5	24- 3 a 1- 4-46	34	14	48	29,1	0,1111	0,3333	0,3333	0
5	1- 4 a 14- 4-46	83	27	110	24,5	0,0030	0,0091	0,0091	0
Grupo 2									
5	2- 6 a 18- 6-46	118	11	129	8,4	4,6673	14,0019	14,0019	0
9	8- 6 a 18- 6-46	73	2	75	2,7	4,9877	14,9633	14,9633	0
9	23- 7 a 4- 8-46	158	11	169	6,6	7,7046	23,1139	23,1139	0
5	18- 8 a 25- 8-46	14	0	14	0,0	1,1666	3,4999	3,4999	0
5	21- 8 a 3- 9-46	9	1	10	10,0	0,3000	0,9000	0,9000	45
Grupo 3									
9	18- 9 a 24- 9-46	62	12	74	16,2	0,7613	2,2838	2,2838	0
15	2-11 a 10-11-46	32	6	38	15,8	0,4298	1,2895	1,2895	4
15	2-11 a 10-11-46	39	7	46	15,2	0,5870	1,7609	1,7609	34
15	13-11 a 18-11-46	1	0	1	—	—	—	—	17
15	28-12 a 11- 1-47	60	21	81	25,9	0,0092	0,0277	0,0277	3
Grupo 1	—	117	41	158	25,9	0,0019	0,0569	0,0569	—
Grupo 2	—	372	25	397	6,3	18,5150	55,5470	55,5470	—
Grupo 3	—	194	46	240	19,2	1,0889	3,2667	3,2667	—
Grupos 1+3	—	311	87	398	21,9	0,5234	1,5703	1,5703	—

Nota: Os dados do grupo 1 já foram publicados (Kerr, 1946, pg. 304).

QUADRO V
SEGREGAÇÕES ANORMAIS

Espécies	Data da postura	Castas ♀		Rainha %	Observação	Machos
		Operária	Rainha			
4-fasc. ant.	16-10 a 24-10-46	111	4	3,48	(1)	0
4-fasc. ant.	28-11 a 2-12-46	57	3	5,00	(1)	0
fasc. rufiv.	10-12 a 18-12-46	170	6	3,44	(3)	0
4-fasc. ant.	15-12 a 28-12-46	121	9	6,92	(2)	4
schenc. schenc.	26-1 a 1-2-47	119	5	4,03	(2)	0
fasc. rufiv.	10-2 a 15-2-47	42	0	0,00	(3)	8
4-fasc. ant.	19-2 a 28-2-47	83	2	2,35	(4)	0
schenc. schenc.	25-2 a 2-3-47	147	9	5,77	(2)	2
schenc. schenc.	6-3 a 10-3-47	80	3	3,61	(2)	0
schenc. schenc.	19-3 a 26-3-47	174	9	4,92	(2)	1

(1) Parasitado por Phorídeos (Dipt.) (2) Doenças bacterianas.

(3) Enfraquecida por troca de caixas e por transporte aéreo.

(4) Nesta data (19-2-1947) tirámos um favo de filhos para estudo.

DISCUSSAO

Os indivíduos analisados eram provenientes de 13 colônias diferentes recém-chegadas das matas. Algumas delas após algum tempo perderam suas rainhas, que foram substituídas por outras, portanto fecundadas aqui, e em tôdas elas verificou-se a mesma proporção de castas que vínhamos observando.

Pelos nossos testes estatísticos ficou provado que nas melíponas grandes há uma segregação de 7 operárias para 1 rainha e na *Melipona marginata* há uma segregação de 3 operárias para 1 rainha.

Sendo os machos das melíponas haplóides, como ficou provado por sua citologia, são consequentemente homogaméticos, isto é, todos os seus espermatozóides têm uma mesma constituição gênica. O seu cruzamento com a rainha segue um mesmo esquema que um pai homozigoto em um "back-cross", portanto para explicar as nossas proporções mendelianas devemos idealizar fórmulas que correspondam a uma segregação tipo "back-cross" para quaisquer formas homozigotas, tanto dominantes como recessivas.

Teremos para um "back-cross" bifatorial (3:1) a seguinte situação :

$$AaBb \times aabb = \frac{1}{4} AaBb + \frac{1}{4} Aabb + \frac{1}{4} aaBb + \frac{1}{4} aabb$$

Achamos desde o início que deveríamos considerar a rainha como a "totalmente heterozigota" para os fatores determinantes de casta por ter ela que dar origem a todos os indivíduos da colônia. E' claro que, sendo os machos haplóides, e portanto homogaméticos, de seu cruzamento com uma fêmea homozigota, só poderia resultar uma única casta e nunca qualquer segregação. A única explicação que nos permitirá entender todos os cruzamentos possíveis da rainha com qual-

quer tipo de zangão será considerando-a como a duplo-heterozigota: $AaBb$.

Os machos terão, por serem partenogenéticos, qualquer das 4 fórmulas correspondentes à segregação gônica da rainha: AB, Ab, aB, ab .

As operárias por sua vez têm tôdas as demais combinações que possuam um ou dois fatores em homozigose, como por exemplo:

$$AaBb \times AB = \underset{1 \text{ rainha}}{AaBb} + \underset{3 \text{ operárias}}{(AABB + AABb + AaBB)}$$

Damos no Quadro VI uma expliação mais detalhada mostrando que qualquer que seja o cruzamento considerado, sempre obtemos 3 operárias para uma rainha.

Para explicar o segundo caso, onde a porcentagem de rainhas é ao redor de 12,5% (Quadro III), logo, correspondente a segregação 7:1, é suficiente considerarmos que, nessas espécies (meliponas grandes) ao invés de termos dois fatores determinantes das castas temos três. Desta maneira, a rainha será a tripla-heterozigota: $AaBbCc$, sendo a sua segregação gônica: $ABC, ABc, AbC, Abc, aBC, aBc, abC, abc$.

Os zangões com são originários de ovos não fertilizados terão qualquer uma das 8 constituições citadas. As operárias serão aquelas em que houver um, dois ou três fatores em homozigose. Para ilustrar êsse caso construímos o Quadro VII (tanto o quadro VI como o quadro VII foram transcritos da nossa publicação anterior).

Esses gens para determinação de castas são limitados ao sexo, pois, além de todos os machos serem férteis, não notamos quaisquer diferenças que pudessem caracterizar um dos 8 tipos de machos possíveis.

E' interessante dizer que isto veio comprovar uma hipótese levantada por WHITE (1945) pg. 279 onde lemos: "Recessive mutants that are sex limited in their expression, so that they produce no effect in the male, will be in a special

position in organisms with male haploidy. Such mutations may exist in wild populations for a long while, even though deleterious, since in the males they will not affect the phenotype. This fact may possibly explain why in the social **Hymenoptera** the males are all of one type while the females are differentiated into several castes. We are not suggesting here that the various female castes are genotypically different — merely that a large number of mutants whose effects are limited to the female sex may have accumulated in the species, gradually building up a genotype that is very plastic in the female sex (producing several entirely different phenotypes according to the environment and nutrition of the larvae). In termites, where both sexes are probably diploid (although their cytology has never been fully worked out), the males as well as the females are differentiated into several castes (Light, 1942)".

Estabelecemos portanto, com considerações, o seguinte princípio para a determinação genética das castas: os indivíduos totalmente heterozigotos para os fatores determinantes de casta terão seus órgãos sexuais desenvolvidos, serão férteis, e os indivíduos com qualquer homozigose serão estéreis.

Essa explicação, atribuindo ao genótipo duplo ou triplo heterozigoto um fenótipo diferente dos demais, pode parecer um tanto estranha, porém encontramos certo paralelo em alguns casos da literatura, dos quais citaremos:

GUSTAFSSON (1947) cruzando dois tipos de cevada contendo os gens recessivos *xantha* e *albina* verificou que as plantas di híbridas ($AaBb$) distinguam-se das plantas normais ($AABB$) e das monohíbridas ($AaBB$ e $AABb$) por suas melhores qualidades e maior vigor.

WRIGHT e DOBZHANSKY (1946) mostraram que, em certas condições ecológicas, indivíduos de *Drosophila pseudo-obscura*, heterozigotos para uma inversão, tinham maior viabilidade em competição com as duas formas homozigotas. Essas citações e outras sobre o milho que poderíamos transcrever consideramos paralelas à nossa explicação.

QUADRO VI

AaBb x ab		AaBb x aB		AaBb x AB	
♂ / ♀	ab	♂ / ♀	aB	♂ / ♀	AB
AB	AaBb = rainha	AB	AaBb = operária	AB	AABB = operária
Ab	Aabb = operária	Ab	AaBb = rainha	Ab	AABb = operária
aB	aaBb = operária	aB	aaBb = operária	aB	AaBb = operária
ab	aabb = operária	ab	aaBb = operária	ab	AaBb = rainha

QUADRO VII

AaBbCc x ABC		AaBbCc x ABC		AaBbCc x abc	
♂ / ♀	ABC	♂ / ♀	ABC	♂ / ♀	abc
ABC	AABBCC = operária	ABC	AABBCC = operária	ABC	AaBbCc = rainha
ABc	AABBcc = operária	ABc	AABBcc = operária	ABc	AaBbcc = operária
AbC	AABbCC = operária	AbC	AABbCC = operária	AbC	AabbCc = operária
Abc	AABbcc = operária	Abc	AABbcc = operária	Abc	Aabbcc = operária
aBC	AaBBCC = operária	aBC	AaBBCC = operária	aBC	aaBbCc = operária
aBc	AaBBcc = operária	aBc	AaBBcc = operária	aBc	aaBbcc = operária
abC	AaBbCC = operária	abC	AaBbCC = rainha	abC	aabbCc = operária
abc	AaBbcc = rainha	abc	AaBbcc = operária	abc	aabccc = operária

PROVAS ADICIONAIS

Podemos adicionar aos dados citados mais algumas provas que contribuirão para consolidar nossas conclusões:

1) As rainhas de *Apis*, *Bombus* e *Trigona* diferem das operárias quase somente por seu tamanho e proporções, porém diversas espécies de *Melipona* têm rainhas que diferem das operárias não só em tamanho e proporções mas também na coloração. Como exemplo temos *Melipona quadrifasciata* e *Melipona quinquefasciata*, cujas operárias têm os tergitos pretos com bandas amarelas ao passo que as rainhas são uniformemente coloridas de marron escuro. Esse efeito é difícil admitir-se como produzido pela alimentação.

FRITZ MÜLLER (1875) examinando ninhos de *Melipona coyrepú* Müller, pensou ter encontrado uma espécie parasítica, *Melipona cuculina* Müller, que IHERING (1903), ao rever a descrição, verificou tratar-se da rainha virgem. Esse acontecimento é suficiente para mostrar quão diferentes são as rainhas das operárias.

2) As células donde nascem as rainhas virgens de *Melipona* têm o mesmo tamanho e a mesma quantidade de alimento que as células de onde nascem operárias. Esse fato foi verificado por todos os biólogos que estudaram esse gênero (SILVESTRI 1902, IHERING 1903, MARIANNO 1911, WHEELER 1923, 1928, SALT 1929) e também confirmado amplamente em nossas observações.

3) Todas as células são enchidas com alimento por diversas operárias ao mesmo tempo e logo que os alimentos atinjam um determinado nível, a rainha põe o seu ovo. Esses passos tornariam muito complicada uma possível diferenciação das castas pela alimentação porque não há células diferentes para provocarem um estímulo especial, como em *Apis*.

4) Fizemos em *Apis* e *Trigona* certas observações quanto a posição das células reais nos favos. Em *Apis* verificamos que a grande maioria de células reais são colocadas na parte terminal dos favos e são produzidas em grande quantidade quando por qualquer circunstância a rainha venha a faltar. Nas *Trigonas* as células reais são arrumadas preferencialmente nas margens do favo, porém mesmo que morra a rainha não há acréscimo de células reais, por todas elas serem fechadas após a postura.

Se fôsse a alimentação a determinante das castas nas *Meliponas*, seria de esperar-se uma situação idêntica, isto é, um arranjo preferencial, provavelmente nas margens dos fa-

vos, das células destinadas à rainha. Sob essa orientação tomamos diversos favos com pupas e desoperculámos tôdas as células; após isso tomámos nota da localização das células onde existiam operárias ou rainhas, desprezando as em que haviam zangões. Dêsses favos escolhemos um, de *Melipona quadrifasciata anthidioides*, (Fig. 4) e outro de *Melipona marginata marginata*, (Fig. 42) nos quais as proporções entre operárias e rainhas foram extremamente próximas à segregação ideal 7:1 e 3:1.

Executámos nesses dois favos testes estatísticos procurando provar que a distribuição das células de rainhas é feita ao acaso, isto é, não há qualquer preferência em seu agrupamento.

Para poder executar aqui uma análise estatística temos em primeiro lugar, que reunir os alvéolos em grupos ou amostras, para depois verificar se o aparecimento de rainhas, dentro dêsses grupos, pode ou não ser atribuído ao acaso. Uma vez que a distribuição dos alvéolos não nos indicou "a priori" qualquer método objetivo de agrupamento, escolhemos subjetivamente os princípios para tal finalidade.

Em segundo lugar precisamos resolver como executar o teste estatístico, levando em consideração o número de alvéolos por amostra, que é muito pequeno. Como demonstrado por BRIEGER (1946) podemos usar uma aproximação à distribuição de Gauss mesmo em amostras pequenas desde que um dos tipos apareça com frequência superior a 0,1 (ou 10%). Preferimos entretanto, para os nossos casos, usar distribuições mais exatas, tais sejam as distribuições binominais, em vez de aplicar um teste X^2 ou calcular os desvios relativos.

As considerações teóricas a respeito do que expuzemos acima encontram-se bem detalhadas nos trabalhos de BRIEGER sôbre números mínimos (1947 a) e sôbre amostras pequenas (1947 b), que tomamos como básicos na execução destas análises.

Nas séries de alvéolos que vamos analisar podemos encontrar em cada amostra 0, 1, 2, 3, etc., rainhas. Para calcular as probabilidades de encontrar 1, 2, 3, etc., rainhas nas diversas séries de alvéolos, usámos da expansão do binômio $(q + p)^n$ onde p representa a frequência de ter rainhas, q representa a frequência de não ter rainhas, (ou seja de ter operárias) e finalmente n é o número de alvéolos de cada série. O primeiro termo da expansão do binômio representa a frequência provável de obtermos 0 rainhas no número n de alvéolos considerado; o segundo termo nos dará a fre-

quência provável de encontrarmos 1 rainha, o terceiro de encontrarmos 2 rainhas, o quarto de encontrarmos 3 rainhas e assim por diante. A resolução do Binômio de Newton é:

$$\begin{array}{rcll}
 (q + p)^n & = & q^n & + & 0 \text{ rainha} \\
 & & + nq^{n-1} p & + & 1 \text{ rainha} \\
 & & \frac{n!}{2! (n-2)!} q^{n-2} p^2 & + & 2 \text{ rainhas} \\
 & & \frac{n!}{3! (n-3)!} q^{n-3} p^3 & + & 3 \text{ rainhas} \\
 & & + \text{etc...} & & \text{etc...}
 \end{array}$$

A) Para executarmos a primeira análise (Fig. 4) fizemos a soma dos indivíduos de cada coluna e anotamos o número de rainhas e operárias encontradas nas direções A, B e C. As anotações foram organizadas no Quadro VIII sob o título de "observado".

Como as extremidades eram muito pequenas somamos cada uma delas com a coluna subsequente. A ordem que seguimos para as contagens foi da esquerda para a direita, mantendo a ponta da flecha em questão voltada para cima. Temos, desse modo, uma série de amostras, formadas de 9 a 14 alvéolos e, de acordo com a variação do acaso, podemos esperar em cada amostra 0, 1, 2, 3, etc. rainhas.

As probabilidades nas diferentes amostras podem ser calculadas pela resolução do Binômio, onde p representa a frequência de ter rainhas, que em nosso caso será 1/8 e q representa a probabilidade de não ter rainhas, sendo neste caso 7/8 e, finalmente, n é o número de indivíduos, portanto neste problema será o número de alvéolos: 9, 10, 11, 12, 13 ou 14.

Aplicando a fórmula do Binômio ao nosso caso, para $n = 9$ teremos:

$$\begin{aligned}
 \left(\frac{7}{8} + \frac{1}{8}\right)^9 &= \binom{9}{0} \left(\frac{7}{8}\right)^9 + 9 \binom{9}{1} \left(\frac{7}{8}\right)^8 \cdot \frac{1}{8} + 36 \binom{9}{2} \left(\frac{7}{8}\right)^7 \cdot \left(\frac{1}{8}\right)^2 + \\
 &+ 84 \binom{9}{3} \left(\frac{7}{8}\right)^6 \cdot \left(\frac{1}{8}\right)^3 + \text{etc....}
 \end{aligned}$$

QUADRO VIII

Oper.	Observado Rainhas	Total	Probabilidades calculadas	Significância p/ 1% e 0,1%
Direção A				
11	0	11	23,020%	—
9	1	10	37,583%	—
10	2	12	27,131%	—
9	4	13	5,248%	—
10	1	11	36,174%	—
10	0	10	26,309%	—
11	1	12	34,530%	—
6	5	11	0,633%	duvidoso
12	0	12	20,143%	—
9	1	10	37,583%	—
9	2	11	25,839%	—
12	1	13	32,731%	—
11	1	12	34,530%	—
10	2	12	27,131%	—
9	1	10	37,583%	—
8	1	9	38,659%	—
Direção B				
12	2	14	28,641%	—
9	1	10	37,583%	—
12	0	12	20,143%	—
10	3	13	14,696%	—
10	1	11	36,174%	—
11	2	13	28,058%	—
8	5	13	1,349%	—
11	2	13	28,058%	—
10	1	11	36,174%	—
9	1	10	37,583%	—
12	1	13	32,731%	—
11	2	13	28,058%	—
10	2	12	27,131%	—
10	0	10	26,309%	—
10	0	10	26,309%	—
Direção C				
13	1	14	30,844%	—
10	0	10	26,309%	—
11	2	13	28,058%	—
12	1	13	32,731%	—
10	2	12	27,131%	—
10	1	11	36,174%	—
10	2	12	27,131%	—
11	2	13	28,058%	—
11	2	13	28,058%	—
11	2	13	28,058%	—
10	1	11	36,174%	—
11	2	13	28,058%	—
9	2	11	25,839%	—
8	1	9	38,659%	—
9	2	11	25,839%	—

que resolvido nos dará :

Binômio	Frações	Porcentagens	N. de rainhas
$\left(\frac{7}{8} + \frac{1}{8}\right)^9 =$	0,3007 +	30,07	0
	+ 0,3866 +	38,66	1
	+ 0,2209 +	22,09	2
	+ 0,0736 +	7,36	3
	+ 0,0158 +	1,58	4
	+ 0,0022 +	0,22	5
	+ etc...	etc...	etc...
	1,0000	100,00	9

Calculamos esse binômio para cada um dos números de indivíduos das nossas colunas e achámos os seguintes resultados, que transformámos em porcentagens:

QUADRO IX

Valor de n	Probabilidade em % de encontrarmos :					
	0 Rainha	1 Rainha	2 Rainha	3 Rainhas	4 Rainhas	5 Rainhas
9	30,066	38,659	22,089	7,363	1,578	0,225
10	26,309	37,583	24,160	9,204	2,301	0,394
11	23,020	36,174	25,839	11,073	3,164	0,633
12	20,143	34,530	27,131	12,919	4,153	0,949
13	17,625	32,731	28,058	14,696	5,248	1,349
14	15,422	30,844	28,641	16,365	6,429	1,837

Organizámos os dados no Quadro VIII afim de compará-los. Colocámos os resultados observados nas três primeiras colunas : a primeira para o número de operárias, a segunda para o número de rainhas e a terceira para o total de indivíduos. Na quarta coluna colocámos as probabilidades de encontrar o número de rainhas observado no total de indivíduos de cada linha. Essas probabilidades retirámos do Quadro IX.

Estatisticamente sabemos que o limite de precisão não é um fator absoluto (BRIEGER, 1937, 1945, 1946). Adotámos a fórmula empírica de BRIEGER em que os acontecimentos são considerados improváveis quando esperados com a probabilidade

de de $1/10n$ e prováveis quando esperados com a probabilidade de $1/5n$, sendo n o número de comparações.

Para o nosso caso as comparações são as 46 análises. Por-

tanto um caso esperado com frequência maior que $\frac{1}{5 \times 46}$, ou

seja 0,00435 (0,43%) ainda é possível acontecer, sendo o limi-

te de impossibilidade abaixo de $\frac{1}{10 \times 46}$, ou seja 0,00218 (0,22%).

Se quiséssemos aplicar os limites convencionais, deveríamos considerar, em o nosso caso, como limite de probabilidade o valor 1% e como improbabilidade 1%o.

A aplicação do limite de 5% não tem justificativa alguma em nosso caso, pois um acontecimento esperado uma vez em 20 é possível acontecer em 46 comparações. Dentro dos limites de 1% e 1%o teríamos assinalado um valor na direção A como duvidoso (0,633%), que marcamos no Quadro VIII. Porém a aplicação desses limites convencionais não se justifica, pois um acontecimento esperado teoricamente uma vez em 100 pode ser encontrado em 46 comparações, como demonstrado acima pela fórmula de BRIEGER.

Fora essa justificativa estatística para o nosso valor duvidoso (0,633%), podemos dar uma justificativa biológica: Por uma vista de olhos na coluna em questão, da Direção A, vemos que esses alvéolos estão muito distanciados uns dos outros. Podemos acrescentar pelas nossas observações que nos alvéolos do centro os ovos foram botados cerca de 8 a 12 dias antes dos da beirada, o que sugere a impossibilidade de uma seletividade por parte das operárias. A única coluna que nos levou a suspeitas foi a 5ª da Direção A, onde há em 13 indivíduos, 9 operárias e 4 rainhas, tendo todas, aproximadamente, uma mesma idade; porém constatamos que esse valor é esperado com uma frequência de 5,24%, portanto dentro dos nossos limites.

Uma vez que na análise anterior não levamos em consideração a ordem provável da postura, fizemos outro teste agrupando séries de 14 alvéolos seguindo aproximadamente a época de postura. A primeira amostra é representada pelos 14 alvéolos isolados do centro (Fig. 41), sendo as outras amostras tomadas consecutivamente, de 14 em 14 alvéolos, a partir da rainha supra colocada na coluna 9, sendo a contagem executada em espiral na direção contrária à rotação dos ponteiros do relógio. Para essas amostras de 14 alvéolos temos os se-

guintes números de rainhas: 3-3-3-2-2-3-1-2-0-1-1-1-, sobra-n do uma última série de 11 indivíduos com uma rainha.

Para 14 indivíduos a probabilidade de obtermos:

0 (zero) rainha	é 15,422%
1 rainha	é 30,844%
2 rainhas	é 28,641%
3 rainhas	é 16,265%

e para 11 indivíduos a probabilidade de obtermos uma rainha é 36,174%.

As probabilidades teóricas são tôdas tão altas que não é necessário calcular limites de precisão, podendo concluir que a distribuição dos alvéolos contendo rainhas é ao acaso.

Concluimos dessas análises que "não há qualquer preferência por parte das operárias de *Melipona quadrifasciata* de superalimentar uma zona determinada para provocar aí a formação de rainhas", como seria de esperar se fôsse a alimentação o fator determinante das castas.

B) Para o nosso segundo favo, de *Melipona marginata* (Fig. 42) usámos os mesmos princípios básicos discutidos atrás, porém modificámos o método de agrupamento de alvéolos.

