



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
Instituto de Ciências Biológicas  
Departamento de Genética, Ecologia e Evolução,  
Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Conservação e  
Manejo da Vida Silvestre



O comportamento e a distribuição de fêmeas modulam oportunidades de  
acasalamento de machos de abelhas oligoléticas

Ana Laura de Araujo Franco Dutra Pimentel

Orientador: Clemens P. Schlindwein

Co-orientadora: Reislá Oliveira

Belo Horizonte, MG  
Abril, 2021

ANA LAURA DE ARAUJO FRANCO DUTRA PIMENTEL

O comportamento e a distribuição de fêmeas modulam oportunidades de  
acasalamento de machos de abelhas oligoléticas

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ecologia, Conservação e Manejo de Vida Silvestre, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutora em Ecologia, Conservação e Manejo de Vida Silvestre.

Orientador: Clemens P. Schlindwein

Co-orientadora: Reislá Oliveira

Belo Horizonte, MG  
Abril, 2021

043

Pimentel, Ana Laura de Araujo Franco Dutra.

O comportamento e a distribuição de fêmeas modulam oportunidades de acasalamento de machos de abelhas oligoléticas [manuscrito] / Ana Laura de Araujo Franco Dutra Pimentel. – 2021.

84 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientador: Clemens P. Schlindwein. Co-orientadora: Reislá Oliveira.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Conservação e Manejo da Vida Silvestre.

1. Ecologia. 2. Abelhas. 3. Alimentação. 4. Territorialidade. 5. Comportamento Sexual Animal. I. Schlindwein, Clemens Peter. II. Oliveira, Reislá Silva de. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. IV. Título.

CDU: 502.7



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA, CONSERVAÇÃO E MANEJO DA VIDA SILVESTRE



### Ata da Defesa de Tese

Nº 202  
Entrada: 2016/2

#### Ana Laura de Araújo Franco Dutra Pimentel

No dia 30 de abril de 2021, às 14:00 horas, por vídeo conferência, teve lugar a defesa de tese de doutorado no Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Conservação e Manejo da Vida Silvestre, de autoria do(a) doutorando(a) Ana Laura de Araujo Franco Dutra Pimentel, orientando(a) do(a) Professor(a) Clemens Peter Schlindwein, intitulada: **“O comportamento e a distribuição de fêmeas modulam oportunidades de acasalamento de machos de abelhas oligoléticas”**. Abrindo a sessão, o(a) Presidente(a) da Comissão, Doutor(a) Reisla Silva de Oliveira, após dar a conhecer aos presentes o teor das normas regulamentares do trabalho final, passou a palavra para o(a) candidato(a) para apresentação de seu trabalho. Estiveram presentes a Banca Examinadora composta pelos Doutores: Paulo Enrique Cardoso Peixoto (UFMG), Airton Torres Carvalho (Unidade Acadêmica de Serra Talhada), Paula Cabral Eterovick (PUC/MG), Roberth Fagundes (UNILAB) e demais convidados. Seguiu-se a arguição pelos examinadores, com a respectiva defesa do(a) candidato(a). Após a arguição, apenas os senhores examinadores permaneceram no recinto para avaliação e deliberação acerca do resultado final, sendo a decisão da banca pela:

- (X) Aprovação da tese, com eventuais correções mínimas e entrega de versão final pelo orientador diretamente à Secretaria do Programa, no prazo máximo de 30 dias;
- ( ) Reavaliação da tese com avaliação pelos membros da banca do documento revisado, sem nova defesa, no prazo máximo de 30 dias, sob possibilidade de reprovação;
- ( ) Reformulação da tese com indicação de nova defesa em data estabelecida a critério do Colegiado em observância às Normas Gerais da Pós-graduação na UFMG a ao Regimento do PPG-ECMVS;
- ( ) Reprovação

A banca indica esta tese aos Prêmios CAPES e UFMG de teses? ( ) SIM (X) NÃO

Nada mais havendo a tratar, o Presidente da Comissão encerrou a reunião e lavrou a presente ata, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora.

Belo Horizonte, 30 de abril de 2021.