Resolvemos analisar todos os exágonos possíveis, de 7, 6 ou 5 indivíduos em cada um. Começámos nossa contagem na fileira 1, no primeiro alvéolo e traçámos a partir dêle, o exágono que na figura 42 está determinado por uma linha cheia. Anotámos em seguida o número de rainhas existentes nesse exágono (4). Passámos em seguida para o 2.º alvéolo da mesma fileira e traçámos o exágono que vemos com linha pontilhada. Anotámos o número de rainhas (também 4). Passámos depois para a fileira dois; traçámos pelo 1.º alvéolo

o exágono, depois pelo 2.º, 3.º, 4.º e 5.º e anotámos o número de rainhas de cada um que nos deram respectivamente 1, 2, 3, 3, 3.

Na fileira 12 executámos dois exágonos: um com o 3.º e outro com o 4.º alvéolo, dando um duas rainhas e o último 3. Sobraram 10 alvéolos que reunimos em dois grupos de 5. (O 1.º grupo com os primeiros alvéolos das fileiras 8, 9, 10, 11, 12 e o 2.º grupo com os primeiros alvéolos das 15.ª e 12.ª fileiras com o 2.º alvéolo da 12a. e da 15a. fileiras, mais o 3.º alvéolo da 14a. fileira).

Todos os resultados e as probabilidades calculadas reunimos no Quadro X.

As probabilidades foram calculadas pelo binômio $(q+p)^n$ onde p representa a frequência de ter rainhas, que em nosso caso será $1/4$, e q representa a probabilidade de não ter rainhas, sendo neste caso $3/4$, e n será neste caso 5, 6 ou 7 conforme o número de alvéolos de cada exágono.

Vemos nesse Quadro X que não há nenhum caso esperado com a frequência inferior a 5%, sendo pois todos insignificantes, de modo que não precisamos nos preocupar com os limites, de precisão. Deduzimos daí que também em *Melipona marginata*, que segrega 3 operárias para 1 rainha, não há acúmulo de rainhas em nenhuma zona, como acontece em *Apis*, onde a alimentação é o fator determinante da casta fértil.

QUADRO X

N.º da Fileira	Número de rainhas em áreas exagonais com:			Probabilidades calculadas para o número de rainhas encontradas		
	7 alvéolos	6 alvéolos	5 alvéolos	n = 7	n = 6	n = 5
1	4			5,77%		
1	4			5,77%		
2	1			31,14%		
2	2			31,14%		
2	3			17,30%		
2	3			17,30%		
2	3			17,30%		
3	1			31,14%		
3	0			13,35%		
3	0			13,35%		
3	0			13,35%		
3	2			31,14%		
3	4			5,77%		
3		3			10,47%	
3			1			39,55%
4		1			35,59%	
4	2			31,14%		
4	1			31,14%		
4		0			17,80%	
4		0			17,80%	
4	2			31,14%		
4		3			10,47%	
4			2			26,37%
4			1			39,55%
5			1			39,55%
5			2			26,37%
5		1			35,59%	
5			1			39,55%
5			0			23,73%
5	1			31,14%		
5		1			35,59%	
5			1			39,55%
5		2			29,66%	
6			2			26,37%
6		0			17,80%	
6		1			35,59%	
6		1			35,59%	
6		1			35,59%	
7			1			39,55%
7		2			29,66%	
7		1			35,59%	
8			2			26,37%
8			0			23,73%
12			2			26,37%
12			3			8,80%
Resto A			0			23,73%
Resto B			2			26,37%

PROPORÇÃO DAS CASTAS DURANTE O INVERNO

Como já foi mencionado, distinguimos nos Quadros III e IV duas fases na segregação das castas: uma, de Setembro e Abril, que chamamos normal e, como verificamos nos capítulos anteriores, a proporção entre as castas pode ser explicada por duas fórmulas simples.

A outra fase vai de Maio a Agosto, onde a porcentagem de rainhas sofre uma queda brusca para $1/4$ da sua porcentagem anterior. Assim nas espécies que segregavam $\pm 12,5\%$ de rainhas houve uma queda para $\pm 3\%$ e na espécie que segregava $\pm 25\%$ houve uma queda para $\pm 6\%$.

A êsse fenômeno chamamos de "redução na porcentagem de rainhas" e nos nossos Quadros III e IV representamos como: grupo b.

Nos nossos gráficos (Figs. 43 e 44) podemos verificar facilmente que a redução dá-se, normalmente, durante o inverno e que, logo no início de Setembro, há o retorno à segregação normal.

A resolução dêste problema deve estar relacionada com a alimentação e com a temperatura (como podemos ver pelos gráficos das figuras 43, 44 e 45, e pelo quadro V). Trata-se de uma alteração secundária das proporções mendelianas provocada pelas condições adversas do inverno ou por qualquer outro fator que contrarie o bom desenvolvimento das colônias como pragas, moléstias, ou deficiências alimentares.

Um caso de redução semelhante a êsse encontramos em *Lebistes* (WINGE, 1934) onde determinados cruzamentos que deveriam produzir 50% de machos só segregaram assim na primavera, havendo nas outras estações um excesso de fêmeas.

Até agora não sabemos qual será o mecanismo que rege a redução da porcentagem de rainhas nas *Meliponas*. Fizemos porém diversas hipóteses de trabalho para explicar êsse fenômeno, que daremos abaixo com as críticas correspondentes.

a) **Eliminação na fase larval pelas operárias:** — Constatamos que nascem indivíduos de todos os alvéolos, e tomamos cuidado de examinar favos sem nem uma falha, isto é, sem nenhum alvéolo vazio.

Também observamos que, após a postura, as operárias fecham o alvéolo, o qual só é aberto pelo inseto adulto ao emergir.

b) **Oosorção preferencial.** — Influenciados por algumas publicações de FLANDERS (1942, 1945, 1946) sôbre oosorção, pensamos que "no inverno, por falta de alimentação, houves-

se oosorção dos ovos ocasionando diminuição de tamanho nas operárias e eliminação de rainhas".

Esta hipótese foi recusada pela seguinte razão: — A oosorção teria o efeito desejado se somente se desse após a fertilização; porém a fertilização ocorre no momento da postura e, evidentemente, não há tempo suficiente para a degeneração preferencial dos ovos com constituição heterozigota.

Pode ser entretanto que a oosorção facilite a execução do mecanismo que proporemos para a resolução deste problema.

c) **Perdas de cromossômios:** — Devido aberrações citológicas, observadas no macho, pensámos que talvez houvesse uma "eliminação de determinados cromossômios na meiose das fêmeas ocasionando uma homozigotia que daria origem às operárias". Pela contagem de cromossômios de cerca de 50 larvas de *Melipona marginata*, no inverno, e verificado todas possuírem 18 cromossômios, foi rejeitada esta hipótese.

d) **Anormalidades na fertilização.** — Restam-nos ainda alguns processos citológicos que podemos imaginar, todos tendentes a provocar homozigotia, de maneira a nascerem operárias em vez de rainhas. São eles: 1) Fertilização preferencial de modo a nascerem somente indivíduos homozigotos; 2) Desenvolvimento partenogenético, pela falta de fecundação, seguida de fusão preferencial de 2 dos 4 núcleos gônicos de modo a formarem combinações homozigotas; 3) Desenvolvimento partenogenético por qualquer eliminação a posteriori do núcleo masculino, seguida pela fusão preferencial de 2 dos 4 núcleos gônicos; 4) Desenvolvimento partenogenético, como nos casos anteriores, mas agora segue-se a fusão dos núcleos na 1.ª divisão da clivagem.

Destas quatro explicações a mais simples e a mais provável parece ser a última. Essa última hipótese poderia ser descrita mais detalhadamente da seguinte maneira:

Por causa da baixa temperatura ou falta de alimentação, o meio citoplasmático ficaria denso, o núcleo masculino não poderia movimentar-se, o núcleo feminino haplóide faria a primeira divisão embrionária, e os dois núcleos resultantes se fundiriam restaurando o número diplóide. Como esse processo tornaria o indivíduo homozigoto, o resultado seria uma operária. Essa hipótese serve para explicar a redução de rainhas e a quase completa ausência de machos no inverno. Dizemos que explicaria a quase completa ausência de machos porque se a fusão de núcleos na 1.ª divisão da clivagem acontece em ovos já fecundados temos que admitir que o mesmo aconteça em ovos não fecundados. Para comprovar a teoria exposta teremos que executar cruzamentos entre sub-espécies que difiram

por caracteres facilmente comparáveis, porém até agora não nos foi possível executar tal intento. Essa hipótese é a única que tem resistido nossa auto-crítica, devido ser baseada em alguns fatos conhecidos.

Quando a influência de osorção sobre a meiose e primeiras divisões embrionárias não encontramos citações bibliográficas, porém, quanto ao efeito da baixa temperatura lembraremos aqui as experiências de GROSS (1932, 1935) em *Artemia salina*, que usou ovos refrigerados durante a metáfase da I divisão de maturação, provocando em alguns ovos uma distorção do fuso na anáfase de maneira que ambos os grupos de cromossômios permaneceram na célula. Esses ovos utilizados são normalmente partenogênicos, de maneira que originaram indivíduos diplóides. Há também as experiências de FANKHAUSER (1942), GRIFFITHS (1938), MOORE (1941) e outros com *Triturus*, onde o abaixamento de temperatura suprime a segunda divisão de maturação de maneira a originar triplóides quando o óvo é fertilizado.

Quanto à ocorrência de partenogênese feminina nos himenópteros sociais o trabalho principal para o nosso caso é o de MACKENSEN (1943): "The occurrence of parthenogenetic female in some strains of honey bees". Nessa publicação, MACKENSEN relata suas observações sobre a progênie de algumas rainhas virgens de *Apis* em que foram encontradas cerca de 1% de operárias. MACKENSEN conseguiu duas gerações de rainhas obtidas partenogeneticamente.

A partenogênese diplóide nos himenópteros é encontrada tanto nos seus representantes mais primitivos (por exemplo: *Diprion*, SHITH (1941) como nas abelhas sociais; por isso achamos provável seja uma variante desse mecanismo que controle a redução de rainhas nas meliponas.

Na evolução do processo da determinação genética das castas precisamos supor uma evolução paralela de um mecanismo já existente nos himenópteros, tal seja o descrito, para controlar as deficiências da determinação genotípica.

É possível que a hipótese por nós levantada para explicar a redução das rainhas não corresponda à realidade, porém a existência dessa redução é comprovada, e isso nos leva a crer que ela também exista nas formigas e térmitas, o que nos traria à seguinte conclusão: quando quisermos estudar a determinação das castas nas formigas, térmitas, vespas, meliponas, temos que analisar colônias grandes, em ótimas condições de trabalho, em épocas próprias à enxameagem, para evitarmos as consequências de um possível mecanismo de redução de porcentagem de rainhas em existência.

Discussão de casos análogos em *Térmitas* e *Formigas*

Apesar de não termos feito estudos originais em formigas e térmitas até o presente momento, julgamos oportuno incluir aqui uma rápida discussão sobre esse assunto. Pensamos que as novas conclusões a que chegámos, no estudo das *Melíponas*, poderão afetar os atuais conceitos da determinação das castas nos térmitas e nas formigas.

Nos térmitas encontramos castas tanto entre fêmeas como entre machos, que são diplóides.

Devido à existência de castas entre os machos (SNYDER, 1925) podemos supor que os *Térmitas* tenham um mecanismo determinante de castas tipo *Melipona* (os heterozigotos sendo as formas sexuais e os homozigotos para um ou mais fatores as formas estéreis).

A publicação de LIGHT (1943), que é baseada sobre um grande número de "colônias incipientes" de *Térmitas*, principalmente de *Zootermopsis nevadensis* é a favor de uma determinação extrínseca das castas. Achamos porém que o método de estudar "colônias incipientes" pode nos levar a resultados completamente falsos desde que exista qualquer mecanismo de redução idêntico a esse encontrado nas *melíponas*. Portanto aqui também o processo será o de estudarmos os filhos de colônias muito grandes, nada havendo que atrapalhe os seus hábitos.

Sobre as formigas não vamos entrar em detalhes particulares quanto à determinação das castas, mas somente analisar certas publicações que tenham relação com o estudo que fizemos em *Melipona*.

O trabalho que julgamos de mais importância nesse assunto é o já citado de WHEELER (1937), sobre anomalias em formigas. Nesse trabalho WHEELER adota uma teoria genética para determinação das castas a fim de explicar o aparecimento de diversos mosaicos e mutações observados principalmente em *Acromyrmex octospinosus*.

O único ponto que discutimos é o referente aos mosaicos, que podem ser explicados à luz do que sabemos em *Melipona*.

Diz WHEELER: "The occurrence of such anomalies as the gynergates is unusual and their close mosaic resemblance to the gynandromorphs is so surprising as to upset widely accepted views concerning the origin of the latter. It is generally assumed that the gynandromorphs of the *Hymenoptera* develop from fertilized eggs, and various hypotheses have been framed to account for the nuclear determination and eventual distribution of their sexual components. We must obviously

assume as the result of the observations recorded in the preceding paragraphs a similar nuclear and developmental mechanism for the gynergates, but this necessarily implies a genetic determination of the two female casts in the egg. Moreover this early determination must also be attributed to the subcastes of the worker, if we are correct in interpreting the single diploergate as a major and media worker mosaic. We are, perhaps, concerned with a number of polyploid forms, but this is a matter which must be left to the decision of the cytologists and geneticists”.

Esta última frase está, evidentemente, em desacôrdo com o que sabemos sôbre *Melipona*, porém se as anomalias citadas são genéticas, podemos sugerir a seguinte explicação:

a) Gínergatas (mosáicos entre rainhas e operárias): Suponhamos um ovo $AaBb$, que originaria uma rainha. Na primeira divisão embrioníca acontece uma não disjunção do cromossômio que contém A e teremos: um núcleo ABb (que será operária, devido ser puro para A) e outro núcleo $AaaBb$ (que será rainha devido os fatores A e a estarem em heterozigose). Uma perda de um cromossômio que contenha A ou B ou uma mutação de a para A , por exemplo, teriam o mesmo efeito.

b) Diploergatas (mosáicos entre operárias médias e grandes): Em primeiro lugar teremos que assumir que os diferentes graus de homozigotia darão diferentes tipos de operárias nas formigas em questão, sendo maiores as parcialmente homozigotas (tipo $AaBB$) e menores as totalmente homozigotas (tipo $AABB$). Se fôr esse o caso, as diploergatas podem ser facilmente explicadas por uma não-disjunção em uma célula $AaBB$, dando uma zona ABB (operária pequena) e outra $AaaBB$ (operária grande). Como no primeiro caso, perdas de cromossômios contendo êsses gens, ou mutações, também explicarão o fenômeno.

WHITING (1938) revendo o trabalho de WHEELER sugere “that we are here dealig not with sex and caste mosáics but with sex and caste intergrades of another sort, namely, intersexes and intercastes”. “Intersexuality may be caused genetically by race-crossing as in *Lymantria*, or it may result from trophogenic or other environmental influences”. E no fim do seu trabalho lemos: “The single haploid male caste is without question differentiated genetically. As for the various females castes, the reviewer inclines toward the trophogenic theory. Any blastogenic scheme involving hereditary differences would necessitate some system for maintaining in the reproductive members of the pure race genic differences which might segregate to form the sterile castes. Such is conceivable

but doubtful". Como vemos WHITING inclina-se para a teoria trofogenica também por achar duvidosa a existência de uma determinação gênica. E' claro que os mosaicos de WHEELER podem ser explicados como intercastas, porém agora que conhecemos o mecanismo existente nas Meliponas, onde a forma sexuada segrega todos os individuos da colônia, podemos novamente considerá-los e explicá-los como mosaicos verdadeiros.

WESSON (1940) trabalhando com *Leptothorax curvispinosus* chegou à conclusão que as castas das formigas eram determinadas somente por influência do melo. Sua experiência consistiu em submeter dois grupos, A e B, de 44 larvas cada um, após um período de hibernação de 5 meses, a diferentes quantidades de alimentos.

Ao grupo A foi dado superabundância de alimentos e o resultado final foi : 32 rainhas e 3 operárias. Ao grupo B deu-se a quantidade mínima de alimento, suficiente somente para permitir o crescimento da larva, e resultou em : 10 rainhas e 23 operárias. Esses resultados são dos mais convincentes de que temos noticia até agora para provar a formação das castas pela alimentação em formigas, porém mesmo assim podemos admitir a hipótese de que haja determinação genética por 4 motivos : 1) nessa experiência não aparecem intermediárias entre rainhas e operárias, como também não aparecem em outras experiências similares (EZHIKOV, 1934); 2) experiências para produzir rainhas de larvas de *Leptothorax curvispinosus* durante o verão por superalimentação não obtiveram sucesso; 3) a colônia B, subalimentada, produziu 10 rainhas em 33 individuos, o que nos sugere que haviam algumas larvas já predeterminadas a serem rainhas, e com estes dados seria fácil executar um esquema genético como em Melipona; 4) a colônia A superalimentada ainda produziu 3 operárias, o que nos sugere as mesmas considerações acima.

Preferimos, todavia, esperar dados mais completos de WESSON para tirarmos conclusões mais exatas.

Os problemas sobre determinação de castas em formigas são difíceis de serem analisados devido a certas dificuldades da biologia desses himenópteros. Assim, um dos fenômenos que atrapalhariam o estudo de segregações genéticas em certos gêneros é existirem operárias poedeiras. Esse é, por exemplo, o caso da *Oecophylla smaragdina* FABR. (BHATTACHARYA, 1943), da *Aphaenogaster picea* e *Aphaenogaster lamellidens* (HASKINS e ENZMANN, 1945) cujas operárias, não fecundadas, põem ovos dos quais nascem fêmeas, operárias ou rainhas, portanto por partenogênese telitoca. Também sobre operárias

poedeiras lemos no trabalho de TANQUARY (1943) que uma colônia, sômente de operárias, de *Lasius niger americanus* produzia uma larga quantidade de ovos; quando superalimentada, dos quais só resultaram machos, portanto um caso de partenogênese arrenótoca.

Por termos conhecimento do mecanismo de redução da porcentagem de rainhas, podemos supor que em certas formigas a determinação das castas seja genotípica. Por exemplo, em *Atta sexdens*, as primeiras formigas que nascem em um formigueiro novo são operárias, e sômente quando êsse formigueiro aumente de tamanho, é que aparecem rainhas. Poderíamos supor que fôsse a alimentação o determinante dessas castas, porém a falta de intermediárias entre operárias e rainhas (que existem em *Apis* e *Bombus*) e as grandes diferenças existentes entre ambas, indicam-nos serem essas diferenças causadas por fatores genéticos. Acreditamos que não haja formação de rainhas antes de uma certa idade, por causa de um mecanismo de redução tipo *Melipona*.

Como veremos no estudo da filogenia das *Meliponas*, elas são as únicas, dentre as abelhas sociais, que possuem mecanismo genético para determinar as castas, possuindo as demais determinação trofogênica. Entre as formigas, as variações são mais acentuadas que nas abelhas, devido seus hábitos sociais serem mais antigos (WHEELER, 1928), permitindo a coexistência de grupos com determinação genética ou alimentar. Êsse é também o parecer de W. WHEELER como exposto em seu trabalho sôbre anomalias em formigas. (1937, p. 40).

RESUMO

A — São feitas considerações sôbre a determinação das castas nos insetos sociais e examina-se o que foi feito em *Melipona*.

B — Métodos: 1) trouxeram-se favos de cria ao laboratório e anotaram-se as castas após as abelhas terem emergido.

2) Dão-se as diferenças morfológicas entre rainhas, operárias e machos para uma fácil diferenciação.

C — Material: 13 colônias de: *Melipona quadrifasciata anthidioides* (LEP., 1836); *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* (LEP., 1836); *Melipona fasciata rufiventris* (LEP., 1836); *Melipona fasciata melanoventer* (SCHWARZ, 1932); *Melipona*

schencki schencki (GRIBODO, 1893); *Melipona marginata marginata* (LEP., 1836); *M. quadrifasciata vicina* (LEP., 1836).

D — Resultados: 1) os resultados das contagens foram colocados nos quadros: Quadro III (melíponas grandes: *M. quadrifasciata*, *M. schencki*, *M. fasciata*), no Quadro IV (*M. marginata*) e no Quadro V (anormalidades na segregação).

2) Analisou-se estatisticamente e verificou-se que os valores do Quadro III, no período normal, correspondem à segregação, 7 operárias para 1 rainha, e no Quadro IV, correspondem à segregação, 3 operárias para uma rainha.

E — Discussão: 1) Para explicar a segregação 3:1 propôs-se o seguinte: as rainhas teriam a fórmula $AaBb$ e portanto seriam duplamente heterozigotas, os machos teriam tôdas as fórmulas correspondentes à segregação gônica da rainha e as operárias tôdas as fórmulas correspondentes à segregação zigótica da rainha em que houvesse um ou dois fatores em homozigose.

2) Para explicar a segregação 7:1 teceram-se as mesmas considerações, sômente que as fórmulas em vez de serem bifatoriais seriam trifatoriais.

F — Provas adicionais: 1) As rainhas diferem das operárias, além do tamanho, em coloração e formato.

2) As células donde nascem as rainhas são do mesmo tamanho que as donde nascem operárias.

3) As células são enchidas por diversas operárias ao mesmo tempo e, não havendo tamanho diferente de célula, não há possibilidade de um estímulo coordenado.

4) Se fôsse a alimentação que determinasse as castas em *Melipona*, deveria haver, como em *Apis* e *Trigona*, aglomerações de alvéolos de rainhas, provávelmente nas margens dos favos. Feitas as análises estatísticas, constatou-se que as células de rainhas, tanto em *Melíponas* trifatoriais como bifatoriais, acham-se distribuídas ao acaso nos favos.

G — Proporção das castas durante o inverno:

1) Relata-se o fenômeno da queda da porcentagem de rainhas.

2) Cita-se o caso do *Lebistes* (WINGE, 1934) como um caso paralelo.

3) Devido à correlação do gráfico de temperatura (Fig. 45) e de faltas alimentares (Quadro V) com a segregação deduzimos que a redução de porcentagem tem aí a sua origem.

4) Enumeram-se certas hipóteses citogenéticas e biológicas que não resistiram à crítica.

5) Cita-se uma hipótese que até agora tem resistido à crítica. Trata-se de explicar a diminuição da porcentagem de rainhas, como sendo provocada pelo desenvolvimento de ovos por partenogênese diplóide, provocada pela fusão de 2 núcleos haplóides na 1.ª divisão da clivagem.

6) Devido à possível generalidade do mecanismo de redução em outros insetos sociais, consideram-se duvidosas as experiências executadas sem que a colônia esteja num máximo de vitalidade.

H — Discussão de casos análogos em *Térmitas* e *Formigas*:

1) Fazem-se algumas considerações sôbre a determinação das castas nos *Térmitas* e sugere-se um método de trabalho.

2) Analisa-se rapidamente o trabalho de WHEELER (1937) e WHITING (1938) mostrando-se que é possível explicar-se o caso dos mosaicos encontrados em formigas como sendo produto de não disjunção, mutações ou perdas de cromossômios.

3) Analisa-se sumariamente a publicação de WESSON (1940).

4) Devido à existência de partenogênese telitoca nas formigas (BHATTACHARYA, 1943 e HASKINS e ENZMANN, 1945) supõe-se que também exista aqui o fenômeno de redução de rainhas.

5) Concorde-se com WHEELER (1937) que talvez existam nas formigas ambas as formas de determinação das castas: alimentação ou fatores genéticos.

7 — EVOLUÇÃO DO GÊNERO MELÍPONA

Evolução das abelhas

Sobre a evolução dos aculeados (formigas, vespas e abelhas) há muita divergência no assunto. Assim, há autores que acham que eles se originaram de um ancestral comum como os terebrantes enquanto que outros acham que se desenvolveram a partir dos terebrantes. O que nos interessa no entanto, é a evolução das abelhas, e esta encontra-se muito bem estudada atualmente. Admite-se que as abelhas tenham se originado a partir das vespas sphecoideas. As relações entre as abelhas e as vespas sphecoideas são muito antigas, pois essas vespas, tal como existem hoje, já se acham muito especializadas (MICHENER, 1944) "pois através do Terciário as relações entre os Sphecidae e Apidae já eram essencialmente aquelas encontradas presentemente" (WHEELER, 1928, pg. 80).

Como as abelhas são exclusivamente antófilas (exceto algumas espécies parasitas) devem ter-se originado junto com as angiospermas, que aparecem no Cretáceo, tendo porém iniciado sua adaptação antes, "pois nessa época já se encontravam flôres quase idênticas a algumas ainda hoje existentes" (WELLS, HUXLEY WELLS, 1935, pg. 212).

MICHENER, em seu trabalho (1944) sobre morfologia, filogenia e classificação das abelhas, baseando-se nos caracteres morfológicos das vespas sphecóides, organizou uma lista de caracteres que seriam considerados primitivos e os correspondentes especializados.

Com fundamento nessa lista e em diversos caracteres correlacionados executou a árvore filogenética das abelhas. Assim, considerou a tribo Paracolletini como grupo de abelhas mais primitivo, devido a estas possuírem praticamente todos os caracteres tidos como primitivos. De um ancestral do tipo *Paracolletes* derivou as outras sub-famílias dos Colletidae por meio de perdas independentes da área pigdial e da escopa, e também por outras modificações acessórias.

Assim, relacionando um grupo com outro, uma família com outra, procurando quando possível derivá-los de um ancestral comum, foi formada toda a árvore filogenética com as 6 famílias dos Apóidea: Colletidae, Andrenidae, Halittidae, Melittidae, Megachilidae e Apidae.

Vejamos quais foram as considerações de MICHENER para localizar em sua "árvore" a sub-família *Apinae*: "Os *Apinae*, com exceção dos *Euglossini* e *Psithyrus*, são abelhas sociais. Exceto para as formas parasíticas, são todos caracterizados pela posse de corbiculas (nas operárias pelo menos).

Parece que a aquisição de hábitos sociais aumentou grandemente a velocidade evolutiva nessas formas. Em um único gênero como *Trigona*, temos uma imensa variação em estruturas. As diferenças entre as genitálias dos machos de *Apis* e as dos outros *Hymenoptera* são enormes, de tal forma que nessas bases as *Apis* poderiam ser colocadas muito longe de quaisquer outras abelhas. Entretanto, a corbicula, os pendent apicais das tíbias das fêmeas, a ausência de esporões nas tíbias trazeiras, a proximidade do clipeo à base antenal, a primeira veia recorrente que é curta e angulada, além de outros caracteres provam suficientemente a estreita relação entre *Melipona* e *Apis* (MICHENER, 1944, p. 231).

Evolução dos Meliponíneos

Considerando a proximidade dos *Bombini* aos *Apini* e *Meliponini*, tanto por seus caracteres morfológicos externos e internos como por sua bionomia, constituindo um tipo primitivo quanto a seus hábitos sociais, podemos imaginar alguns caracteres que provavelmente existiriam no ancestral comum aos *Meliponini* e *Apini*. Seguiremos aqui o seguinte critério: os caracteres e hábitos comuns aos *Apini* e *Meliponini* considerá-lo-emos coexistentes no ancestral comum, como por exemplo: a falta de esporões no ápice das tíbias posteriores é um caráter comum às *Apis*, *Meliponas*, *Trigonas* e *Lestrimelitas* e portanto deve ter existido no ancestral que lhe deu origem. Nos caracteres em que os *Apini* e *Meliponini* diferirem entre si, porém um deles os tenha em comum com os *Bombini*, consideraremos esses últimos como sendo os existentes no ancestral, como por exemplo: Os *Meliponini* têm olhos glabros e as *Apis* os têm pilosos. Verificamos então que os *Bombini* possuem olhos glabros, portanto os olhos do ancestral comum deverão ser glabros (alguns dados sobre *Bombus* obtivemos consultando as publicações de IHERIG (1903, 1940), FRISON (1927), OSORNO E OSORNO (1938) e recebendo informações verbais do Sr. Domiciano S. Dias).

Seguindo estes critérios estabelecidos podemos relatar os

seguintes caracteres morfológicos que esse ancestral provavelmente teria:

1) Falta de esporões no ápice das tíbias posteriores; 2) 2) tíbias trazeiras das operárias com corbícula (*Lestrimelitta* é um caso excepcional de evolução posterior) 3) lóbulo jugal das asas posteriores bem desenvolvidos; 4) Células marginais das asas anteriores muito longas; 5) pentes apicais nas tíbias das fêmeas; 6) proximidade do clipeo à base antenal; 7) primeira veia recorrente curta e angulada ;8) olhos glabros (comum aos *Meliponini* e *Bombini*), unhas bifidas (comum aos *Apini* e *Bombini*), ferrão bem desenvolvido (comum aos *Apini* e *Bombini*), genitália do tipo de *Bombus* e *Melipona*.

Quanto aos caracteres bionômicos e fisiológicos, este ancestral deveria ter : 1) casta tipo *Bombus* onde as rainhas são produzidas por alimentação; 2) Construção de células individuais de cera para a postura da rainha; 3) Produção de rainhas por meio de células especiais; 4) aprovisionamento em potes e em casulos velhos colocados desorientadamente; 5) Células para operárias e machos do mesmo tamanho e em cachos (Fig. 51); 6) cera produzida por glândulas ventrais e dorsais; 7) matança dos machos no fim do outono; 8) tendência de colocar os filhos no centro, o pólen em seguida e o mel nas extremidades; 9) raspagem de cera dos alvéolos após a larva ter tecido o casulo; 10) enxameação; 11) as células de filhos são fechadas antes do casulo ser tecido; 12) os órgãos genitais femininos possuem 2 ovários com 4 ovaríolos cada um (comum às *Meliponas* e *Bombus*); 13) o aparelho genital masculino possui glândulas acessórias (comum as *Apis* e *Bombus* — (Fig. 46).

Dêsse tipo primitivo originou-se de um dos lados os *Apini* e de outro os *Meliponini*. Os *Apini* se originaram dêsse tipo pelas seguintes modificações : 1) Secreção de cera somente por glândulas ventrais. 2) Nos *Apis* primitivos, as células para machos e operárias são do mesmo tamanho, como na *Apis dorsata*, porém nos mais evoluídos há um tipo de células para cada casta. 3) Aquisição de certos caracteres morfológicos como: olhos densamente pilosos, endopênis muito desenvolvido, genitália um tanto atrofiada. 4) Quanto ao hábito de raspar toda a cera dos alvéolos após ser tecido o casulo praticam-no levemente com os alvéolos de operárias e machos porém o conservam integralmente em relação aos alvéolos das rainhas (ROOT 1943, pg. 629). 5) Criação de um sistema de células organizadas

verticalmente (favos), usando as células tanto para cria como para armazenamento. Devido à observação que fizemos em *M. schencki*, onde operárias de colméias fracas construíram células de cria e as utilizaram para armazenagem podemos aventar a seguinte hipótese: Os Apini primitivos teriam potes porém poderiam também utilizar em caso de penúria os alvéolos de cria para armazenagem. Por quaisquer motivos, na sua evolução perderam os potes ficando somente com os alvéolos para armazenagem; 6) Ovarios com grande número de ovaríolos.

Os *Meliponini* originaram-se do ancestral comum por: 1) secreção de cera somente por glândulas ventrais; 2) células para os filhos, em cachos, sem invólucro, sem espongiosa e com potes de pólen diferentes dos de mel, tipo *Trigona silvestrii* (1). Existe paralelo a esse tipo descrito em algumas *Bombus* européias, como *Bombus pomorum*, onde os potes de pólen são longos e cilíndricos e os de mel pequenos e esféricos. (WHEELER 1923 pg. 128); 3) modificações em certos caracteres morfológicos como: atrofia do acúleo e aparelho venenífero, asas com nervuras mais fracas, unhas simples; 4) mantém o hábito de raspar toda a cera dos alvéolos após ser tecido o casulo pela larva; 5) células para operárias e machos do mesmo tamanho e aperfeiçoamento do sistema de armazenamento em potes; 6) perda das glândulas acessórias (Fig. 46). Desse tipo de *Meliponíneo* primitivo mais aproximado às *Trigonas* que às *Meliponas* e *Lestrimelitas*, originam-se primeiramente as *Trigonas* atuais com sistema de favos horizontais e mais tarde os gêneros *Lestrimelita* e *Melipona*.

(1) As abelhas que possuem esse característico primitivo são as seguintes:

Trigona silvestrii, *Trigona iridipennis*, *T. laeviceps*, *T. varia*, *T. nigra paupera*, *T. muelleri*, *T. ceophloeae*, *T. duckei*, *T. minima*, *T. tímida*. Essas espécies pertencem a 4 subgêneros do gênero *Trigona*: (*Trigona*), (*Tetragona*), (*Hypotrigona*) e (*Plebeia*)

Seus caracteres morfológicos não indicam serem primitivas, porém mantiveram, em sua evolução, esse caráter bionômico nitidamente primitivo, tal seja o de arrumarem suas células em cachos.

É interessante acrescentar que COCKERELL considerava o fóssil *Meliponorytes* muito perto das *Trigonas*, e TOSI, o considerava parecido em alguns caracteres com *Trigona* e *Tetragona*, e em outros as *Meliponas* (SCHWARZ 1948).

Há um detalhe da bionomia dos Apini e Meliponini que aparentemente parece separá-los bastante: trata-se do modo de alimentar a cria. Nas Apis a célula fica aberta durante todo o período em que a larva é alimentada sendo este alimento colocado pelas operárias paulatinamente nas bordas das células e não na boca da larva como fazem as vespas. Nas Meliponas as operárias enchem as células de uma só vez e tapam-nas logo após a postura da rainha. Tanto o hábito das Meliponas como o das Apis parece ser uma modificação secundária posterior de um método comum de alimentação; assim vemos que, para a formação das rainhas, as Apis constroem um alvéolo em forma de um pequeno amendoim, algo semelhante às células reais de Trigona, e enchem essa célula, durante alguns dias, com geléia real, e após esses dias, enquanto a rainha ainda está na fase larval, fecham a célula com cera. Fazendo observações sobre o gênero Apis verificamos que diversas células de rainhas, no primeiro dia em que foram operculadas, contendo larvas não muito adiantadas, estavam cheias até seus 2/3 com geléia real, o que mostra um sistema primitivo de alimentação, muito semelhante ao seguinte: RAYMENT (1935), fazendo observações nas abelhas australianas Trigona cassiae e Trigona carbonaria, mostrou que "while the brood-cell is half-full of food before the egg is deposited... the cells are not sealed at once, and I have many times recorded larvae, up to three days old, feeding in open cradles". Parece-nos que esta observação de T. RAYMENT e aquela que fizemos sobre as células reais de Apis formam o elo que liga os dois tipos de alimentação hoje encontrados.

Antes de discorrermos sobre a formação do gênero Melipona vejamos por alto qual é a distribuição geográfica dos meliponíneos.

As meliponas são restritas às Américas: sua distribuição alcança aproximadamente todo o continente entre 30° de latitude, para Norte e para Sul, excetuando a zona Andina muito elevada. A maior quantidade e variedade de tipos encontram-se na região Amazônica. As Trigonas são entretanto mais espalhadas, se bem que descontinuadamente. Existem nas Américas, nas mesmas condições que as Meliponas, existem na região Indo-maláia, Austrália, Índia e África, (principalmente África Oriental), porém com espécies diferentes das americanas, e geralmente também diferentes entre si.

Essa distribuição descontínua (Fig. 50) somente é compreensível se admitirmos que os meliponíneos, em seus tipos ancestrais, habitavam também as regiões intermediárias. Aliás esses casos de distribuição descontínua entre animais sul-americanos atualmente existentes e africanos, australianos e indo-malaíos, são comuns, como por exemplo: os camelídeos — existem no Sul da Asia, Africa do Norte e região Andina: as antas — existem nas ilhas malaías e Brasil; os marsupiais — existem na Austrália e América do Sul; os peixes pulmonados — existem na Austrália, Africa e Brasil, etc.

Segundo H. G. WELLS, J. HUXLEY e G. P. WELLS (1905) “a distribuição de qualquer grupo de animais terrestres depende de três fatores:

- 1.º — da região onde o grupo surgiu pela primeira vez;
- 2.º — das conexões que essa região tenha ou venha a ter mais tarde, com outras massas continentais;
- 3.º — da sorte que aguarda o grupo, nas diferentes regiões por onde terá de passar”.

Devido aos meliponíneos possuírem rãio de vôo muito restrito, podemos lhes aplicar êstes mesmos princípios, como explicaremos em detalhes:

1.º — Entrando no primeiro fator, temos que levar em consideração os fósseis encontrados e a distribuição das atuais espécies.

Os fósseis que mais nos interessam pertencem ao gênero *Meliponorytes*, meliponíneo do período Mioceno, com as seguintes espécies: *Meliponorytes succini*, *Meliponorytes sicula* e *Meliponorytes devictus*. Os dois primeiros, estudados por TOSI (1896) e recentemente revistos por SCHWARZ (1948, pg. 8 e 9), foram encontrados no âmbar da Sicília. Essa descoberta é muito importante, pois mostra que os meliponíneos foram outrora representados na Europa (WHEELER, 1928), justificando o que dissemos sobre a atual distribuição descontínua dos meliponíneos. A outra espécie de meliponíneo fóssil, *Meliponorytes devictus*, estudado por COCKERELL (1921), foi encontrado no âmbar burmense. Dessa espécie COCKERELL diz o seguinte: This bee can be regarded as directly ancestral to modern *Trigona*, which abounds today in the tropics of both hemispheres (pg. 545)”. Outros fósseis que são de interesse para a derivação dos meliponíneos primitivos são os gê-

neros vizinhos do *Bombus* (1), encontrados no ambar do Báltico, pertencentes ao Oligoceno inferior (COCKERELL, 1909); são eles: *Protobombus* (um tanto puchado ao *Apis*), *Chalcobombus*, *Sophrobombus* e *Electrapis* (considerado por COCKERELL (1909a) como levemente intermediário entre *Bombus* e *Apis*). Temos aí portanto uma indicação de que no início e meados do Cenozóico existiam na Europa, Ásia e América do Norte diversas abelhas sociais primitivas.

Os tipos de *Meliponorytes* e afins constituíam a população dos meliponíneos nesta fase geológica. Assim o primeiro fator fica resolvido adotando-se a hipótese que os primeiros meliponíneos apareceram na Europa ou Ásia no período Oligoceno e eram mais parecidos com as *Trigonas* que com as *Meliponas*. Essa hipótese todavia deve ser aceita com uma certa reserva, devido a coleção de fósseis deste grupo ser muito limitada e duvidosa, e novos achados paleozoológicos podem forçar-nos a mudar essas conclusões.

2º. — Como sabemos pela geologia, a América do Sul esteve ligada à do Norte no Eoceno inferior, para desligar-se logo depois no mesmo período, permitindo uma ampla e variada evolução sem muita concorrência, dos animais que conseguiram entrar na América do Sul nesse intervalo. No fim do Mioceno ou no Plioceno restabeleceu-se novamente a ligação entre os dois continentes havendo um grande intercâmbio dos ani-

(1) — Outras espécies de abelhas sociais fósseis foram descritas, porém quando réexaminadas por COCKERELL ficou demonstrado que na sua grande maioria pertenciam a outros géneros extintos.

Damos aqui uma lista dos principais fósseis descritos e suas respectivas reinterpretações:

Bombus antiquus HEYDEN, *Bombus crassipes* NOVAK, *Bombus grandoevus* HEER. Segundo COCKERELL são extremamente duvidosos.

Bombus jurinei HEER (1867), *Bombus abavus* HEER (1867) — segundo COCKERELL são *Xilocopas*.

Bombus pusillus MENGE — Seg. COCKERELL tem somente 3mms. e não podem ser *Bombus*.

Bombus carbonarius MENGE, *Bombusoides mengei* MOTSCHULSKY (1856) — segundo COCKERELL são irreconhecíveis.

Melipona (vic.) BRISCHKE (1886), *Trigona* sp. BURMEISTER (1832) segundo COCKERELL são absolutamente sem valor.

Apis adamtica HEER (1865) — seg. COCKERELL é *Lithurgus*.

Apis meliponoides BUTTEL-REEPEN (1906) — seg. COCKERELL é um novo género — *Electrapis*.

Apis proava — provavelmente também é um outro género.

mais que haviam evoluído isoladamente nesse largo espaço de tempo. A ligação da África com o continente Eurasiático de maneira a permitir passagens de animais deu-se primeiramente no Oligoceno por pouco tempo, e depois no Plioceno, que também separou-se novamente, se bem que deixando uma pequena via de comunicação: o Istmo de Suez (WELLS, HUXLEY, WELLS, 1935). Também a América do Norte ligou-se com a Ásia no Mioceno, permitindo a passagem para a América de elefantes asiáticos e possibilitando talvez a passagem de meliponíneos.

Vejamos a significação desses movimentos continentais na distribuição dos meliponíneos. A primeira ligação entre as Américas no Eoceno, e entre a África e Eurásia no Oligoceno não nos interessam na distribuição dos meliponíneos por estes não se haverem formado ainda. Portanto a invasão da América do Norte pelos meliponíneos deu-se provavelmente, a partir do Mioceno, a da América do Sul a partir do Plioceno e da Austrália e Arquipélago Maláio em diversas épocas, pois permaneceram muito tempo passíveis de contato com a península Maláia devido as distâncias entre suas linhas serem muito pequenas, ao alcance do vôo dos meliponíneos. Explica-se assim o fato de coexistirem na península e em diversas das ilhas ao redor de Borneo certas variedades de *Trigona* tais como: *T. iridipennis*, *T. fusco-balteata*, *T. apicalis*, etc., (SCHWARZ, 1939). A invasão da África teve lugar do Plioceno em diante, pois permaneceu ligada com a Ásia.

Os meliponíneos americanos não são oriundos de um só ramo; provavelmente no período em que entram nas Américas, entraram diversas espécies pois assim vemos que: o gênero *Lestrimelita* tem representantes americanos (*limão* e *ehrharti*) e africanos (*cubiceps*); o gênero *Trigona* tem representantes tanto nas Américas como na África, Ásia e Oceania, tendo mesmo dois subgêneros comuns à Ásia e às Américas, que são: *Tetragona* (p. ex. *iridipennis* na Ásia e *sivestrii* nas Américas) e *Hypotrigona* (*pendleburyi* na Ásia e *duckei* nas Américas). É interessante notar que essas espécies que citamos como exemplo possuem sistema de arrumar as células de filhos em cachos, o que constitui mais uma prova da antiguidade de tal método.

3º. — O terceiro fator, a sorte que aguarda o grupo nas diferentes regiões onde terá de passar, é também de interesse

para nós devido estarem af as causas da distribuição descontínua atualmente verificada entre os meliponíneos.

Neste ponto deparamos, como principal agente, com as duas glaciações que se deram no Pleistoceno. Essas glaciações tiveram como efeito a extinção dos meliponíneos em todo o hemisfério norte acima de 35° de latitude, ficando os mesmos isolados, dando-se assim a possibilidade de acumularem-se diferenças pelo mecanismo chamado já em 1868 por MORITZ WAGNER como "isolamento geográfico", hoje comum na literatura sobre teorias de evolução (Literatura em DOBZHANSKY, 1944, e BRIEGER, 1944). Com o aumento dessas diferenças formaram-se as diversas espécies de *Trigona* que hoje conhecemos.

Evolução das Melíponas

Propositadamente deixámos para falar no género *Melipona* separadamente. O género *Trigona*, pela sua variabilidade e distribuição muito grandes mostra ser o que se originou primeiro e sugerimos mesmo que sua formação tenha começado do Mioceno em diante.

Quanto ao género *Melipona* podemos dizer que se originou das *Trigonas* mais primitivas, das quais se isolou completamente por motivos genéticos de capital importância, que estudaremos logo mais. Para precisar o período da sua aparição temos sérias dificuldades, porém podemos aventar duas hipóteses: a) originou-se antes do glacial, porém não teve oportunidade de difundir-se, tanto pela quantidade de inimigos que não podia combater sem ferrão, como por quaisquer outras causas; b) originou-se durante ou depois do glacial, no Pleistoceno, e não pôde alcançar a Ásia devido às geleiras.

Desde que não sejam encontrados fósseis de *Melíponas* em períodos pré-glaciais preferimos a última hipótese por duas razões: a primeira é a sua restrita distribuição geográfica e a segunda o fato de serem de uma a três mutações, seguidas de um rearranjo dos modificadores, os determinantes principais da isolação formação do género *Melipona*.

Falta-nos agora, já que falámos sobre o tempo em que se formaram as *Melíponas*, dizer, com base nos dados genéticos obtidos, como se formaram.

Recapitulando rapidamente os resultados desses estudos genéticos podemos afirmar que as *Meliponas* fogem da regra geral dos Apídeos quanto ao processo de determinação das castas. Assim nos gêneros *Bombus*, *Apis* e *Trigona* a alimentação é a responsável pela formação das operárias ou rainhas, ao passo que nas *Meliponas* essas mesmas castas encontram-se pré-determinadas no ovo em virtude de serem o resultado de uma segregação genética. Encontramos entre diversas espécies analisadas dois tipos de segregação: um bifatorial, em *Melipona marginata* e suas variedades e outra trifatorial, comum às demais *meliponas* estudadas. Há formação de rainhas quando os fatores estão em heterozigose ($AaBbCc$) e de operárias quando um ou mais deles se encontra em homozigose (por exemplo: $AABbCc$, $AaBBCC$, $AABBCC$, etc...).

Por êste sumário vemos que existem dois tipos de *Meliponas*: um bifatorial ($AaBb$) e outro trifatorial ($AaBbCc$). Admitimos que existe ou existiu um tipo mais primitivo, de *Melipona* monofatorial (Aa).

Por diversas razões, morfológicas, genéticas e de comportamento, consideramos o tipo *Melipona marginata* com o mais primitivo entre os existentes atualmente.

Sabemos que os principais métodos de origem de diferenças gênicas são através de mutações (ver DOBZHANSKY, 1941 e por rearranjos nos complexos de modificadores (BRIEGER, 1943), podemos sintetisar o aparecimento da *Meliponas* da seguinte maneira:

Numa colônia de uma *Trigona* primitiva ($AABBCC...$) aconteceu de nascer uma operária com uma mutação (a) que em interação com o gen (A) teria os seguintes efeitos: grande desenvolvimento do ovário e alterações nos órgãos sexuais, independentemente da alimentação, e maior precocidade. Como resultado dessa mutação, essa operária teve maior chance de ser escolhida pelo macho e fertilizada. Essa maior chance foi proveniente do fato de ser fértil mesmo em condições de vida precária. (A mutação, além de ser complementar (A com a) deveria ser "sex-limited" não havendo diferenças entre machos (a) ou (A), ambas condições observadas atualmente no gênero *Melipona*).