Assinaturas dos Membros da Banca Examinadora



Documento assinado eletronicamente por **Paulo Enrique Cardoso Peixoto, Subcoordenador(a)**, em 06/05/2021, às 09:21, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

Documento assinado eletronicamente por **Reisla Silva de Oliveira, Usuário Externo**, em 06/05/2021, às 13:08, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de](#)



[13 de novembro de 2020.](#)



Documento assinado eletronicamente por **Roberth Fagundes de Souza, Usuário Externo**, em 06/05/2021, às 13:48, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.](#)



Documento assinado eletronicamente por **Airton Torres Carvalho, Usuário Externo**, em 06/05/2021, às 16:23, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.](#)



Documento assinado eletronicamente por **Paula Cabral Eterovick, Usuário Externo**, em 11/05/2021, às 16:22, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.](#)



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site

[https://sei.ufmg.br/sei/controlador\\_externo.php?](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0)

[acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **0710390** e o código CRC **685186FC**.

*Dedico esta tese às grandes mulheres da minha vida, minha avó  
Maria Catarina Dutra (in memoriam) e minha mãe Ana Cristina Dutra.*

## AGRADECIMENTOS

Foram quase cinco anos de caminhada para chegar ao final deste ciclo. Um percurso que passou por cidades e estados, de Minas Gerais ao Rio Grande do Sul. Que se dividiu entre a ciência das abelhas e a consciência das nossas vidas humanas, de D. Marias a Aleluia, passando por Guimarães e Conceição Evaristo. Foram anos de muitos atravessamentos, perdas e amores, misturados à poesia escrita e visual. De tudo isso, só diria ser fácil, quem não viveu. Mas a tudo, eu, que vivi, devo agradecer.

Quero agradecer à Universidade Federal de Minas Gerais, ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Conservação e Manejo da Vida Silvestre, às professoras e professores com os quais tive a oportunidade de aprender durante esses anos e aos funcionários desta Instituição. Também aos colaboradores Gustavo Peixoto e Diogo Vidal, pela disponibilidade de contribuir para esta pesquisa. E aos membros e membras das bancas de qualificação e defesa, que tiraram parte do seu tempo para me ajudar a construir os produtos deste trabalho.

Eu tive a sorte de fazer parte do Laboratório PLEBEIA, um ambiente de muita cooperação, troca e companheirismo e agradeço a todas e todos que conviveram comigo neste tempo e fizeram este ambiente mais agradável e diverso. Um obrigada com um carinho especial para as amigas Priscila —“Coragem, Pri”— e Fernanda. Agradeço, imensamente, ao Samuel, por ser um grande companheiro de campo, de viagem e por ter paciência de repetir sempre os nomes das plantas, que eu sempre esquecia; à amiga e parceira de campo Isabelle, pelas aventuras e desventuras, por ser uma super motorista do Quase, pela companhia na fuga dos touros, na produção de geleia e de choros no alto de pedras. Obrigada por ter sido meu braço direito e esquerdo nesta trajetória e ter me dado força e incentivo sempre que precisei.

Grande parte desta ligação entre o grupo PLEBEIA é devido ao nosso querido orientador Clemens que sempre estimula nossa cooperação, divide seu amplo(!) conhecimento conosco e é um grande exemplo de boas relações, até mesmo no meio acadêmico. Agradeço a ele por ter sido sempre compreensivo comigo nestes anos e olhar-nos como humanos para além de orientados.

Agradeço à Reislá que sempre foi muito além do que uma orientadora acadêmica. Ela me orientou no sentido mais amplo desta palavra e me deu norte (para o Sul). Uma cientista artista mulher amiga, que oscila entre os esses mundos, transformando cada um para fazer com que caibam um dentro do outro e, assim, dentro dela.

Os trabalhos de campo desta pesquisa foram realizados no interior do Rio Grande do Sul, em um pequeno distrito chamado Minas do Camaquã. Os moradores desse local nos acolheram com muito afeto, compartilharam sua cultura e seus conhecimentos conosco. Eu quero agradecer,

especialmente, à D. Maria, à Marlise e suas famílias pela amizade e carinho comigo, desde a época do mestrado. Agradeço também à família Pohen, que nos ajudou em campo e nos forneceu muitos alimentos saudáveis de sua horta, inclusive os melhores morangos sem agrotóxicos que faziam nossa alegria no final de um dia de campo. Por fim, gostaria de agradecer ao grupo da Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul, que foram nossos parceiros e nos ajudaram a entender mais sobre os cactos do RS.