Após ser fertilizada foi alimentada como seria a rainha, completou o desenvolvimento total de seu ovário e iniciou a postura. Essa fêmea fértil (Aa) foi fecundada por um macho (A), descendente da rainha primitiva e portanto as operárias filhas da nova rainha seriam: 50% AA e 50% Aa .

Tanto os ovos AA como Aa podem dar origem à rainhas, porém com a grande diferença que as Aa tornam-se férteis em quaisquer circunstâncias, enquanto as AA ficam dependentes da alimentação para o seu aparecimento.

Devido ao fator apontado acima, de não precisar alimentação especial para nascer uma rainha, podemos supor que houve uma tendência de seleção favorável para estabelecer a nova situação genética.

Nascendo em qualquer época uma porcentagem de fêmeas férteis independentemente da alimentação (Aa), tornou-se desnecessária a construção de alvéolos reais e as abelhas foram aos poucos selecionadas para um tipo que perdeu a faculdade de construir células especiais para suas rainhas, sendo portanto as fêmeas (Aa) férteis devido sua constituição genética e as operárias estéreis pela mesma razão que sempre foram, isto é, falta de alimentação.

Nas fêmeas de constituição AA, que de agora em diante seriam estéreis, não haveria mais uma seleção para manter sua fertilidade potencial. Sustada a seleção nesse sentido, processou-se lentamente uma mudança no "complexo de modificadores", perdendo essas fêmeas a propriedade de reagir em relação ao alimento real, isto é, que não passariam mais de estéreis para férteis por meio da alimentação. Esse ponto julgamos passível de experimentação e logo que tenhamos material iniciaremos estudos para determinar se não nos será possível transformar operárias por alimentação especial, em rainhas.

Podemos atribuir à mutação de A para a uma vantagem definida: tornar o aparecimento de fêmeas férteis automático e independente da alimentação. Porém esta situação provocou, simultaneamente, uma desvantagem muito grande para as colméias: tornam-se rainhas, 50% de seus habitantes, apesar de somente serem precisas umas poucas rainhas para a manutenção da colônia.

Supomos novamente que o processo repetiu-se pela segunda vez, de forma idêntica, com uma mutação em outro gen (B) para (b), onde a produção de rainhas e operárias segue a fórmula AaBb e não mais Aa.

QUADRO XI

Eras	Períodos	Fósseis e acontecimentos relacionados com a evolução dos Hymenopteros em geral e das Meliponas em particular
Paleozóico	Mississípiano	
	Pennsylvaniano	Protohymenoptera (Sycopteron, BOLTON)
	Permiano	(Protohymen permianus, Permohymen schucherti, Asthenohymen dunbari)
	Triássico	Primeiros hymenopteros (?) (Chalastogastra)
Mezozóico	Jurássico	Ichneumonoides
	Cretáceo	(Angiospermas) abelhas, vespas esteoideas
Cenozóico	Paleoceno	Ligação e separação das Américas (Fósseis de Aculeados)
	Eoceno	
	Oligoceno	Protobombus, Electrapis, Chalcobombus, Sophrobombus, Ctenoplectrella, Glyptapis. Ligação e separação da Africa com o Continente Eurasiático.
	Mioceno	Melipenorytes succini, M. sicula e M. devictus. Ligação da América do Norte e Asia
Recente	Plioceno	Formação dos Istimo de Panamá e Suez (Trigonas)
	Pleistoceno	1a. e 2a. glaciação (Meliponas)
	Recente	

Nota — Além de trabalhos citados no texto foram consultados para a elaboração deste quadro as publicações de: TILLYARD (1924), WHEELER (1928 pg. 29 e 30), WILSON e DONER (1937 pg. 108), ASHMEAD (1901), BRUES (921), COCKERELL (1921).

Temos agora uma certa dificuldade em nosso processo. Antes desta mutação, tínhamos operárias ou fêmeas estéreis da constituição AABB ou aaBB, sendo as fêmeas férteis AaBB. A nova combinação AaBb deveria ter qualquer vantagem especial, sobre AaBB como: maior fertilidade, maior precocidade, mais atrativos ao macho, etc., de maneira que a seleção foi favorável a este novo genótipo. Dêsse modo, das 50% de fêmeas férteis, sempre que necessário, era escolhida uma das 25% que possuíam o alele (b); por isso foram rearranjando-se os gens modificadores que diminuíam cada vez mais a fertilidade da rainha (AaBB) até torná-la igual às operárias.

Essa reversão fenotípica ficará mais compreensível se considerarmos o seguinte: na forma inicial com determinação trofogênica de castas, as operárias poderiam regular a porcentagem de fêmeas férteis, inaptas para os trabalhos corriqueiros da colméia (fabricação de cêra, carregamento de pólen e mel, etc...). Logo após a primeira mutação, estabeleceu-se, como já dissemos, uma seleção a favor dos gens modificadores que acentuariam a fecundidade das rainhas e esterilidade das operárias. Aconteceria, portanto, que nesse tipo 50% dos filhos seriam fêmeas férteis e portanto inaptas ao trabalho.

Tal proporção desfavorável para a manutenção da colméia, só poderia ser regulada pelas operárias, por uma manutenção sistemática da quase totalidade das fêmeas (o que observamos em quase todas as melíponas estudadas). Numa colônia média de *M. quadrifasciata* encontramos cerca de 600 operárias e, conforme a época, aproximadamente 10 rainhas virgens; isso implicaria, se ela fôsse do tipo primitivo (Aa), numa eliminação de 590 rainhas, com todo o prejuízo acarretado na fase larval pela perda de espaço no favo, perda de trabalho, de material nutritivo, cêra, etc. Esse prejuízo contribuiu para dificultar a sobrevivência das espécies de melíponas monofatoriais pois até hoje não encontramos nem uma dêsse tipo. Contribuiu também para um rápido estabelecimento das populações de melíponas bifatoriais.

Nas espécies com determinação bifatorial a porcentagem de rainhas é mais tolerável pois, como vimos, a seleção em direção da reversão fenotípica as levou a perderem somente cerca de 25% da sua população.

As 14 espécies de Melíponas atualmente conhecidas podem ser classificadas em dois grupos: Melíponas grandes, ao qual pertencem 13 espécies e Melíponas pequenas ao qual pertence uma única espécie, *Melipona marginata*, com tipo de de-

terminação de castas bifatorial, cuja evolução acabamos de descrever.

Das 13 espécies do outro grupo foram analisadas 3: *Melipona quadrifasciata*, *Melipona schencki*, *Melipona fasciata* tôdas pertencendo a um tipo trifatorial cuja origem vamos discutir em seguida.

Para explicar a origem desse tipo trifatorial temos que repetir as considerações feitas para o tipo bifatorial e supor que o processo repetiu-se uma terceira vez pela mutação do gen (C) para (c), com os mesmos detalhes citados para a mutação de (B). De novo o tipo totalmente heterozigoto (AaBbCc) ofereceria vantagens à seleção de modo a se estabelecer havendo também a reversão fenotípica nas antigas rainhas heterozigotas apenas para os fatores (A) e (B), que também se tornaram idênticas as operárias.

A determinação trifatorial restabeleceu a porcentagem de rainhas férteis aproximadamente àquela existentes nas colônias de abelhas com determinação fenotípica, pois somente 12,5% do de fêmeas são rainhas e as 87,5% restantes são operárias.

Resumindo podemos dizer que, nesse problema relatado, aplicamos dois princípios:

1º. — Supomos, de acôrdo com nossas observações, que a forma heterozigota (Aa, AaBb, AaBbCc) é sempre mais fértil que suas correspondentes que possuam qualquer fator em homozigose.

Como já dissemos no capítulo anterior, pode nos parecer estranha a hipótese de que a forma heterozigota tenha diferenças qualificativas notáveis ou vantagens na seleção sôbre as formas completa ou parcialmente homozigotas: existem porém na literatura diversos casos que também já comentamos, onde foi encontrada essa situação, dos quais citaremos novamente:

GUSTAFSSON (1947) estudando o comportamento de dois mutantes em cevada, "xantha" e "albina", demonstrou que os heterozigotos diíbridos são superiores aos monohíbridos e êstes são superiores aos homozigotos normais com respeito a diversos caracteres: número de espigas, número e pêso de grãos, sendo, por exemplo, o número médio de grãos para diíbridos 114,16, para os dois monohíbridos 104,76 e 104,66 para os homozigotos normais 96,62. Os homozigotos "xantha" e "albina" são letais.

WRIGHT e DOBZHANSKY (1946) mostraram em *Drosophila pseudo obscura*, que os heterozigotos para aberrações estruturais de cromossômios apresentam um valor seletivo su-

perior aos homozigotos, para determinadas temperaturas (25°C).

2º. — Supomos um processo de "reversão fenotípica" em que, após uma dada mutação, há uma recombinação de modificadores que leva o tipo fértil antigo para a categoria de operárias estéreis. Para citar um caso análogo e paralelo lembraremos o fato muito comum em experimentos de seleção, onde certos tipos escolhidos, numa determinada seleção rigorosa, tendem a desaparecer em consequência de um reagrupamento de genes modificadores logo que cesse essa seleção intensiva.

Também podemos citar casos de modificação do efeito do gen quando há mudança do "complexo de modificadores", como foi demonstrado por BRIEGER (1929) em cruzamentos de *Nicotiana* e em 1930 por HOLLINGSHEAD em *Crepis*. Em ambos os casos trata-se de um gen letal ou sub-letal sem efeito nas espécies puras porém com efeito fenotípico no híbrido.

Temos também os casos em que há alteração fenotípica por seleção do "complexo de modificadores" como demonstrado por WINGE (1934) em *Lebistes* e por BRIEGER em milho (1943).

Casos análogos são aqueles em que os modificadores em vez de causarem uma mudança qualitativa como os supracitados, alteram a dominância de determinados genes, como por exemplo foi verificado por BRIEGER e FORSTER (1943), em cruzamentos de *Nicotiana tabacum*, com referência ao caráter "petiolaris" e sésil das folhas.

Sintetizando as vantagens que o processo seguido na evolução das melíponas lhes trouxe, temos:

a) a determinação genotípica em vez da fenotípica para a fertilidade das fêmeas, garante a sobrevivência da espécie, mesmo em condições desfavoráveis à alimentação.

b) A reversão fenotípica dos heterozigotos mais simples para fêmeas estéreis ou operárias, corrigiu os defeitos ocasionadas pela determinação mono e bifatorial, isto é, o aparecimento de um número desnecessariamente alto de rainhas.

c) a determinação multifatorial substitui satisfatoriamente o controle de frequência das fêmeas executado pelas operárias na alimentação das larvas em espécies com determinação trofogênica.

Adicionalmente desenvolveu-se ou aperfeiçou-se mais um outro processo regulativo que impediu a formação de grandes quantidades de fêmeas férteis em ocasiões impróprias, como no inverno, por exemplo. Verificamos, que nas Melíponas a porcentagem de fêmeas férteis (rainhas) cai aproximadamente para 1/4 da proporção mendeliana esperada em épocas

em que aconteceu desarranjos na colméia, ou escassês alimentar, ou inverno, etc.. Assim nas formas trifatoriais encontramos aproximadamente 3,5%, em vez de 12,5% e nas raças bifatoriais 6,5%, em vez de 25%.

A *Melipona marginata*, única espécie bifatorial que conhecemos, é relativamente polimorfa, e possui oito subespécies.

Há duas espécies de *Meliponas* que são muito parecidas morfológicamente com a *Melipona marginata*. Trata-se de *Melipona puncticollis* e *Melipona concinnula* (esta última parece ser uma subespécie da primeira). Fomos incapazes até agora de conseguir colônias dessas espécies que por isso não consideraremos, na hipótese abaixo.

Excluídas estas duas espécies, pensamos que a *Melipona* trifatorial mais primitiva seja do "tipo" da *Melipona fasciata* pelas seguintes razões :

a) é a espécie que em comportamento, variação e coloração mais se aproxima a *M. marginata*.

b) é a de distribuição mais ampla.

c) é a espécie que contém maior número de subespécies como podemos ver pela seguinte lista que extraímos dos trabalhos de SCHWARZ (1932, 1938) :

<i>Melipona fasciata</i>	22 subespécies
<i>Melipona interrupta</i>	8 subespécies
<i>Melipona favosa</i>	7 subespécies
<i>Melipona quadrifasciata</i>	2 subespécies
<i>Melipona beecheii</i>	2 subespécies
<i>Melipona schencki</i>	2 subespécies
<i>Melipona flavipennis</i>	1 subespécie
<i>Melipona mandacáia</i>	1 subespécie
<i>Melipona quinquefasciata</i>	1 subespécie
<i>Melipona subnitida</i>	1 subespécie
<i>Melipona rufipes</i>	1 subespécie

Temos entretanto de expôr que essa grande variação encontrada na *Melipona fasciata* pode ter outras explicações além da que lhe admitimos, de ser a forma mais variável devido ao maior espaço de tempo que teve a disposição para acumular mutações. Esse mesmo fato poderia ser explicado como uma espécie que tivesse entrado em evolução explosiva ou também de um conjunto de formas derivadas de cruzamentos interespecíficos recentes. Talvez para o futuro, quando executarmos cruzamentos interespecíficos, possamos elucidar esse ponto.

Para finalizar diremos que supomos que a Bacia Amazônica é a zona mais provável de ter sido o centro de origem das Melíponas, e indicamos para afirmar este ponto de vista os seguintes motivos:

1.º — A Bacia Amazônica é o atual centro geográfico da área habitada pelas Melíponas. Em se tratando de um gênero recente, como o prova a sua distribuição restrita, parece-nos razoável supor que ele permaneceu em sua zona de origem, e não se concentrou aí secundariamente como refúgio, como aconteceu com muitas espécies que foram expulsas de seu "habitat" natural durante as glaciações.

2.º — A Bacia Amazônica é a zona onde há maior variação (1), o que podemos julgar pelo número de espécies, subespécies e variedades aí existentes. Para comprovar o que dissemos extralimos de diversos autores os seguintes dados:

a) Em 60 subespécies de Melíponas analisadas por SCHWARZ (1932, 1938) constatamos que: 26 habitam somente a Bacia Amazônica; 6 habitam a Bacia Amazônica mais as regiões ao Sul (incluindo o nordeste brasileiro); 2 habitam a Bacia Amazônica e a parte norte (América Central); 16 habitam somente a parte sul (nordeste incluso) e 9 habitam somente a parte norte.

Portanto, de um total de 60 temos que: 34 habitam a Bacia Amazônica, 11 a parte ao norte e 22 a parte sul.

b) Em 22 subespécies analisadas por DUKE (1916) temos: 13 habitam a Amazônia, 13 a parte sul, uma a parte norte.

c) MARIANO FILHO (1911) fazendo um estudo das abelhas do Brasil Meridional descreve em 25 espécies e subespécies: 15 do Brasil Meridional e 11 de Amazônia; porém quando trata da distribuição das Melíponas em geral escreve: "pode-se adiantar que no Brasil Septentrional (Amazônia, etc.) se encontram relativamente mais numerosos representantes do gênero Melípona" (p. 13).

Assim, aplicando os princípios clássicos de DE CANDOLE e VAVILOV, pensamos que a localização por nós proposta para o centro de origem das Melíponas acha-se suficientemente justificada.

As nossas considerações sobre a evolução do mecanismo

(1) — Z. P. METCALF (1946), em sua publicação "The center of origin theory (Journ. El. Mitchell Sc. Soc. 62 (2): 149-175), admite que, os gêneros tenham centros de origem do mesmo modo que as espécies, e que na natureza êles ordinariamente não se espalham muito depressa para além dos limites das suas regiões zoogeográficas.

da determinação das castas nas *Meliponas* têm que ser essencialmente hipotéticas, porém demonstramos que essas explicações são perfeitamente possíveis tendo nossas bases em princípios utilizados nas considerações filogenéticas, tais sejam: seleção, mutações e mudança no complexo de gens modificadores.

RESUMO

1.º — Cita-se a evolução das abelhas segundo MICHENER (1944).

2.º — A evolução dos *Meliponíneos* é estudada sob o ponto de vista da sua biologia, estabelecendo-se o tipo do *meliponíneo* primitivo.

3.º — São feitas considerações sobre a distribuição geográfica dos *meliponíneos*, entrando-se em detalhes sobre os seus fósseis, sobre a influência dos deslocamentos geológicos do cenozóico sobre sua distribuição, com particular referência ao seu estabelecimento na América do Sul. Considera-se também o efeito das glaciações e a descontinuidade por ela provocada na distribuição dos *meliponíneos*.

4.º — São feitas hipóteses sobre a época em que se formaram as *Meliponas*, sobre o processo de determinação das castas e sua influência na evolução das mesmas. O tipo *M. marginata* é considerado o mais primitivo dos existentes atualmente.

É dada uma hipótese, baseada na biologia e genética das *Meliponas*, para explicar sua evolução a partir de uma *Trigona* primitiva.

5.º — Sugere-se que a *M. fasciata* (excluídas a *M. puncticollis* e *M. concinnula*, que necessitam de estudos) seja do tipo da *Melipona* trifatorial primitiva, tomando-se por base a sua proximidade a *M. marginata*, sua distribuição e sua variação.

6.º — Sugere-se como centro de origem das *Meliponas* a Bacia Amazônica, por ser esse lugar a zona onde há maior variação e por ser o centro geográfico da área habitada pelas *Meliponas*.

8 — SUMMARY

Studies on the genus *Melipona*

1 — Introduction and acknowledgements.

2 — Systematics.

Three modern trends in the systematics of the *Meliponini* are cited: Ducke (1916), Schwarz (1932) and Moure (1946); The 14 species known of the genus *Melipona* are given.

3 — Contribution to the Biology.

There are three castes in *Melipona*: drones, workers and queens, which are easily distinguished on account of the differences in size, color, proportions and behavior.

While the queen of *Apis* emerges in a state of sufficient development to be fertilized and to begin the laying of eggs, the queen of *Melipona*, on the other side, in a glance seems undernourished, get having received the same food as the workers, both in quantity and in quality. They emerge with undeveloped ovaries and, only after the fertilized queen is dead or too old, virgin queens may be fertilized and begin to be fed by workers. After 15 to 30 days, according to the number of workers and the food gathered, the queen begins to lay eggs.

The queens, drones and workers emerge from cells of the same size and with more or less the same quantity of food. Variations of the quantity of food do not change the caste, but only the size of the bee.

The caste determination in *Trigona* (another genus of *Meliponini*) depends evidently upon differences in nutrition. It is easily seen that the cells which furnish drones and workers are different in size, though equal in form, from those from which emerge the queens.

Some data concerning the biology of the *Meliponini* are given below:

1st — The number of eggs laid by a queen:

Melipona quadrifasciata anthidioides — in 44 days (July 9th to Aug. 22nd — 1946) 590 eggs, with an average of 13 eggs per day, and a maximum of 22 eggs per day.

Trigona (Plebela) mosquito, (Mirim-guassú) — from July 9th to July 24th 1946, 249 eggs. From Aug. 9th to Aug. 24th,

1946 laid 1035 eggs; with an average of 69 eggs per day and a maximum of 120 eggs.

2nd) — A table is given showing the percentage of drones observed in the total of individuals in samples of brood combs. (See Quadro I and Quadro II).

3rd) — The duration of the several phases in the lives of the *Melipona* workers and queens is:

Phases	Worker	Queen
Hatching of the egg	4,5 to 6,5 days	4,5 to 6,5 days
Larva	7 to 8 days	7 to 8 days
Prepupa	5 to 5,5 days	4,5 to 5 days
Pupa	15,5 to 18 days	11,5 to 15 days
Total, from egg to imago	34 to 37 days	30 to 34 days

It is mentioned that the *Meliponini* constructs large honey and pollen pots of characteristic size and form both in natural hives and in experimental colonies in wooden boxes.

The workers in weak colonies of *M. Marginata* and *M. schencki* produce little wax, and exceptionally, use brood cells for storage instead of pots, showing that their reactions are very variable.

Other details of the brood cell, such as brood cells disposition, construction, destruction, etc., are discussed.

4 — Anatomy of the reproductive organs.

The sexual organs of the male consist of: a) Two testicles enveloped by a thin membrane, each of the testicles formed by four testicular tubes, b) two vasa deferentia, c) two vesiculæ seminales, which are spherical and very small, d) one ejaculatory duct and e) the penis. There are no accessory glands as in *Apis* and *Bombus*. (BORDAS, 1895) See Fig. 6 and 46).

The reproductive organs of the female consist of: a) two ovaries, each formed by four ovarioles. The length of these ovarioles is: 1,7 to 2,0 mms. in the worker or sterile female, 11,1 to 11,5 mms. in the virgin queen and 76 mms. in the fecundated queen (measures taken on *Melipona fasciata melanoverter*), b) two oviducts, c) vagina and d) spermatheca with a pair of glands. This same description is applied to *Trigona* and *Bombus*, varying the proportions.

5 — Cytology

Studies on the cytology of the genera *Melipona* and *Trigona* were carried out. Ovaries of the pupas, queens and workers, testicles of prepupas and young pupas of drones, brains and other somatic tissues of larvae were examined. The details of the technique and the results are given.

The somatic tissue of the females, both queens and workers, presents 18 chromosomes. The spermatogenesis is normal, following the type described for *Apis* by Meves (1907) with expulsion of a cytoplasmatic bud in the first division, and a nucleated bud in the second.

The spermatogonia and spermatids show 9 chromosomes. Polyploid cells and tissues are frequent, even in the testicles but polyploid secondary spermatocytes do not go through a second meiotic division. No polyploid individuals have been found as yet. The number of chromosomes is the same in all *Melipona*, studied: *M. fasciata*, *M. marginata*, *M. schencki* *M. quadrifasciata*, i. e. 18 in the female and 9 in the male.

6 — Determination of castes of queen and worker.

There are many papers discussing the problem of caste determination in the social insects (Bibliography in the papers of Light, 1943 and Wheeler, 1928). Two theories come always under discussion: a) the Blastogenic or genotypic determination and b) the Trophogenic or somatogenic one. In the first case, special genes are supposed to be responsible while in the second case the determination is by means of food or other environmental factors.

No one doubts today that the caste of males in Hymenoptera is genetically determined by arrhenotoky, with very few exceptional cases. The *Melipona* bees do not escape this rule, as shown by chromosome counts. The opinions are however divided with regard to the female castes.

There is at present a trend attempting to prove the trophogenic theory, by means of comparisons, analogies and generalizations. The studies of Perez (1895), Ihering (1903), Salt (1929), Schwarz (1932) and Kerr (1946) are cited in this connection.

Methods: Combs with a variable number of cells were taken into the laboratory and the caste of each bee was registered in the pupal stage or a short time after emerging.

The proportions of queens cannot be determined by sam-

pling in the colony, because numerous queens are killed soon after emerging from their cells.

Material used: Hives of *Melipona quadrifasciata anthidioides* (Lep. 1836), *M. quadrifasciata vicina* (Lep. 1836), *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* (Lep. 1836), *Melipona fasciata rufiventris* (Lep. 1836), *M. fasciata melanoventer* (Schwarz, 1932), *M. marginata marginata* (Lep. 1836), *Melipona schencki schencki* (Gribodo, 1893).

Results: — The results of the counts are registered in two tables, one referring to large *Meliponas* (Table III) and the other to *Melipona marginata* (Table IV).

In consequence of abnormalities in the conditions we may alter the proportions and results obtained, given in Table V, will be discussed later.

As it may be seen, there are in each case (Table III and IV) two groups in the percentages of queens over the total number of females: one with a high percentage, corresponding to the period from September to April and the other of low percentage, during the dry season (May to August).

We shall analyse in the first place the high percentage group which occurs in the time where the hive has its maximum of vitality.

Both in the Tables III and IV, the data of this normal period are called group 1 + group 3. In a total of 1489 bees of the Table III, we have 169 queens and 1320 workers, or 11,35% of queens. In the other Table IV there were in a total of 398 bees (group 1 + group 3) 87 queens and 311 workers, or a percentage of 21,86%.

It was found in the preliminary statistical analyses (Kerr, 1946), that for the percentage of the queens, in the first case, a value of 12,5% may be accepted as mean and in the second a value of 25%.

As may be seen in the Tables III and IV, all the results agree with these means and vary around 12,5% respectively agree with these values and vary around 12,5% and 25% respectively as proved by the χ^2 -test.

EXPLANATION

The proportion of 75% of workers to 25% of queens corresponds to a mendelian bifactorial back-cross ratio of 3:1.

Since in the Hymenoptera the males are always haploid and thus produce only one genotype in their gametes, they behave in crosses in the same way as a diploid homozygote. Furthermore, since we obtain a bifactorial segregation, it fol-

lows that the queen must be a double heterozygote. Thus we may represent the reproduction in these bees by any one of the following formula :

$$\begin{array}{l} \text{Queen} \times \text{Drone} = 1 \text{ Queen} + 3 \text{ Workers} \\ \text{AaBb} \times \text{AB} = \text{AaBb} + \text{AABB} + \text{AABb} + \text{AaBB} \\ \text{AaBb} \times \text{Ab} = \text{AaBb} + \text{AABb} + \text{AAbb} + \text{Aabb} \\ \text{AaBb} \times \text{ab} = \text{AaBb} + \text{Aabb} + \text{aaBb} + \text{aabb} \end{array}$$

In order to explain the second case, where the proportion of queens is around 12,5% Table VII it is sufficient to assume that in this species there are three pairs of factors, the queen being the triple heterozygote : Aa Bb Cc.

Our formulas may now be written as follows :

$$\begin{array}{l} \text{Queen} \times \text{Drone} = 1 \text{ Queen} + 7 \text{ Workers} \\ \text{AaBbCc} \times \text{ABC} = \text{AaBbCc} + \text{AABBCC} + \text{AABbCc} + \text{AABbCC} + \text{AABbCc} + \text{AaBBCC} + \text{AaBBCC} + \text{AaBbCC} \\ \text{AaBbCc} \times \text{aBC} = \text{AaBbCc} + \text{AaBBCC} + \text{AaBBCC} + \text{AaBbCC} + \text{AaBbCC} + \text{aaBBCC} + \text{aaBBCC} + \text{aaBbCC} + \text{aaBbCC} \end{array}$$

There is at the moment no possibility to confirm experimentally these formulas since we have not yet discovered any linked character. Though we may expect any proportion under the conditions of a phenotypic determination of castes, the occurrence of two related mendelian ratios cannot be attributed to a mere accident. The failure to encounter the third related mendelian proportion, of a monofactorial segregation (1:1), will be explained later.

Thus we conclude that fertile females or queens are only the bees which are completely heterozygous, while both in the bifactorial as in the trifactorial case the workers are the individuals which are homozygous for one or more factors, e. g. AAbb, aabb, AaBB, aabbcc, AaBbCC, etc.

We have not been able to find any identical case in the literature, but we may interpret the situation as an example of heterosis or hybrid vigour. Thus the experiments of Wright and Dobzhansky (1946) on *Drosophila pseudoobscura* and of Gustafsson (1947) on barley may be cited as parallel cases.

Additional Proofs :

In addition we cite some observations which may be considered as an additional proof of our hypothesis:

1) The queen of *Apis* is different from the workers only in size and proportions, but queens of the several *Melipona* species are different not only in size and proportions, but also in color. In *Melipona quadrifasciata*, for instance, the workers have black abdomen with broad yellow bands while the queen is brownish black all-over. This effect is difficult to attribute to alimention.

Fritz Müller (1875) examining nestes of *Melipona coyrepú*, Müller, thought he had found a parasitic species, *M. cuculina*, Müller, but when revised by Ihering (1903) it was found to be the virgin queen. This is sufficient to show how different the queens are from the workers.

2) The cells of *Melipona* queens have the same size and the same quantity of food. This fact was verified by all the biologists who studied this genus (Silvestri 1902, Ihering 1903, Marianno 1911, Wheeler 1923, 1928, Salt 1929) and also extensively confirmed by the author.

3) The cells of *Melipona* are filled with food indiscriminately by several workers and after this operation is completed, the queen lays the egg. Thus it seems impossible to assume that there may be any systematic difference in the food distribution because there are no specialized cells with different sizes to provoke the specific reaction on the part of the worker like in *Apis*.

4) In *Apis* as in *Trigona* observations were made on the disposition of royal cells in the comb and it was found that it is notat random. On the contrary, in *Apis*, the great majority of royal cells are placed in the inferior terminal part of the comb and are produced in a large scale only when the queen is dead. In *Trigona* bees the royal cells are preferentially on the edges of the comb but when the queen has died no increase of these cells is possible since all are already filled with food and sealed. If food should be the determining factor in *Melipona*, it should be expected that the queen cells would be localized in some kind of preferential grouping in the comb; but counting was made of two combs, one of *M. quadrifasciata* and other of *M. marginata*, with respectively 189 and 85 cells, and the cells which gave workers and those which gave queens were noted. The statistical analysis showed that the distribution

of cells from which queens were born is at random with no preferential grouping.

Proportions of the castes during the winter.

As it was related, in the period from May to August the percentage of queens falls from 12,5% and 25% to nearly 3% and 6% respectively, as one can see in the Tables III and IV.

One case of reduction of percentages well known is of *Lebistes*, discussed by Winge (1934).

The mechanism that causes the reduction in the percentage of queens is unknown so far, but several hypothesis are discussed:

a) Elimination of queens by the workers, during the larval stage, does not occur, since all cells are sealed after egg laying and are not opened again before emerging.

b) Preferential oosorption of the eggs which should give queens — This hypothesis was rejected since there is not sufficient time after the fecundation for a preferential degeneration of eggs.

c) Loss of chromosomes — Cytological aberrations were observed in two males, but this cytological hypothesis can be rejected for the females because counting the chromosomes of nearly 50 larvae during the winter we found that all of them had 18 chromosomes.

d) Abnormalities during the fertilizations:

1) Preferential fertilization.

2) Parthenogenetic development with preferential fusion of two haploid nuclei or fusion of cleavage nuclei.

3) Elimination of the spermatozoa in the cytoplasm of the egg which is denser, owing to the shortage of food given to the queen or to low temperature. To restore the diploid number there are two ways: There may be either a preferential fusion of meiotic nuclei or a fusion of first cleavage nuclei.

The hypothesis of a fusion of cleavage nuclei seems the most probable, since it gives automatically only homozygous individuals, and never heterozygous queens. Such cases of female parthenogenesis, have been observed in other Hymenoptera (Mackensen 1943, Smith 1941). The effect of low temperatures doubling the chromosomes of haploid eggs has been observed in *Triturus* by Griffiths (1938), Moore (1941) and Fankhauser (1942).

Discussion of analogous case in termites and ants.

The existence of castes among the male termites suggests that they may have also a mechanism for caste determination as in *Melipona*. The heterozygous should thus be the sexual forms and the individuals homozygous for one or more factors, the sterile forms.

The paper of Light (1943), based upon thousands of "incipient colonies", mainly of *Zootermopsis nevadensis*, favors an extrinsic determination of castes. But studies should be made with normal Termites colonies, to obtain a proof that mendelian proportions occur when there is no elimination.

Wheeler (1937), adopted a theory of a genetic determination of castes, based on observation with several mosaics and mutations recorded, mainly, in *Acromyrmex octospinosus*.

To explain the mosaics we may suggest the following:

a) Gynergates (female-worker mosaics) are supposed to derive from an egg $Aa Bb$ which should be a queen. Owing to non-disjunction of the A chromosomes cleavage division resulted in nucleus ABb (worker, since only Bb is heterozygous) and a nucleus $Aaa Bb$ (queen, since both Aaa and Bb are heterozygous).

A mutation from A to a and vice-versa will produce the same effect.

b) Diploergate (major and media worker mosaics): If we suppose that absence of alleles has the same effect as homozygosis (ABB being equal to $AABB$, and $aa BB$, both however different from $Aa BB$) non disjunction in a cleavage division will give the result expected in mosaics: $A BB$ small and $Aaa BB$ large.

c) Gynandromorphs will not be discussed here because too many hypothesis are possible.

Whitting (1939) in a complete review of the paper by Wheeler suggests "that we are here dealing not with sex and caste mosaics but with sex and caste intergrades of another sort, namely, intersexes and intercastes". "Intersexuality may be caused genetically by race-crossing as in *Lymantria*, or it may result from trophogenic or other environmental influences". At the end of his paper we read: "The single haploid male caste is without question differentiated genetically. As for the various female castes, the reviewer inclines toward the trophogenic theory. Any blastogenic scheme involving hereditary differences would necessitate some system for maintaining in the reproductive members of pure race genic dif-

ferences which might segregate to form the sterile castes. Such is "conceivable but doubtful".

Believing to have shown that caste determination in *Melipona* is genetic, we must admit the possibility that the same is the case in ants under discussion and that mosaics are due to non-disjunctions or mutations.

Papers of Wesson (1940) on *Leptothorax curvispinosus*, Bhattacharya (1943) on *Oecophylla smaragdina*, and others are rapidly discussed.

7) Evolution of the genus *Melipona*.

Since *Bombus* is in several respects a primitive form of social bee, the ancestral type of *Meliponini* and *Apini* is described as having caste such as in *Bombus*; there is difference of food determining castes; storage is in pots and old cocoons; cells for drones and workers of the same size, in clusters; wax is secreted by dorsal and ventral glands; etc. By further development of the process for determining castes, by specialization of ventral wax glands, by adoption of a vertical system of combs, etc., the modern *Apini* have arisen.

By specialization of dorsal wax glands, loss of sting, improvement of storage in pots, combs of brood cells organized in clusters (like *Trigona silvestrii*, *T. schrottkyi*, *T. duckei*, *T. iridipennis*, *T. minima*, *T. muelleri*, etc.) the primitive *Meliponini* were obtained.

From this type of primitive *Meliponini*, nearer to *Trigona* than *Melipona* in its biology, the modern stingless bees were derived.

The geographic distribution of the *Meliponini* is given, emphasizing the fact that the *Melipona* bees are restricted to the Americas. It is shown also that the *Meliponini* are discontinuously distributed.

According to H. G. Wells, J. Huxley and G. P. Wells (1935) a distribution of any group of terrestrial animals depends of: 1st — region in which the group arose; 2nd — connections among this regions and other continental lands; 3rd — chances for survival for the group in the several regions into which it will pass.

Studying these three points, considerations were made about the fossils of the *Meliponini* and other social bees, about the several geographical links between South and North America and about the effects of the ice age and their importance for the distribution and evolution of the genus *Melipona*.

Owing to the restricted distribution of this genus it is suggested that it arose at about the Ice age, a little before or a

little after, which may explain why it did not expand to other continents like *Trigona*.

There are two types of genetical segregations of castes among the known *Meliponas*: one bifactorial (Aa Bb) and other trifactorial (Aa Bb Cc) suggesting that a primitive monofactorial type (Aa) must have existed or may still exist.

The genetic evolution of such *Meliponas* may be summarized as follows:

In a hive of a primitive *Trigona* (or *Melipona* or *Meliponorytes*) with genetic constitution AA BB CC DD... a mutation happened in a worker for the gene a with the following effect: well developed sexual organs, independent of feeding, and greater precocity occur in heterozygote Aa. Owing to that well developed sexual organs and the fertility, independent from food supply, such a queen was preferred by the drone (A) to be fertilized when the old queen died.

Since the genetic constitution is Aa, it segregates into: 50% Aa and 50% AA. Both these types of eggs, AA and Aa, could give queens, but (Aa) will be fertile in all circumstances while (AA) and (aa) remains dependent of the special feeding; this fact may be considered as responsible for favorable selection and thus an increase of the new allele.

This type of selection may have lead to an accumulation of other modifying factors, increasing the tendency of the heterozygous queen (Aa) for laying only and not working and to sterilize and increase the working ability of the homozygous (AA and aa). However, on the other side, such a type can hardly survive for long, because 50% of its population would become unable to work.

It is supposed that the same was repeated with regard to a second mutation in another locus (B), and thus the caste becomes dependent upon a bifactorial segregation, the fertile females now being AaBb.

Before this mutation from B to b, there were AA BB or aa BB, and the queens Aa BB. The new combination Aa Bb should have special advantages against Aa BB such as: greater fertility or precocity, more attractiveness to the males, etc., so that the selection was in their favor this strong selection permitted rearrangement of the modifiers so that they begin to cause a loss of fertility of all more or less homozygous animals, until they became workers. The bifactorial type became more frequent than the monofactorial one, since it causes a definite advantage: the proportion of workers was changed from 1:1 to the more favorable proportion of 3:1.

One representative of this type still exists at present: *Melipona marginata* with all its subspecies.

The origin of the trifactorial type may be explained by repetition of the same process. It is now assumed that a mutation of a gene (C) to (c) occurred.

Again the complete heterozygotes (Aa Bb Cc) should be of advantages in selection, and there should occur a fenotypic reversion to workers in all queens partially homozygous. The new proportion between workers and queens is of 87,5% to 12,5%, being more favorable than the previous one, and thus the trifactorial determination became predominant.

Parallel or analogous cases of a fenotypic reversion are cited from breeding experiments. The following references are made concerning the occurrence of changes in the "modifier shift": crosses in *Nicotiana* (Brieger, 1929), in *Crepis* (Hollingshead, 1930), and selections in pod corn (Brieger, 1943).

Thus the bifactorial *Melipona marginata* is considered as the most primitive type of *Melipona*.

One may consider *Melipona fasciata* (with exclusion of *M. puncticollis* and *M. concinnula*, which are suspected as having bifactorial determination of castes) as the most primitive trifactorial species since: a) it is in its behavior, variation and coloration the nearest to *Melipona marginata*.

b) It had the widest range of distribution.

c) It is the most polymorphous species with the greatest number of subspecies:

M. fasciata — 22 subsp; *M. interrupta* — 8 subsp; *M. fava* — 7 subspecies; *M. quadrifasciata*, *M. becheii*, *M. schencki* — 2 subsp; *M. flavipennis*, *M. mandaçáia*, *M. quinquefasciata*, *M. subnitida*, *M. rufipes* — 1 subspecies (Schwarz, 1932, 1938).

There may of course be still other causes for variation found in *M. fasciata* besides the hypothesis that it is the oldest species and thus had more time at its disposal for accumulating mutations.

We may accept as the most probable region of origin of the meliponas the Amazon Valley, for the following reasons: 1st) The Amazon valley is the geographic center of the regions inhabited by the Meliponas and since we are dealing with a relatively new genus it seems improbable to suppose that there may exist already a secondary center.

2nd) The Amazon valley represents also the zone of the greatest variation of this genus, as shown by the number of species, subspecies and varieties existing there, following Schwarz (1932, 1938), Ducke (1916) and Marianno Filho (1911.)

As it is always the case with deductions about the phylogeny of any systematic group, these considerations for the genus *Melipona* and on its caste determination are largely hypothetical, but we hope that the indirect evidence presented may be considered as a sufficient justification.

Explanation of the principal figures

Fig. 5 — Comb of brood cells of *M. quadrifasciata anthidioides* showing helicoidal organization. As in fig. 4 one can see that all cells are of the same size.

Fig. 6 — Sexual male organ of *M. quadrifasciata anthidioides*.

Fig. 8 — Ovary of pupa of virgin queen of *M. quadrifasciata anthidioides*.

Fig. 10 — Ovary of pupa of worker of *M. quadrifasciata anthidioides*.

Fig. 11 — Ovary of old fecundated queen of *M. schenckis-schencki*.

Fig. 12, 18, 19 — Somatic cells of worker showing 18 chromosomes.

Fig. 13 — Somatic cells of queen showing 18 chromosomes.

Fig. 14 and 15 — Somatic cells of drone showing 9 chromosomes.

Fig. 20 to 40 — Spermatogenesis.

Fig. 41 and 42 — Comb of *Melipona quadrifasciata anthidioides* (Fig. 41) and *M. marginata marginata* (Fig. 42) with the cells marked from which queens have emerged. The cells giving drones are not included.

Fig. 43 — Graphical representation of the segregation in the trifactorial *Meliponas*.

Fig. 44 — Graphic of the segregation in the *M. marginata marginata*.

Fig. 45 — Meteorological data.

Fig. 47 — Phylogenetic tree suggesting relationships of the various sub-families and tribes of bees, according to C. D. Michener (1944).

Fig. 48 — Worker of *Meliponorytes succini*, Tosi (1896).

Fig. 49 — Phylogeny of the genus *Melipona* based on biological data and caste determination.

Fig. 50 — Map showing the geographic distribution of the *Meliponini*.

Fig. 51 — Hive of *Bombus lapidarius* showing clusters of cocoons (like *Trigona silvestrii*), honey and pollen pots (identical to that of all *Meliponini*) and old cocoons full with honey and pollen (some identical to combs used by honey bee). (After F. W. Sladen — cited by Wheeler, 1923).

9 BIBLIOGRAFIA

- ARMBRUSTER, L. — 1913 — Chomosomenverhaltnisse bei der spermatogenese solitarer Apiden (*Osmia cornuta* Latr.) Arch. f. Zellf 2: 242-326.
- ASHMEAD, W. H. — 1901 — Proc. U. S. Nat. Mus. 23, 1901 (Ap. 11.º ed. da Encicl. Brit.).
- SHATTACHARYA, G. C. — 1943 — Reproduction in Agressive red-ants *Oecophylla smaragdina*, Fabr. — Trans. Bose Inst., 15:137-156, Pgs. 10-12 — Feb.
- BORDAS M. L. — 1895 — Appareil génital male des Hyménoptères. Am. Sc. Nat. Zoot., Serie 7, 20: 103-184, Pl I a X
- BRIEGER, F. G. — 1929 — Vererbung bei Artbastarden unter besonderer Berücksichtigung der Gattung *Nicotina*. "Der Zuchter" 1:140-152.
- BRIEGER, F. G. — 1937 — Tábuas e Fórmulas para Estatística — 46 pgs. Cia de Melhoramentos de São Paulo — São Paulo.
- BRIEGER, F. G. — 1943 — Origem do Milho — Rev. Agr. 18: 409-418.
- BRIEGER, F. G. — 1944 — Considerações sobre o mecanismo da evolução. An. Esc. Sup. Agr. "Luiz de Queiroz" — 1: 177-202.
- BRIEGER, F. G. — 1946 — Limites Unilaterais e Bilaterais na análise estatística. *Bragantia* 6: 479-545, Figs. 1-6.
- BRIEGER F. G. — 1947a — A determinação dos números de indivíduos mínimos necessários na experimentação genética. An. Esc. Sup. "Luiz de Queiroz" 4: 217-262.
- BRIEGER, F. G. — 1947b — Análise da variação qualitativa em amostras pequenas (não publicado).
- BRIEGER, F. G. e FORSTER, R. — 1943 — Modificação da Dominância em *N. tabacum petiolaris*. Rev. Agr. 18: 446-447.
- BRIEGER, F. G. e SILVIO MOREIRA — 1945 — Experiências de Cavalos para Citrus II — *Bragantia* 5:597-658. Fig. 1-3.
- BRUES, C. T. — 1921 — Am. Nat. 55: 134-164.
- BUCHNER, PAUL — 1915 — Praktikum der Zellenlehre. viii, 336 pp., Universität München — Berlin.
- COCKERELL, T. D. A. — 1909a — Description of Hymenoptera from Baltic Amber. Schrif. Physik. okonom. Ges. Königsberg i. Pr. 50, pp. 1-25, 14 Figs.

- COCKERELL, T. D. A. — 1909b — Some European Fossil Bees, *Entomologist*, 313-317.
- COCKERELL, T. D. A. — 1921 — Fossil Arthropods in the British Museum — VII — *An. Mag. Nat. Hist.*, 8: 541-545 — 5 Figs.
- CLAUS, C., GROBBEN, KARL — 1917 — *Lehrbuch der Zoologie*. xvi, 1087 pp. Universität Wien. Viena.
- DARWIN, C. — 1860 — *Origin of Species* — Pgs. 199-209.
- DOBZHANSKY, TH. — 1941 — *Genetics and the origin of species* — ix, 446 — Columbia University.
- DOBZHANSKY, TH. — 1944 — Mecanismo da evolução e origem das espécies. *Bol. Curs. Ap. e Esp. n.º 2*. Ministério da Agricultura — Rio de Janeiro.
- DREYFUS, A. e BREUER, M. E. — 1944 — O sexo nos Hymenopteros Arrenótocos. *Bol. Fac. Fil. Ciências e Letras, Biologia Geral*, n.º 5.
- DUCKE, A. — 1916 — Enumeração dos Hymenopteros colligidos pela Comissão e Revisão das espécies de Abelhas do Brasil — Publicação n.º 35, anexo n.º 5 — *História Natural — Zoologia* pp. 1-175.
- EZHNIKOV, T. — 1943 — Individual variability and dimorphism of social insects. *American Naturalist*, 68: 333-344.
- FANKHAUSER, G. 1942 — Induction of poliploidy in animals by extreme of temperature. *Biological Simposia*, 6: 21-35.
- FLANDERS, S. E. 1942 — Oosorption and ovulation in relation to ovipositon in the parasitic Hymenoptera. *Ann. Ent. Soc. Amer.* 35: 251-266.
- FLANDERS, S. E. — 1945 — Is caste differentiation in ants a function of the rate of egg deposition? *Science* 100: 168-169.
- FLANDERS, S. E. — 1946 — Control of sex and sex-limited polymorphism in the Hymenoptera. *Quart. Rev. Biol.* 21 (2): 135-243.
- FRIESE, H. — 1916 — Citado por Schwarz (1948).
- FRIISON, T. H. — 1927 — The development of the castes of Bumblebees. (*Bremidae: HYM.*) *An Ent. Soc. Am.* 20: 156-178, 2 pls.
- GRANATA, L. 1909 — Le divisione degli Spermatocite di *Xylocopa violacea* L. *Biologia* 2. Torino. 1-12.
- GRIFFITHS, R. B. — 1938 — Citado na publicação de Fankhauser (1942).
- GUSTAFSSON, A. — 1947 — The advantageus effect of deleterious mutations. *Hereditas* 33:573-575.
- HASKINS, C. P. and ENZMANN, E. V. — 1945 — On the occur-

- rence of impartenate females in the Formicidae. Journ. N. Y. Ent. Soc. 53 (4): 263-277.
- HOLLINGSHEAD, L. 1930 — A lethal factor in *Crepis*, effective only in an interspecific hybrid. Gen. 15: 114-140.
- IHERING, H. V. — 1903 — Zoolog. Jahrbücher, 19: 179-287.
- IHERING, H. V. 1932 — Biologia das Abelhas Melíferas do Brasil. Trad. do Zool. Jahrbücher 19: 179-287, com notas adicionais.
- IHERING, R. V. — 1903b — Biolig. Beobachtungen an brasilian *Bombus* — Nestern; Allgem. Zeitschr. Entomolog. Neudamm 8: 447-452.
- IHRING, R. V. — 1940 — Dicionário dos animais do Brasil, pg. 479-481.
- KENNEDY, C. H. — 1932 — Methods for the study of the Internal Anatomy of Insects. Dept. Ent. Ohio State University.
- KERR, W. E. — 1946 — Formação das Castas no gênero *Melipona*. (Illiger, 1806) — An. Esc. Sup. Agr. "Luiz de Queiroz". 3: 299-312.
- KERR, W. E. — 1948 — Biologia das rainhas de *Melipona*. Chacaras e Quintais. 77: 44-45.
- GUSTAFSSON, A. — 1947 — The advantageous effect of deleterious mutations. Hereditas 33: 573-575.
- LAMS, H. 1908 — Les divisions des spermatocytes chez la fourmi (*Camponotus herculeanus*) Arch. f. Zellf., 1: 28-37.
- LIGHT, S. F. — 1932 — The determination of the castes of social insects. Quart. Rev. Biol. 17 (4): 291-326 and 18 (1): 46-63.
- MACKENSEN, O. — 1943 — Journ. Econ. Ent. 36 (3). 465-467 June.
- MARIANO, J. 1911 — Ensáio sôbre as *Meliponas* do Brasil. Rio de Janeiro.
- METCALF, Z. P. — 1946 — The center of origin theory. Journ. E. Mitchell S. Soc. 62 (2): 149-175.
- MEVES, F. — 1907 — Die Spermatocytenbildung bei der Honigbiene. Arch. mik. An. 70: 414-491.
- MEVES, F. e DUESBERG, J. 1908 — Die Spermatocytentellungen bei der Hornisse (*Vespa cabro* L.). Archiv. mikr. Anat., 71: 51-87.
- MICHENER, C. D. — 1944 — Comparative external Morphology, Phylogeny and a Classification of the bees (Hymenoptera) Bull. Am. Mus. Nat. Hist. 82 (6): 151-326. April, N. York.