Estou em Minas Gerais desde a graduação e, apesar de ser carioca, já me considero uma mineira. Sinto um grande privilégio por ter vivido estes anos em Belo Horizonte. Esta cidade estimulou meus sentidos, me deu acesso à cultura e a amigas e amigos que fizeram parte da minha construção. Eu gostaria de citar todas e todos amigas(os) com quem tive a sorte de conviver e trocar nestes anos, tanto em BH como em outros lugares deste país, mas teria que me estender muito. E isso é o sinal de que estive nos lugares certos, com as pessoas certas. Então, só vou dizer que sou muito grata por tê-las na minha vida e que amo vocês, sintam-se incluídas nesses agradecimentos. Aqui também incluo a psicóloga Ana Amorim que foi essencial para minhas descobertas e para que hoje eu possa agradecer a tudo de coração aberto.

Por fim, quero agradecer à toda minha família, raízes da minha formação como indivíduo, de onde tiro a força sempre que preciso. Em especial, agradeço às minhas irmãs, Ana Letícia e Ana Luíza, à minha mãe, Ana Cristina, ao meu pai, Luiz Fernando. Eu gostaria muito que minha avó, Maria Catarina, tivesse vivido para ver esta minha conclusão e as outras tantas conquistas que ainda gostaria de compartilhar com ela. Minha avó foi e continua sendo a maior referência e influência que tive, que tanto me ensinou. Não tenho nem palavras para agradecer o seu significado na minha vida e o tanto que sou grata por ela ter dedicado tanto da sua vida para mim. Ainda não sei o rumo que a minha vida irá tomar a partir daqui, mas queria que ela soubesse que vai ficar tudo bem.

Obrigada!

*“Todos estão loucos, neste mundo? Porque a cabeça da gente é uma só, e as coisas que há e que estão para haver são demais de muitas, muito maiores diferentes, e a gente tem de necessitar de aumentar a cabeça, para o total. Todos os sucedidos acontecendo, o sentir forte da gente — o que produz os ventos. Só se pode viver perto de outro, e conhecer outra pessoa, sem perigo de ódio, se a gente tem amor. Qualquer amor já é um pouquinho de saúde, um descanso na loucura.”*

Grande Sertão Veredas, João Guimarães Rosa

## **Resumo**

Em sistemas biológicos em que as fêmeas apresentam relações especializadas com plantas hospedeiras, como sistemas oligoléticos, pode haver variações temporais no comportamento de forrageio das fêmeas, que influenciam na disponibilidade de parceiras para os machos. Essas variações devem ser consideradas para entender a evolução dos sistemas de acasalamento de forma mais acurada. Apesar de alguns estudos avaliarem a influência das fêmeas no comportamento dos machos, algumas hipóteses só podem ser respondidas quando avaliadas nos ambientes naturais. Nós estudamos em campo duas espécies de abelhas solitárias de alimentação restrita a pólen de Cactaceas. No estudo de *Anthrenoides micans*, nós demonstramos que as fêmeas apresentam um comportamento adaptativo de rejeição de cópulas. Este comportamento permite que elas aumentem sua eficiência de forrageio e visitem 64% mais flores rejeitando machos em 82% das tentativas de cópula do que se copulassem todas as vezes. Em *Ptilothrix fructifera*, machos defendem territórios contra invasores para aumentar seu acesso a fêmeas não acasaladas. Nós demonstramos que nessa espécie, a acessibilidade dos territórios para as fêmeas parece modular as chances de acasalamento de machos territoriais com fêmeas não acasaladas, talvez o maior benefício conferido pela territorialidade em sistemas monândricos, como este. Em ambos os estudos nós evidenciamos que devemos considerar nos estudos sobre comportamento reprodutivo e sistemas de acasalamento avaliações sobre ecologia alimentar e o comportamento das fêmeas.