- MOORE, C. — 1938 — Citado na publicação de Fankhauser (1942).
- MOURE, Pe. J. — 1946 — *Meliponas do Brasil*. Cha. e Qui. 74: 609-612.
- MULLER, F. — 1875 — *Zool. Garten*, 16: 41-45 (ap. IHERING (1903) and SCHWARZ, (1932)).
- OSORNO, E. OSORNO, H. 1938 — *Notas biológicas sobre espécies de Bombus de los alrededores de Bogotá*. Colombia S. A. Rev. Ent. 9 (1 e 2): 31-39 Setembro.
- PEACOCK, A. D. and GRESSON, R. A. R., — 1931 — *Male Haploidy and Female Diploidy in Sirex cyaneus F. (Hymen.)*. Proc. Royal Soc. Edinb. 51: 97-103 — 1 il.
- PEREZ, F. — 1895 — *On the production of males and females in Melipona and Trigona*. Am. Mag. Nat. Hist. pg. 125-127.
- RAU, PHIL — 1933 — *Jungle Bees and Wasps of Barro Colorado Island*. 324 pp.
- SALT, G. — 1929 — *Trans. Entomol. Soc. London*, 77: 431-470.
- SANDERSON, A. R. — 1933 — *The cytology of parthenogenesis in Tenthredinidae*. Genetics, 14: 321-451.
- SCHRODER, C. — 1925 — *Handbuch der Entomologie, Band III*, p. 254.
- SCHWARZ, H. F. — 1932 — *The Melipona Genus*. Bull. Am. Mus. Nat. Hist. 63: 231-460. Fig. I-X.
- SCHWARZ, H. F. — 1937 — *Results of the Oxford University Sarawak expedition*.
- SCHWARZ, H. F. — 1938 — *The stingless Bees (Meliponidae) of British Guiana and Some Related Forms*. Bul. Am. Mus. Nat. Hist. 74 (7): 437-508. N. York.
- SCHWARZ, H. F. — 1939 — *The Indo Malyan Species of Trigona*. Bul. Am. Mus. Nat. Hist. 76: 83-141.
- SCHWARZ, H. F. — 1945 — *The wax of stingless bees and the uses to which it has been put*. Journ. New York Ent. Soc 53: 137-144, June.
- SCHWARZ, H. F. — 1948 — *Stingless bees (Meliponidae) of the Western Hemisphere*. Bull. Am. Mus. Nat. Hist. 90:1-546.
- SILVESTRI, F. — 1902 — *Contribuzione a la conoscenza dei Meliponidi dal Bacino del Rio de La Plata*. Rev. Pat. Vej. 10: 121-170.
- SINGH, S. — 1943 — *Las Abejas Melíferas de la India (ABC y XYZ de la Apicultura, de A. I. y E. R. Root, 1943, Pg. 621)*.
- SMITH, S. G. — 1941 — *A new form of spruce sawfly identi-*

- fied by means of its cytology and parthenogenesis. *Sc. Agr.* 21 (5): 245-305.
- SNODGRASS, R. E. — 1925 — *Anatomy and Physiology of the Honeybee* — First Edition — Mc Graw — Hill Book Company, Inc. New York.
- SNODGRASS, R. E. — 1941 — The male genitalia of Hymenoptera. *Smithsonian Miscellaneous Collections* 99 (14).
- SNYDER, T. E. — 1925 — The Biology of the Termite Castes. *Quart. Rev. Biol.* I (4): 522-552, Oct.
- TANQUARY, M. C. — 1943 — Biological and Embriological studies on Formicidae. *Bull. III. Lab. Nat. Hist.* 9: 417-479. Pls. LVII — LXIV.
- TILLYARD, R. J. — 1924 — Kansas Permian Insects. Part. 3. The New Order Protohymenoptera. *Amer. Journ. Sc.* 558: 111-122.
- TORVIK-GREB, M. — 1935 — The chromosomes of *Habrobracon*. *Biol. Bull.* 68.
- TOSI, A. — 1896 — Di un nuovo genere di apiaria fossile Nell' Ambra di Sicilia (*Meliponorytes succini*, M. sicula) *Rev. Ital. Paleontol.* 2: 352-356. Pl. VI.
- VAVILOV, N. I. — 1928 — Geographische genzentren userer Kulturpflanzen. *Verh. Sten. Kong. Vererb., Z. I. A. V. Suppl.*
- VAVILOV, N. I. — 1932 — The process of evolution in cultivated plants. *Proc. 6th. Cong. Gen.* (this two VAVILOV papers are cited ap. WADDINGTON, C. H. — *An Introduction to Modern Genetics* p. 250 — 1939 — The Macmillan Company — New York).
- WELLS, H. G., HUXLEI, J., WELLS, G. P. — 1935 — *Evolução dos seres vivos* (Tradução do Prof. Almir de Andrade, 1940).
- WESSON, L. G. Jr. — 1940 — An experimental study on caste determination in ants. *Psyche* 47 (4): 105-111.
- WHEELER, W. M. — 1923 — *Social life among the insects.* vii., 375 pp. New York.
- WHEELER, W. M. — 1928 — *The social insects.* xviii, 378 pp. New York.
- WHEELER, W. M. — 1937 — *Mosaics and other anomalies among ants.* Harvard University Press.
- WHITE, M. J. D. — 1945 — *Animal Cytology and Evolution* — viii, 375 pp., University College, London.
- WHITING, P. W. — 1938 — Anomalies and caste determination in ants. *Journ. Hered.* 29: 189-193.
- WHITING, P. W. — 1940 — Multiple alleles in sex-determination of *Habrobracon*. *Journ. Morphol.* 66.

- WILSON, H. F. e DONER M. H. — 1937 — The Historical Development of Insect classification. II, 133, University of Wisconsin.
- WINGE, O. — 1934 — The experimental alteration of sex chromosomes into autosomes and vice-versa, as illustrated by *Lebistes*. Com. Rend. trav. Lab. Calsberg, 21 (1): 1-50, Pl. I-II.
- WRIGHT, SEWALL e DOBZHANSKY, T. — 1946 — Genetics of Natural Populations XII. Experimental reproduction of some of the changes caused by natural selection in certain populations of *Drosophila pseudoobscura*. Genetics 31: 125-158.

EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

Fig. 1 — Rainha virgem de *Melipona quadrifasciata anthidioides*. Fotografia de uma pintura feita pelo Sr. Alberto Thomazi.

Fig. 2 — Operária adulta de *Melipona quadrifasciata anthidioides*. (Fotografia já publicada em 1946).

Fig. 3 — Colméia de *Melipona marginata marginata* mostrando:

- a) Alvéolos de filhos usados para armazenamento.
- b) Alvéolos de filhos usados para criação.
- c) Potes de armazenamento.

Fig. 4 — Favo de alvéolos com filhos de *Melipona quadrifasciata anthidioides* mostrando uma organização em uma só camada horizontal. Nota-se aí que todas as células são do mesmo tamanho; vê-se também que as operárias já raspam a cera excedente, deixando o casulo nú, somente com cera nos interstícios. (Fotografia já publicada em 1946).

Fig. 5 — Favo de *Melipona fasciata rufiventris* mostrando uma organização helicoidal dos seus alvéolos. Nota-se que não há diferença de tamanho entre as células e que estas são recémconstruídas devido ainda se acharem totalmente cobertas de cera.

Fig. 6 — Aparelho genital masculino de pupa *Melipona quadrifasciata anthidioides*.

Fig. 7 — Testículo de *Melipona quadrifasciata anthidioides* desenrolado, mostrando que é formado por 4 tubos testiculares.

Fig. 8 — Ovário de rainha virgem de *Melipona quadrifasciata anthidioides*. É interessante notar a dilatação do oviduto na desembocadura dos 4 ovaríolos.

Fig. 9 — Espermateca de pupa de rainha de *Melipona schencki schencki* mostrando a posição das duas glândulas anexas.

Fig. 10 — Ovário de pupa de operária de *Melipona quadrifasciata anthidioides*. Note-se o tamanho diminuto dos ovaríolos e espermateca.

Fig. 11 — Ovário de uma rainha fecundada de *Melipona schencki schencki*.

Fig. 12 — Célula somática (nervosa) em divisão, de larva de operária de *Melipona schencki schencki*, mostrando 18 cromossômios. Orceina acética.

Fig. 13 — Células somáticas (nervosas) em divisão, de prepupa de rainha de *Melipona quadrifasciata anthidioides*, mostrando 18 cromossômios. Orceina acética.

Figs. 14 e 15 — Células somáticas (nervosas) de prepupa de macho de *Melipona quadrifasciata anthidioides*. Preparação total. Gilson-Petrunkewitsch. Feulgen.

Fig. 16 — Célula somática (nervosa) pentaplóide da mesma lâmina das Figuras 14 e 15.

Fig. 17 — Célula somática (nervosa) de larva de operária de *Melipona quadrifasciata anthidioides*, mostrando 18 cromossômios. Orceina acética.

Figs. 18 e 19 — Células somáticas do ovário de pupa jovem de operária de *Melipona marginata marginata*, mostrando 18 cromossômios. Preparação total. Gilson-Petrunkewitsch. Feulgen.

Figs. 20 a 40 — Espermatogênese.

Fig. 20 — Cisto de testículo de *Trigona (Plebeia) mosquito*, mostrando a orientação tangencial das placas equatoriais dos espermatogônios

Fig. 21 — Anáfase de espermatogônio. Testículo de prepupa de macho de *Melipona schencki schencki*. Orceina acética.

Fig. 22 — Prófase da 1.^a divisão. *Melipona quadrifasciata anthidioides*. Preparação total. Gilson-Petrunkewitsch, Feulgen e Hematoxilina de Heidenhain.

Fig. 23 — Metáfase da 1.^a divisão. Pupa com olho branco de *Melipona quadrifasciata anthidioides*. Preparação total. Gilson-Petrunkewitsch. Feulgen.

Fig. 24 — Expulsão do brôto citoplasmático. *Melipona marginata marginata*. Orceina acética.

Fig. 25 — Telófase da 1.^a divisão. *Melipona marginata marginata*. Orceina acética.

Fig. 26 — Intercinese. Pupa com olho róseo de *Melipona quadrifasciata anthidioides*. Corte. Gilson-Petrunkewitsch. Hematoxilina de Heidenhain.

Fig. 27 — Prófase da 2.^a divisão. *Melipona schencki schencki*. Prefixada com Carnoy, fixada com Nawashin. Preparação total. Feulgen e Hematoxilina de Heidenhain.

Fig. 28 — Prófase da 2.^a divisão. *Melipona quadrifasciata anthidioides*. Corte. Gilson-Petrunkewitsch. Hematoxilina de Heidenhain.

Figs. 29 e 30 — Metáfase da 2.^a divisão. Mesma lâmina da figura 28.

Figs. 31 e 33 — Anáfase da 2.^a divisão. Mesma lâmina da figura 28.

Fig. 34 — Telófase da 2.^a divisão. Mesma lâmina da figura 28.

Figs. 35, 36, 37, 38 e 39 — Fases da expulsão do brôto nucleado até o início da formação do espermatozóide. Mesma lâmina da figura 28.

Fig. 40 — Cisto de testículo de *Trigona (Plebeia) mosquito* contendo espermatozóides. Compare o seu tamanho com o cisto da figura 20.

Fig. 41 — Favo de *Melipona quadrifasciata anthidioides*. Os alvéolos assinalados com um ponto preto continham rainhas e os demais operárias. Nos espaços em branco existiam zangões ou falhas.

Fig. 42 — Favo de *Melipona marginata marginata*. Valem aqui as mesmas considerações feitas para a figura 41.

Fig. 43 — Segregação nas meliponas trifatoriais. Registramos aqui a porcentagem da rainhas encontradas nas diversas amostras do Quadro III. Agrupamos as amostras da seguinte maneira :

A — 16- 2 a 7- 3-46 — 3 caixas

B — 6- 3 a 28- 3-46 — 3 caixas

C — 9- 5 a 6- 6-46 — 3 caixas

D — 20- 6 a 16- 8-46 — 2 caixas

E — 12- 8 a 22- 9-46 — 4 caixas

F — 20- 9 a 10-10-46 — 3 caixas

G — 28-10 a 19-11-46 — 3 caixas

H — 18-11 a 23-12-46 — 3 caixas

I — 17- 1 a 23- 4-47 — 3 caixas

Fig. 44 — Segregação na *Melipona marginata* (bifatorial). Registramos aqui a porcentagem de rainhas encontradas nas diversas amostras do Quadro IV. Agrupamos as amostras da seguinte maneira :

- A — 24- 3 a 14- 4-46 — 2 caixas
B — 2- 6 a 18- 6-46 — 3 caixas
C — 23- 7 a 3- 9-46 — 3 caixas
D — 18- 9 a 24- 9-46 — 1 caixa
E — 2-11 a 18-11-46 — 3 caixas
F — 28-12 a 11- 1-47 — 1 caixa

Fig. 42 — Gráfico de condições meteorológicas no mesmo período das figuras 43 e 44. As linhas cheias representam os máximos e mínimos médios de cada mês, as linhas pontilhadas os máximos e mínimos absolutos, e o histograma representa a chuva total de cada mês.

Fig. 46 — Genitália e aparelho sexual do macho dos gêneros *Bombus*, *Melipona* e *Apis* mostrando que as peças sexuais dos dois último gêneros podem ser derivadas do gênero *Bombus*. Abreviações usadas: A — genitália de *Bombus*; c. d. — canal deferente; BR — anel basal; G. a. — glândula acessória; lp — basiparâmero; m. — placa dorsal na base do pênis; n. — placa na parede dorsal do pênis (spatha); Pen. — pênis; Pmr. — parâmero; Phtr. — abertura do endofalus; pv. — válvula do pênis; q — lamella dorsal do parâmero; r — lamella ventral do parâmero; s — lobo basal da sagita; sag. — sagita; T — testículo; V.s. — vesícula seminal; w — lábio dorsal membranoso do falotremo; A' — genitália de *Apis*; E — genitália de *Melipona*; I — aparelho genital masculino de *Bombus*; II — aparelho genital masculino de *Melipona*; III — aparelho genital masculino de *Apis*, desenhado com o pênis invertido por questão de espaço. Os desenhos da genitália foram retirados do trabalho de SNODGRASS (1941) e o aparelho genital de *Bombus* e de *Apis* foram baseados na publicação de BORDAS (1891).

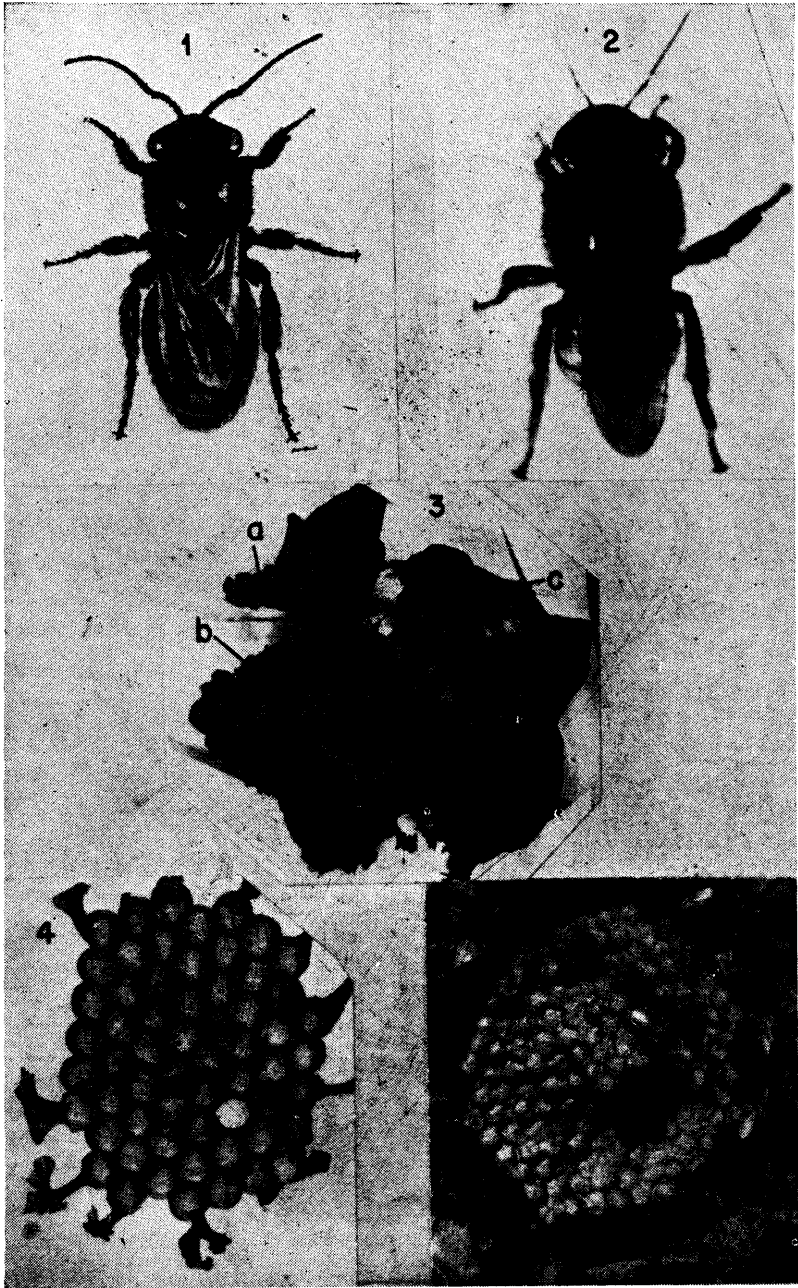
Fig. 47 Arvore filogenética sugerindo os parentescos das diversas sub-famílias e tribos de abelhas. (segundo MICHE-NE, 1944, página 230).

Fig. 48 — Operárias de *Meliponites succini*, TOSI, 1896. Fóssil encontrado no âmbar siciliano, Mioceno. (Ap. SCHRODER, 1925, página 254).

Fig. 49 — Filogenia do gênero *Melipona*, baseada em dados biológicos e na determinação das castas.

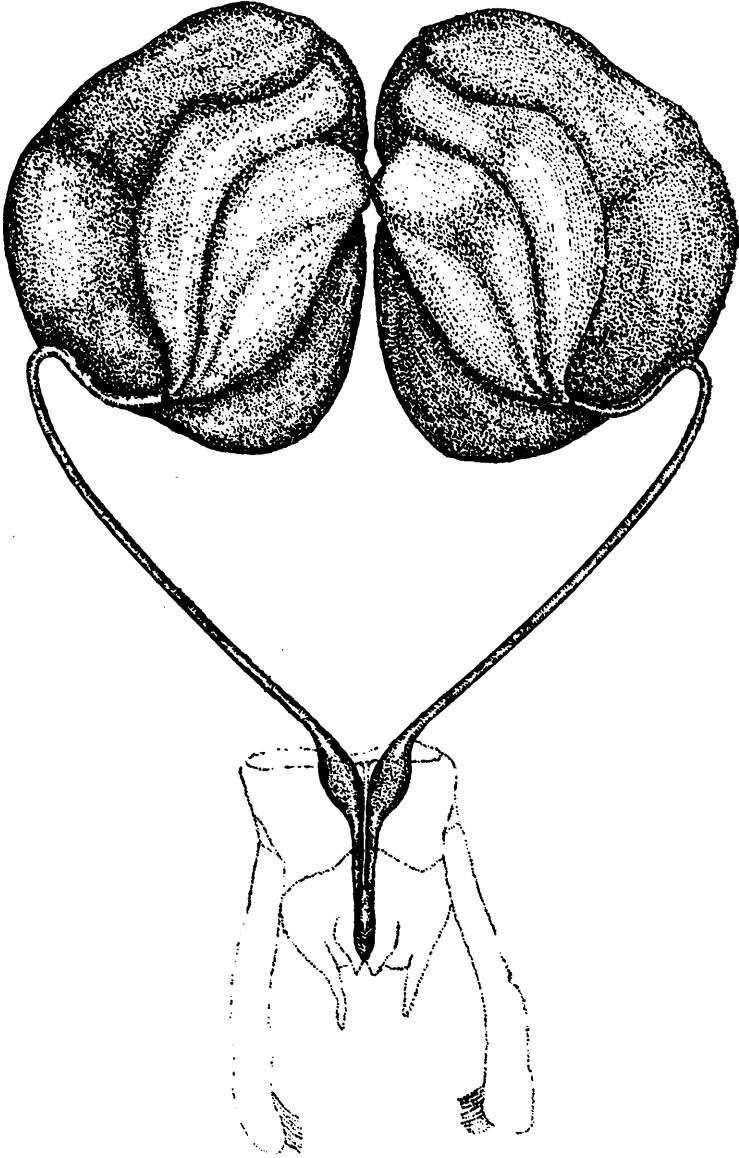
Fig. 50 — Mapa-mundi mostrando a distribuição geográfica dos meliponíneos. As meliponas existem somente nas Américas. Na região marcada com uma mancha preta supõe-se ser a zona provável de origem das *Meliponas trifactoriais*.

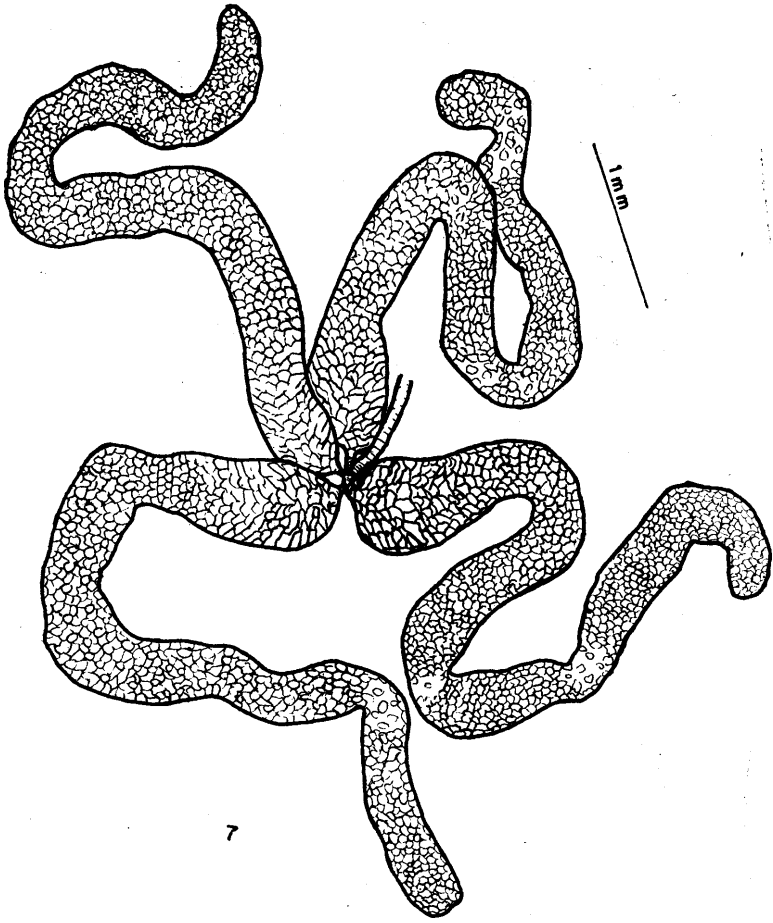
Fig. 51 — Colônia de *Bombus lapidarius* mostrando cachos de casulos de operárias (semelhantes aos de *Trigona silvestrii*), potes de mel e pólen (semelhantes aos dos meliponíneos em geral) e casulos velhos cheios com mel e pólen (aproximadamente semelhante ao sistema utilizado pelas *Apis*), (segundo F. W. SLADEN, citado por WHEELER, 1923).

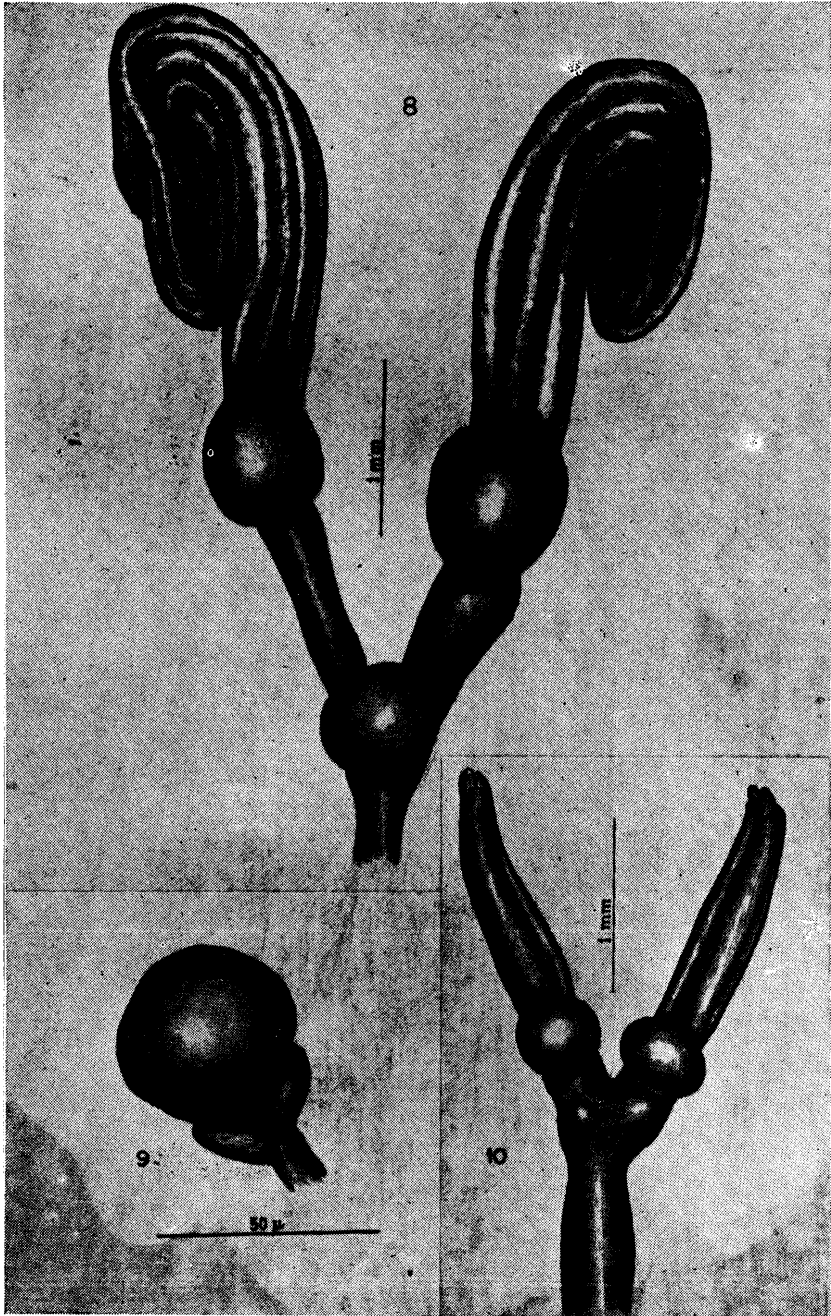


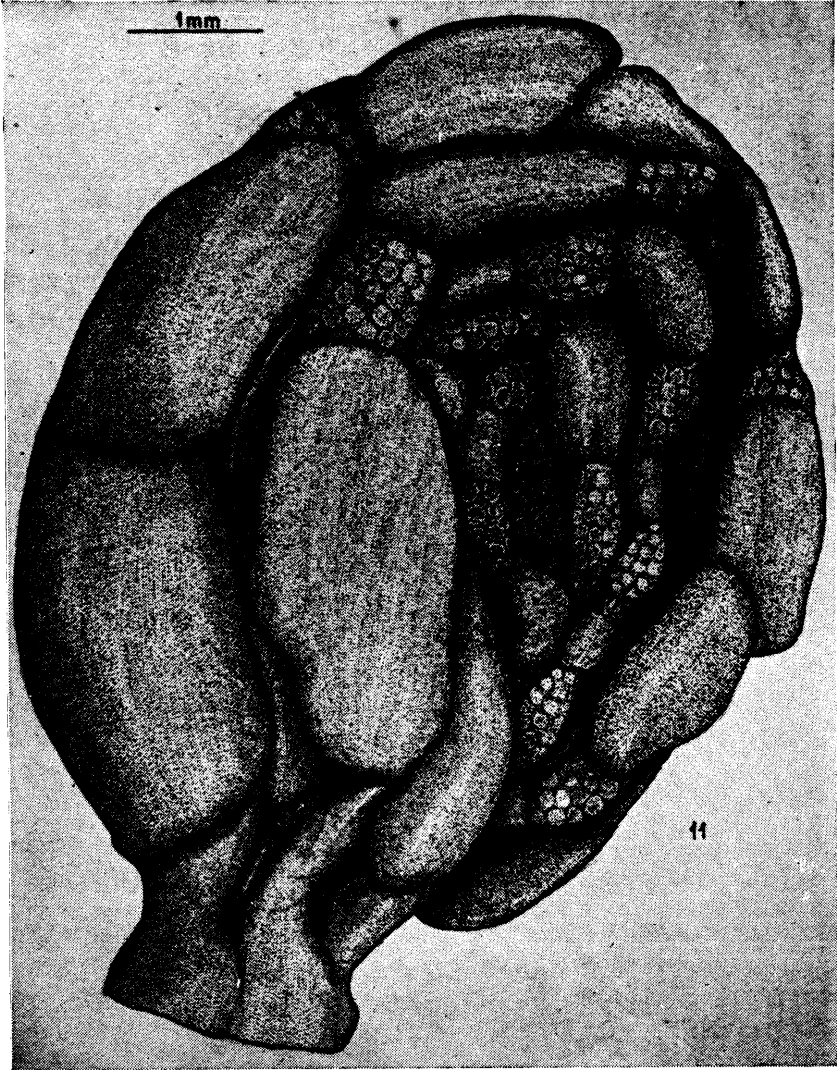
1 m m

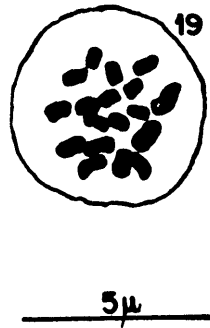
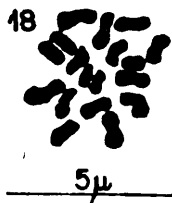
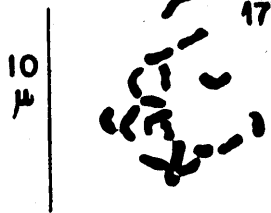
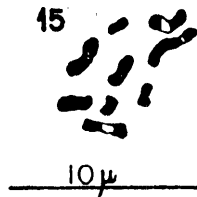
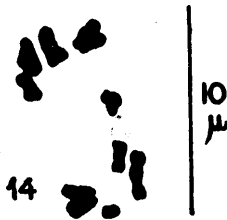
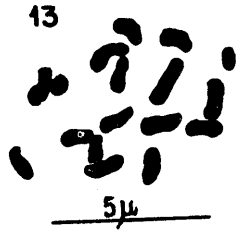
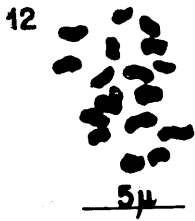
6

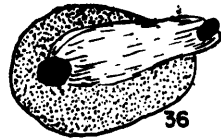
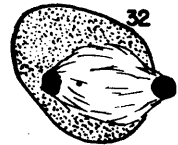
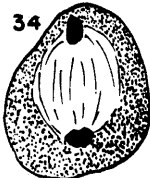
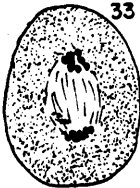
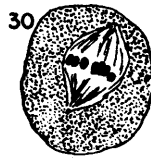
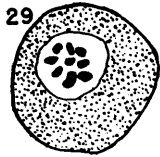
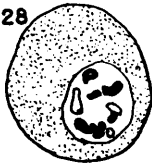
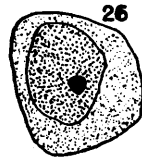
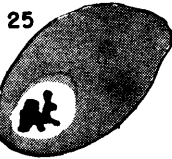
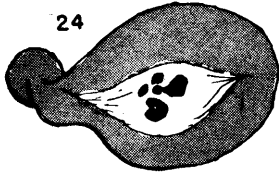
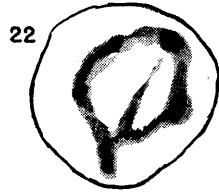
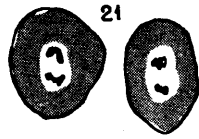
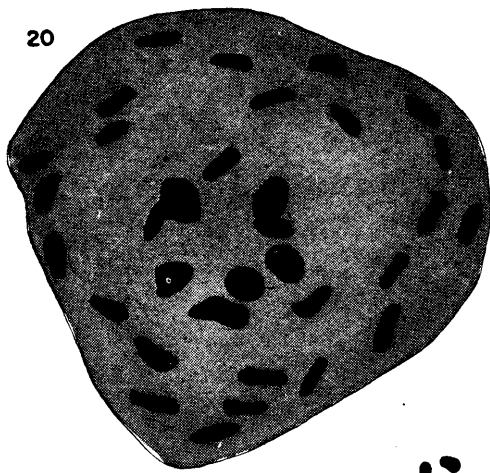




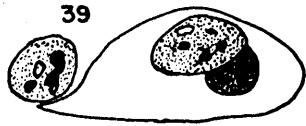
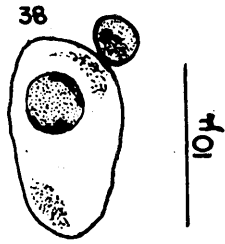
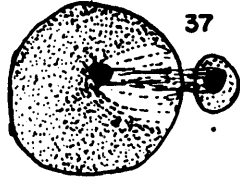
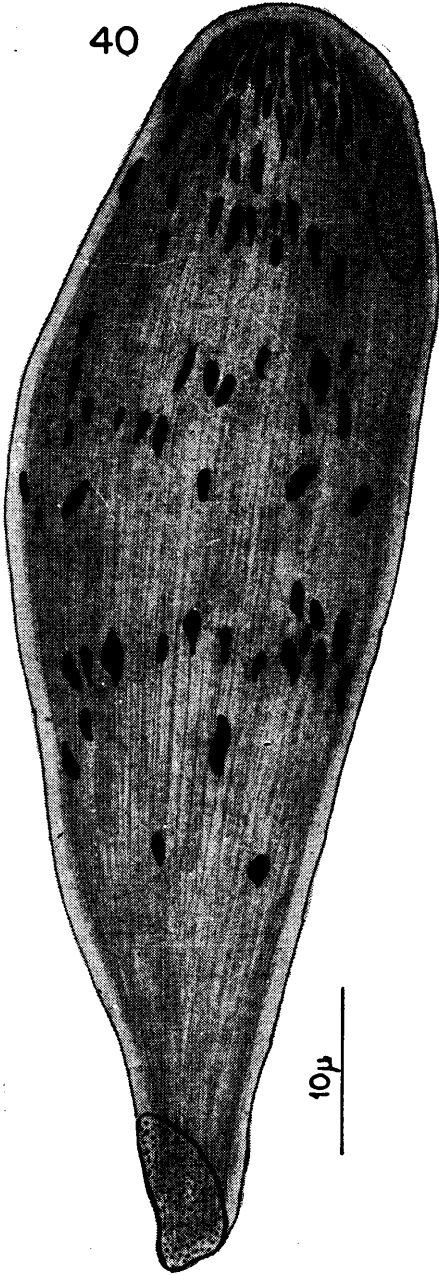


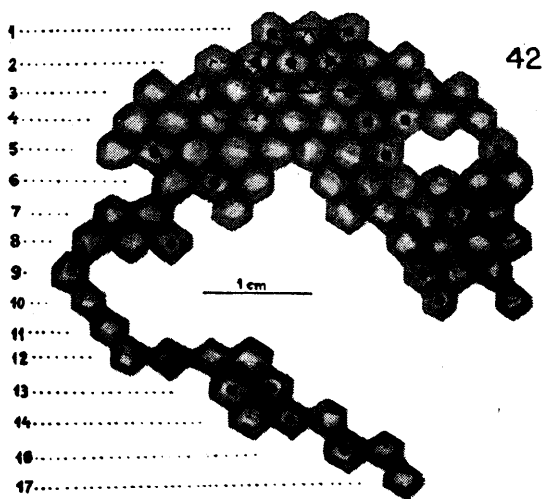
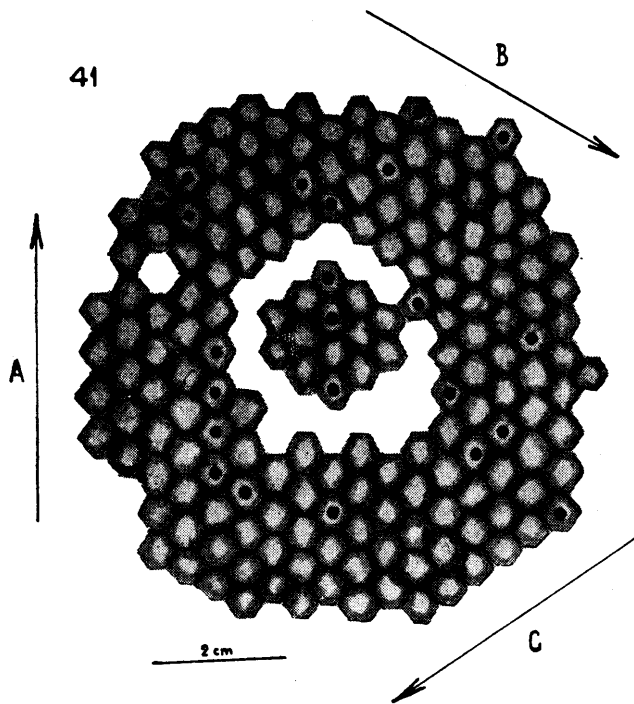




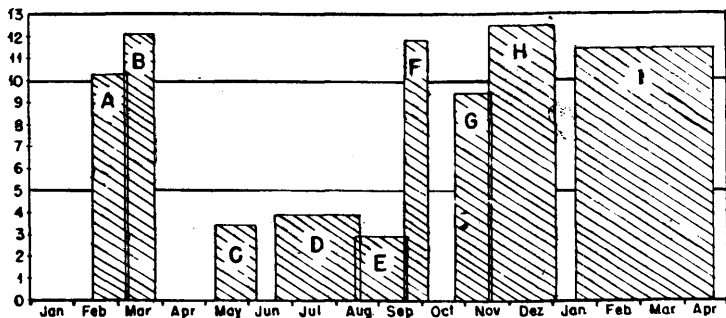


40

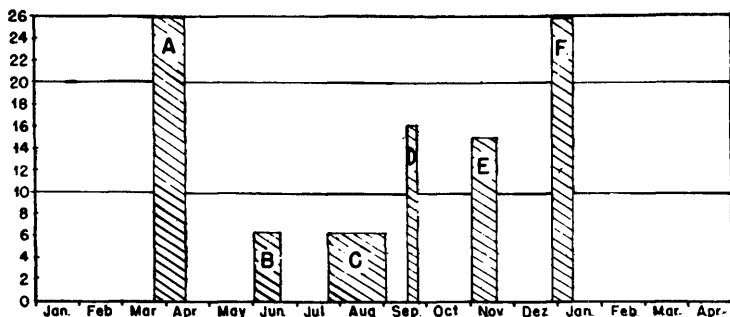




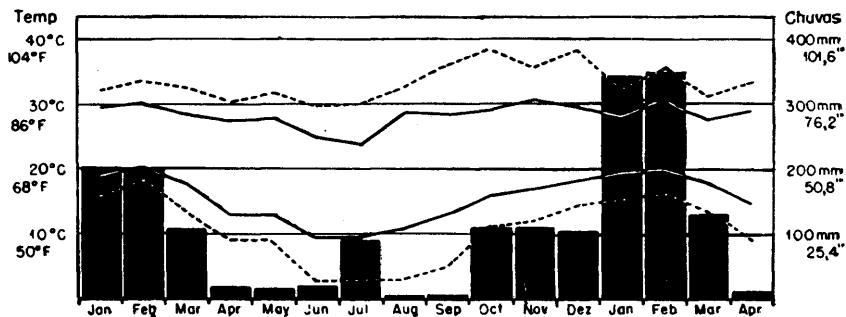
43

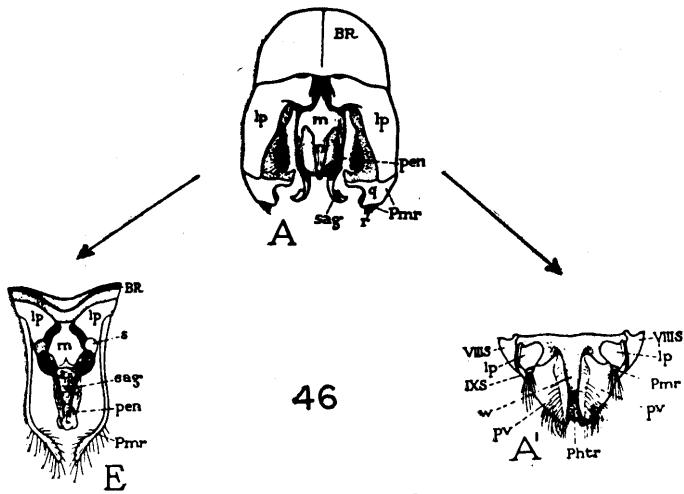


44

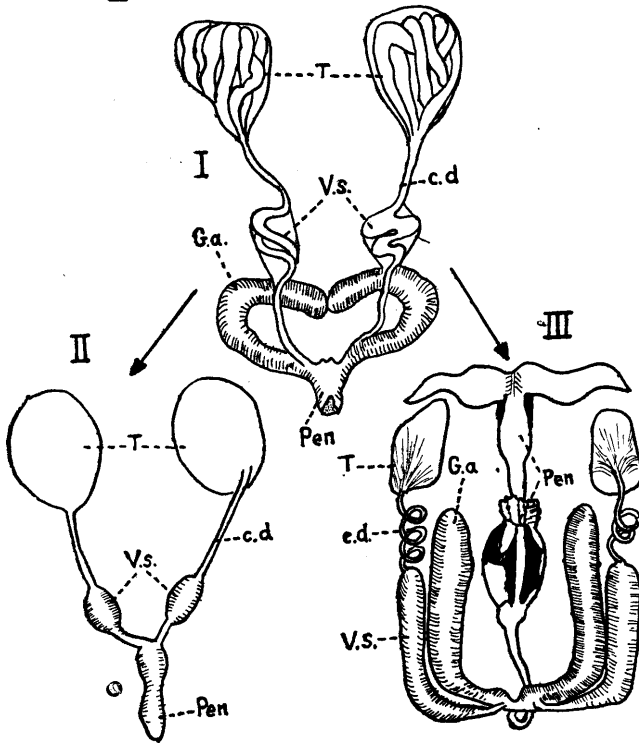


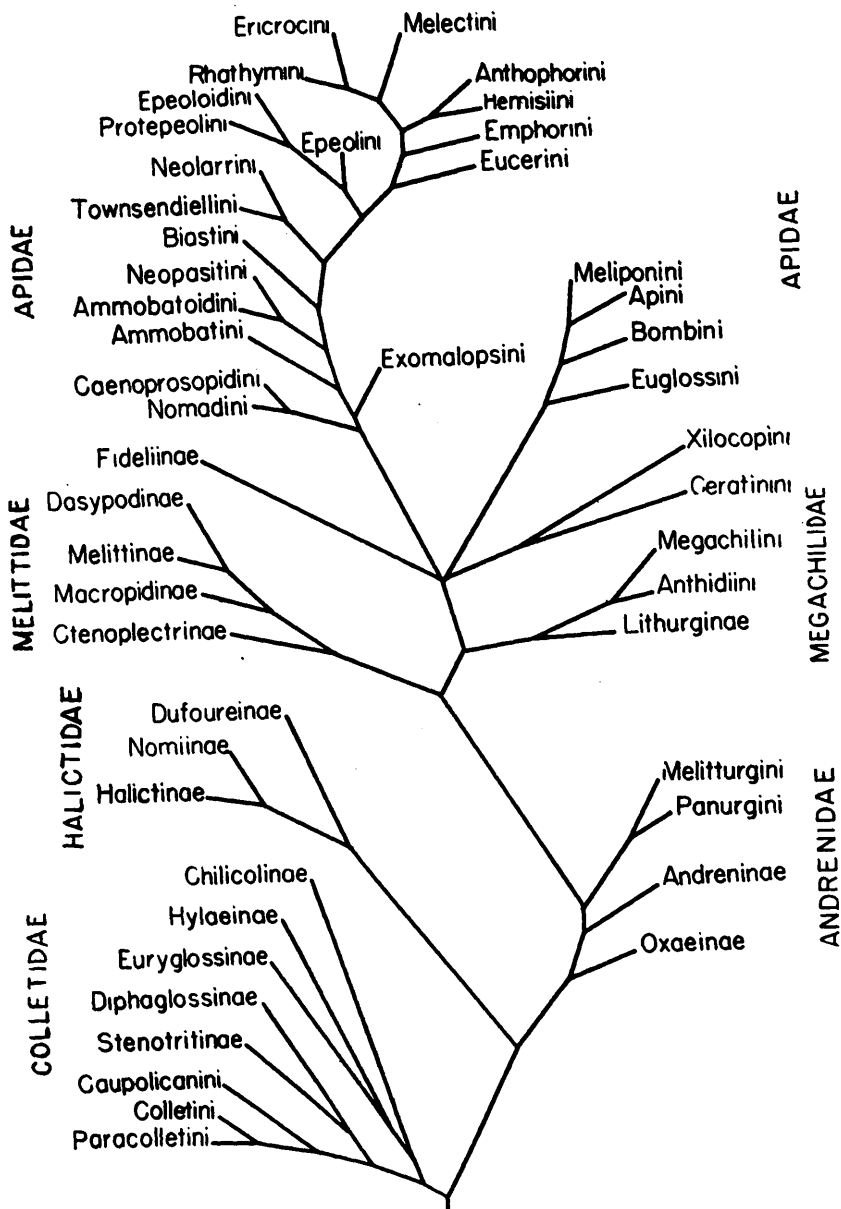
45

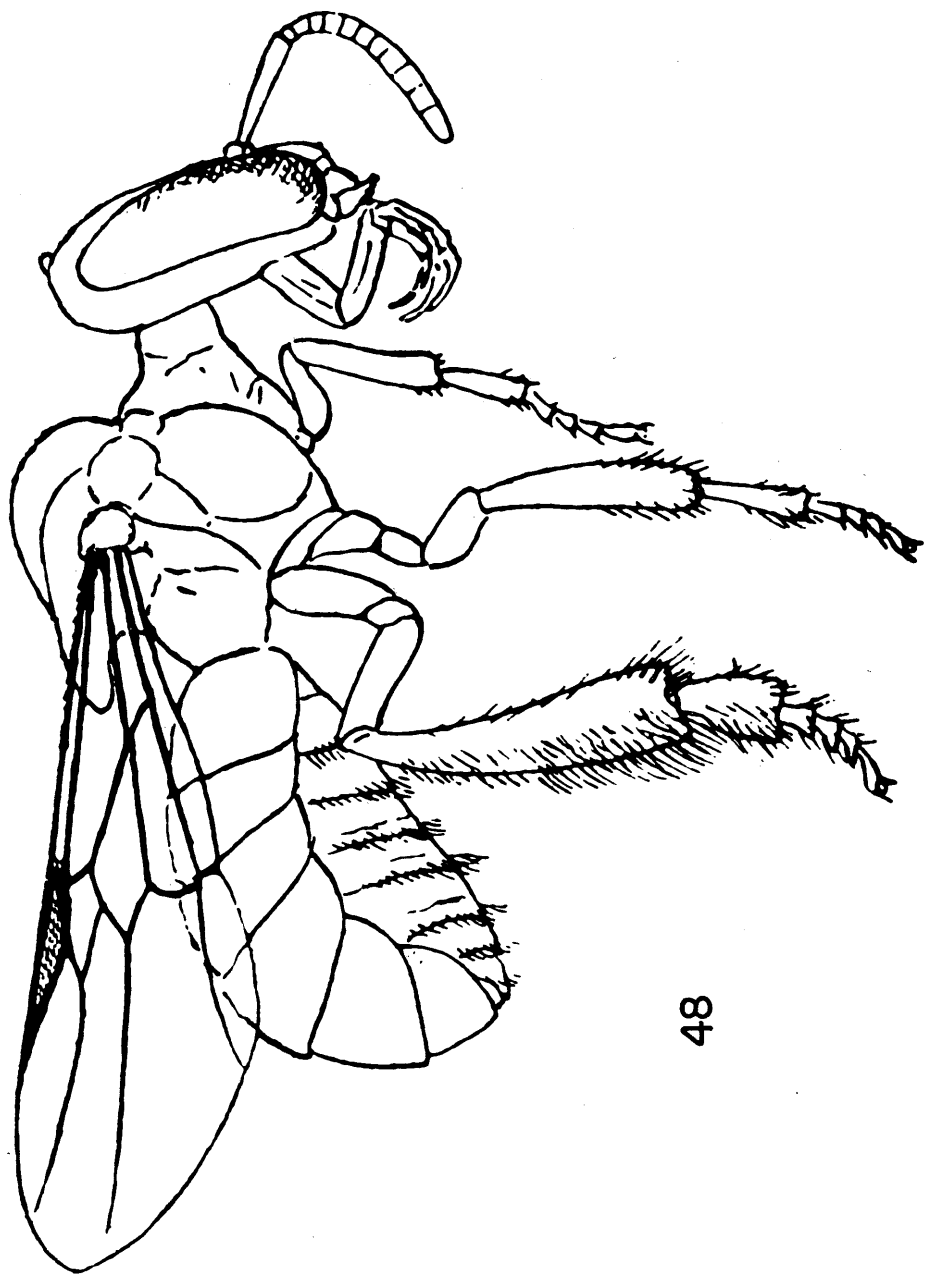


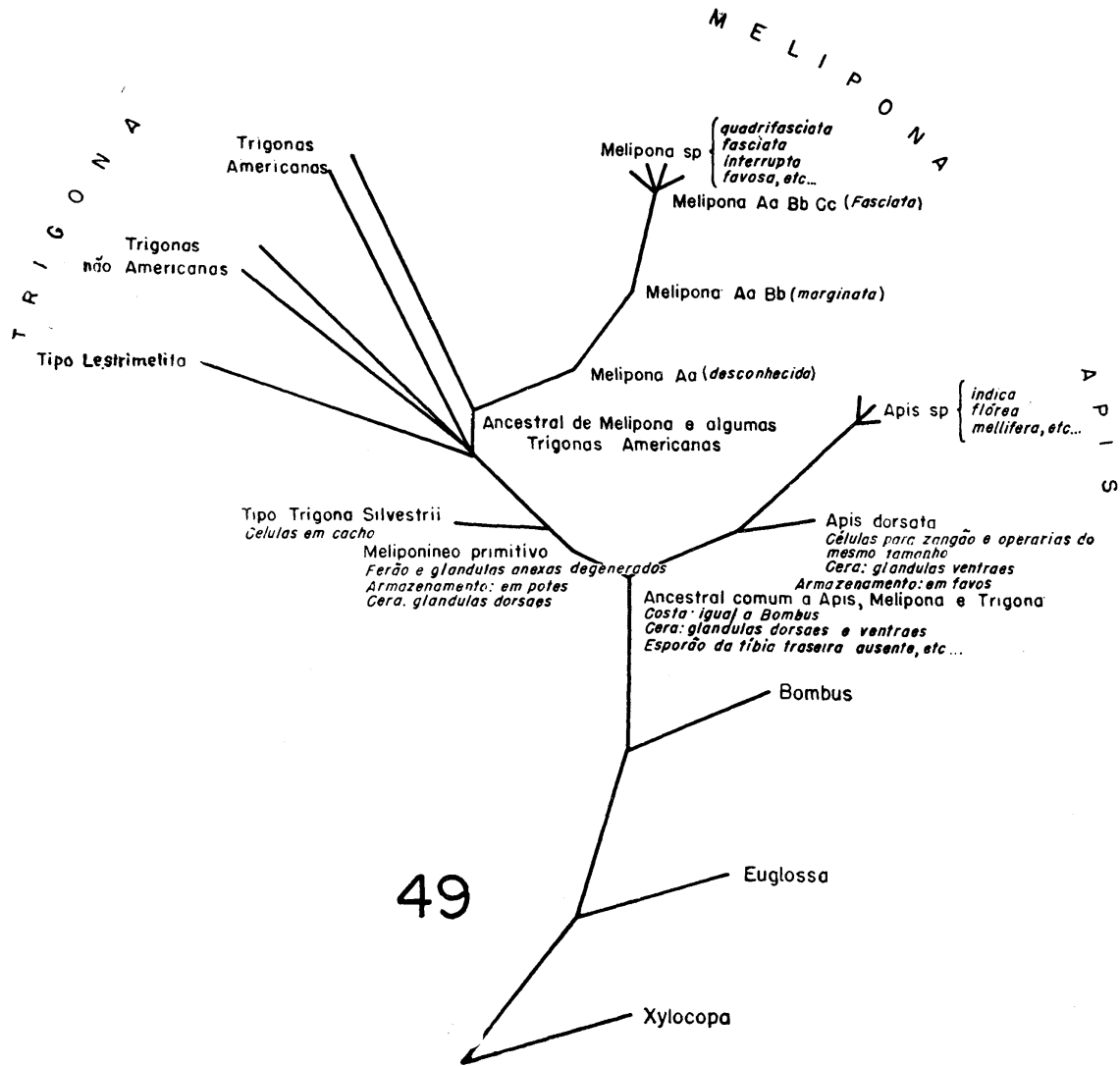


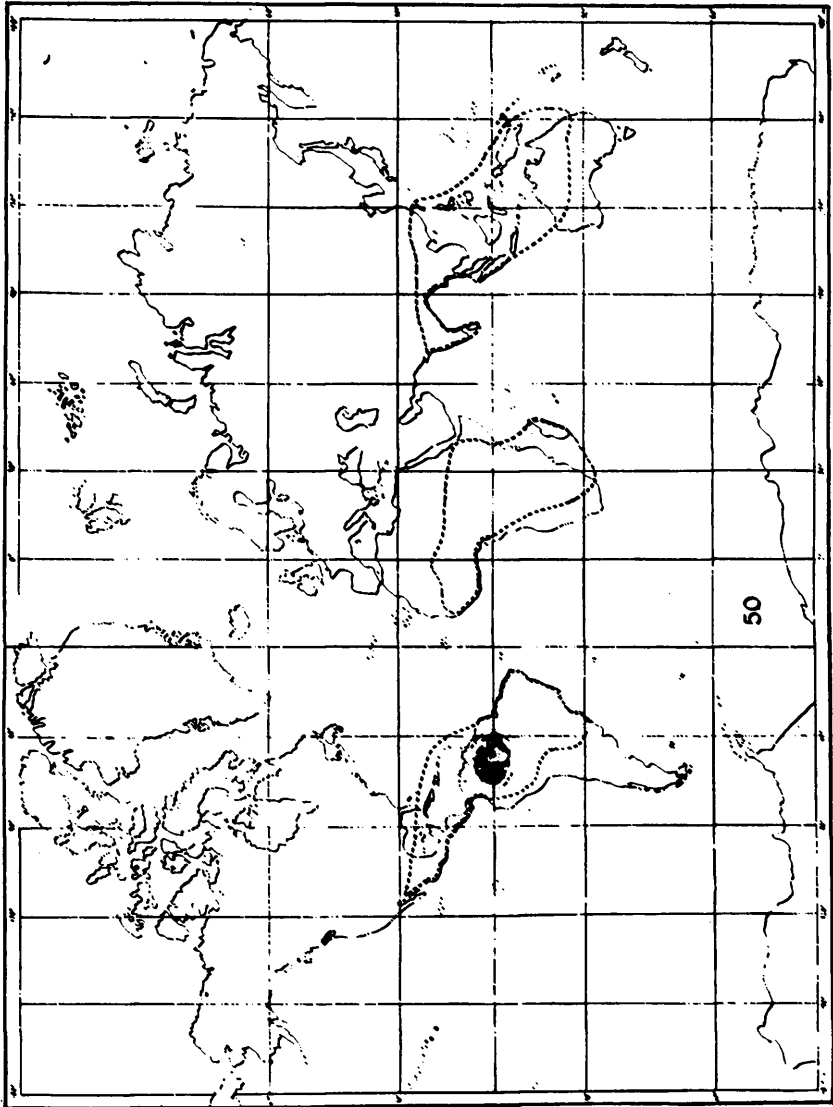
46

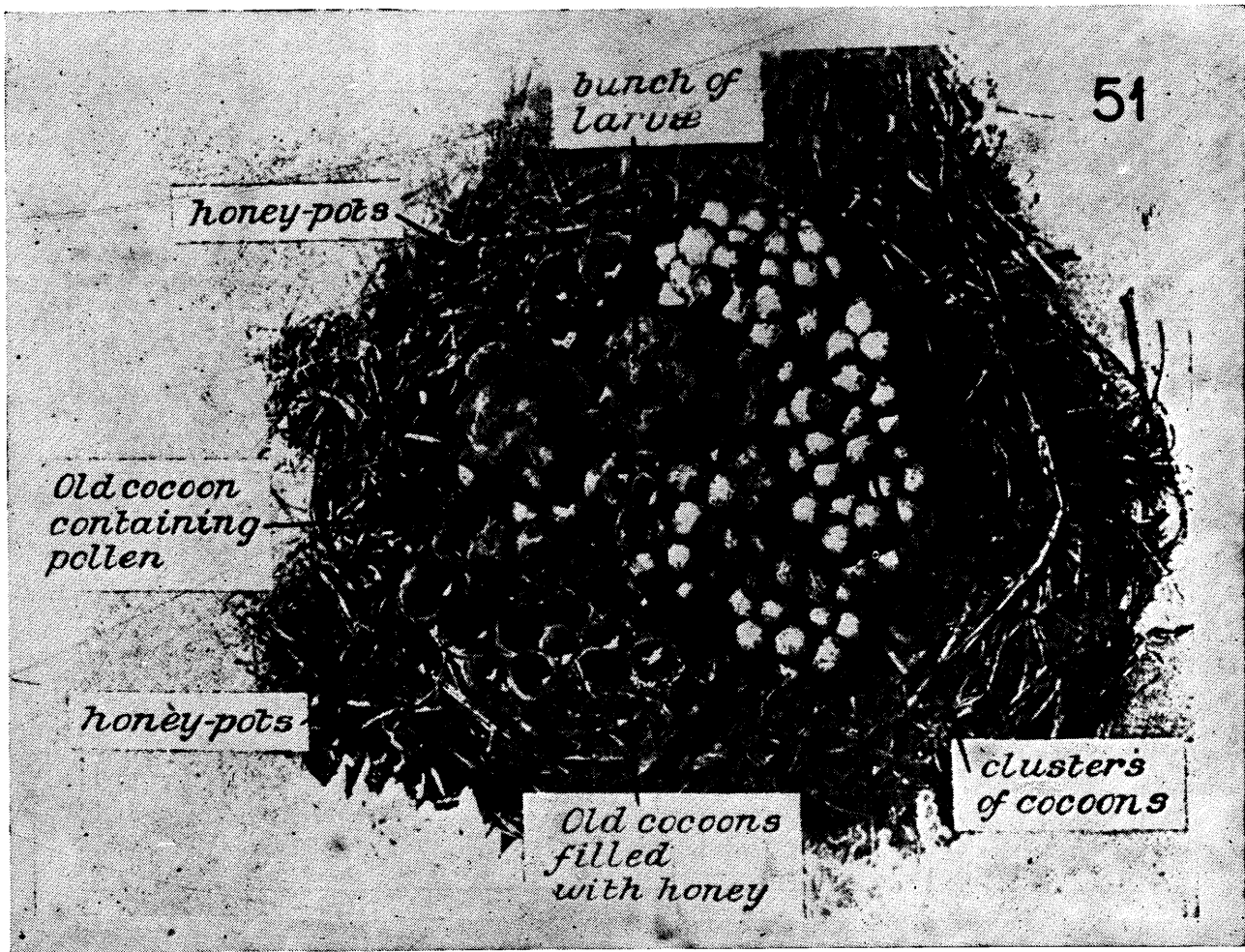












bunch of
larvæ

51

honey-pots

Old cocoon
containing
pollen

honey-pots

Old cocoons
filled
with honey

clusters
of cocoons

QUADRO II
Mil quilos de café em côco produziram :

"Peneiras" ou tipos produzidos (1)	Sumatra										Burban										Nacional										Amarelo de Botucatu									
	1932	1933 (7)	1934	1935	1936	1937	1938	1940 (8)	1942	1944	1932	1933	1934	1935	1936	1937	1938	1940	1942	1944	1932	1933	1934	1935	1936	1937	1938	1940	1942	1944	1932	1933	1934	1935	1936	1937	1938	1940	1942	1944
Peneiras 18 e 19 em uma só	137,8	—	53,2	122,4	25,6	100,0	43,5	58,7	8,3	3,2	173,0	32,1	50,7	83,7	17,2	67,1	19,7	38,7	7,4	4,7	171,4	67,1	55,0	93,9	16,4	82,4	31,5	38,4	6,4	8,8	191,3	77,5	58,4	96,7	22,2	108,6	29,7	38,0	8,0	43,0
Peneira 17	167,3	—	106,7	166,1	80,5	105,0	87,0	146,2	157,6	98,9	163,5	91,0	104,3	132,6	51,6	106,8	61,1	116,2	110,9	88,2	167,5	146,0	112,5	157,7	57,6	118,9	86,5	124,4	140,5	123,4	164,2	140,0	111,7	147,5	69,3	133,4	74,3	117,6	120,0	107,5
Peneira 16	131,4	—	130,1	105,0	161,0	96,8	129,1	107,5	126,8	129,6	115,4	136,6	130,0	117,4	130,9	135,6	125,4	100,0	116,8	115,3	110,9	151,3	132,7	112,5	148,3	127,8	147,3	101,2	121,4	127,1	109,8	140,0	132,3	118,6	150,5	128,3	135,1	100,5	100,0	121,5
Peneira 15	41,7	—	75,8	29,1	102,4	64,1	117,1	65,0	114,1	126,2	31,0	119,1	81,0	66,2	108,4	120,5	152,0	89,2	107,9	156,4	25,9	72,3	69,5	42,9	97,5	91,9	133,0	79,0	96,8	94,6	35,0	81,2	72,6	62,2	104,7	79,8	148,6	78,4	73,3	145,1
Moca 1	19,6	—	14,2	29,1	9,7	13,4	7,5	13,7	6,1	6,4	22,4	8,0	13,8	20,9	7,9	13,7	6,2	8,7	5,9	7,1	20,7	8,4	15,2	23,2	8,2	12,1	9,0	8,1	5,5	10,4	19,7	10,0	16,0	20,7	10,4	17,0	8,1	7,3	4,4	7,0
Moca 2	18,4	—	28,5	23,3	38,0	24,4	25,5	25,0	33,3	34,7	18,6	16,1	33,6	30,2	31,7	37,0	34,5	27,5	34,0	36,7	16,8	22,3	9,5	33,6	38,1	36,5	37,4	23,7	38,1	50,4	21,0	23,7	38,7	27,6	41,8	39,2	41,8	30,1	31,1	40,3
Moca 3	2,4	—	4,9	2,9	1,2	5,0	45,0	8,0	15,5	15,5	1,6	2,6	7,7	11,6	1,3	9,5	65,8	12,5	14,8	21,4	1,3	0,0	6,5	8,1	1,3	8,6	38,7	10,2	14,3	14,0	1,2	1,2	7,3	11,5	1,3	7,8	55,4	12,2	11,1	20,4
Miudo (2)	14,7	—	9,1	5,8	17,0	9,2	7,5	16,2	59,4	25,9	11,2	26,7	10,2	4,6	15,8	19,7	3,1	18,5	63,6	29,4	9,6	14,4	8,2	2,3	13,7	14,3	1,3	20,7	36,9	15,1	12,8	16,2	9,2	4,6	24,8	11,7	2,7	19,6	95,5	18,3
Repasse das peneiras grandes (3)	12,7	—	14,8	0,0	0,0	5,0	6,0	0,8	59,7	29,3	3,3	6,7	9,4	0,0	10,5	8,2	7,8	0,8	53,2	33,2	3,8	8,0	11,2	0,0	8,2	12,1	6,4	0,9	45,7	48,8	2,5	6,2	8,0	0,0	2,6	7,3	9,4	0,7	44,4	3,3
"Coquinhos" não beneficiados	8,0	—	3,1	5,8	3,6	6,1	7,5	0,6	0,8	0,2	8,0	6,7	4,0	7,0	4,0	8,2	9,4	0,8	3,0	5,3	8,3	4,4	3,7	4,6	4,1	8,1	5,1	0,7	0,5	0,5	8,0	6,2	4,3	6,4	5,2	9,1	8,6	1,2	1,2	5,3
Cabeça (4)	2,5	—	0,0	5,8	2,4	6,1	3,0	0,8	0,0	0,0	15,4	0,0	0,0	4,6	2,6	6,8	3,1	0,8	0,6	0,0	13,5	0,0	0,0	4,6	2,7	5,9	2,6	0,7	0,0	0,2	14,8	0,0	0,0	4,6	3,9	7,8	2,7	0,7	0,0	0,5
Repasse das peneiras pequenas (5)	54,0	—	86,0	29,1	41,5	30,0	76,5	40,0	0,8	20,3	51,9	78,9	47,4	5,8	52,9	40,5	47,0	41,2	1,4	0,7	55,0	61,8	55,0	2,3	46,7	52,7	37,4	33,7	0,5	0,2	42,4	42,5	38,7	5,7	14,4	44,5	29,7	32,6	0,4	1,1
Total geral (6)	610,5	—	526,4	524,4	482,9	465,1	555,2	482,5	582,4	490,2	615,3	524,5	492,1	484,6	434,8	573,6	535,1	454,9	519,5	498,4	604,7	556,0	479,0	485,7	442,8	571,3	536,2	441,7	508,6	488,5	622,7	544,7	497,2	506,1	451,1	594,5	546,1	438,9	489,4	513,3
% desse total s/ o café em côco	61,0	—	52,6	52,4	48,3	46,5	55,5	48,2	58,2	49,0	61,5	52,4	49,2	48,5	43,4	57,4	53,5	45,5	51,9	49,8	60,5	55,6	47,9	48,6	44,3	57,1	53,6	44,2	50,8	48,8	62,3	54,5	49,7	50,6	45,1	59,4	54,6	43,9	48,9	51,3
% de palha e perdas	39,0	—	47,4	47,6	51,7	53,5	44,5	51,8	41,8	51,0	38,5	47,6	50,8	51,5	56,6	42,6	46,5	54,5	48,1	50,2	39,5	44,4	42,1	51,4	55,7	42,9	46,4	55,8	49,2	51,2	37,7	45,5	50,3	49,4	54,9	40,6	45,4	56,1	51,1	48,7

(1) — O beneficiamento de todas estas produções foi realizado, até 1938, com a "Máquina S. Paulo", tipo 2, cuja classificação deixou sempre muito a desejar, em consequência do que a própria firma, sua construtora, resolveu substituí-la por outra mais perfeita, só utilizada nos beneficiamentos de 1940 em diante.

(2) — Café miudo, muito ordinário, com grande proporção de grãos pretos, fazendo exceção em algumas safras como a de 1934.

(3) — "Repasse das peneiras grandes", — onde predominam de modo quase absoluto as "conchas".

(4) — "Cabeça", — café constituído de um pouco de "moca" grande e, principalmente, de "conchas".

(5) — O "Repasse das peneiras pequenas" era constituído de café muito ordinário, com predominância de grãos pretos.

(6) — O "Total Geral" inclui os "coquinhos" não beneficiados.

(7) — Ano de falha total para esta variedade.

(8) — Não houve colheita para esta experiência em 1939 em virtude de extraordinária "chuva de pedras", que em Fevereiro inutilizou toda a experiência.

De 1940, em diante não só o beneficiamento foi realizado

com outra máquina, a de nº. 1 como os talhões desta exp. entram em declínio manifesto de produção e de vigor em consequência de crescente invasão de tiririca. Como não é possível um ajustamento perfeito entre os últimos tipos produzidos pela nova máquina e os da antiga, o "miúdo" de nosso quadro ficou sendo a soma do "escolha" e do "expurgo da 1.ª classificação", que não existiam na antiga. Os tipos, porém, que mais importam (peneiras 15 a 19 e mocas) não sofrem alteração, já que para a peneira 15 atribuímos a soma desta e das de números 14 e 13.