**Palavras-chave:** Custos da reprodução; Conflito sexual; Oligolectia; Coersão; Contexto Ecológico; Territorialidade; Competição intersexual; Monandria; Cactaceae

## **Abstract**

In biological systems in which females have specialized relationships with host plants, such as oligolectic systems, there may be temporal variations in female foraging behavior, which influence the availability of mates for males. These variations must be considered to understand the evolution of mating systems more accurately. Although some studies have evaluated the influence of females on male behavior, some hypotheses can only be answered when evaluated in natural environments. We studied in the field two species of solitary bees with restricted feeding of Cactaceae pollen. In the study of *Anthrenoides micans*, we demonstrated that females exhibit an adaptive copulation rejection behavior. This behavior allows them to increase their foraging efficiency and visit 64% more flowers rejecting males in 82% of mating attempts than if they mated every time. In *Ptilothrix fructifera*, males defend territories against invaders to increase their access to unmated females. We demonstrate that in this species, the accessibility of territories to females appears to modulate the mating chances of territorial males with unmated females, perhaps the greatest benefit conferred by territoriality in monandric systems such as this one. In both studies, we showed that we should consider in studies of reproductive behavior and mating systems assessments of food ecology and female behavior.

**Keywords:** Reproduction costs; Sexual conflict; Oligolectic; Coercion; Ecological Context; Territoriality; Intersexual competition; Monandry; Cactaceae

## Sumário

<b>INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	10
<b>Flor de cacto, o palco da vida reprodutiva de abelhas polinizadoras</b> .....	10
<b>Capítulo I</b> .....	25
<b>Females of a solitary bee reject males to collect food for offspring</b> .....	25
Acknowledgements.....	27
ABSTRACT.....	28
Introduction.....	29
Material and Methods.....	31
Results.....	35
Discussion.....	38
Conclusion.....	42
REFERENCES.....	43
<b>Capítulo II</b> .....	54
<b>Apenas guardar flores não basta! Distribuição de fêmeas modula chances de acasalamento de machos territoriais de <i>Ptilothrix fructifera</i> (Hymenoptera, Apidae)</b> .....	54
RESUMO.....	56
Introdução.....	57
Materiais e Métodos.....	59
Resultados.....	67
Discussão.....	72
Conclusões.....	76
REFERÊNCIAS.....	77

## **INTRODUÇÃO GERAL**

**Flor de cacto, o palco da vida reprodutiva de abelhas polinizadoras**



*Flor de cacto:  
o palco da vida reprodutiva de  
abelhas polinizadoras*

**Ana Laura Dutra**

*PPG Ecologia, Conservação e Manejo da Vida Silvestre  
Universidade Federal de Minas Gerais*

**Clemens Schlindwein**

*Departamento de Botânica  
Universidade Federal de Minas Gerais*

**Reisla Oliveira**

*Departamento de Genética, Ecologia e Evolução  
Universidade Federal de Minas Gerais*

## 2 **Flor de cacto, o palco da vida reprodutiva de abelhas polinizadoras**

### 4 *A biologia reprodutiva de abelhas solitárias*

5 Aproximadamente três quartos das 20 mil espécies de abelhas conhecidas no mundo são  
6 solitárias. Cada fêmea adulta, dessas abelhas, sozinha constrói e defende seu próprio ninho, provê  
7 as células de cria, em geral, com pólen e néctar, põe um ovo sobre este provisãoamento, fecha  
8 as células de cria e parte. Logo após postura do ovo, a larva eclode e, ao longo de uma a três  
9 semanas, consome todo alimento armazenado na célula de cria pela mãe. O desenvolvimento da  
10 larva até a fase adulta muitas vezes perdura por um ano. Pois, no decorrer deste período, a larva  
11 passa por cinco estágios larvais e se transforma em uma pré-pupa, quando seu desenvolvimento  
12 estagna em estado de diapausa — um retardo no desenvolvimento comum em vários grupos de  
13 animais. A pré-pupa sairá deste tipo de dormência induzido por hormônios apenas após receber  
14 estímulos ambientais ainda pouco conhecidos. Os quais acontecem, muitas vezes, no período que  
15 coincide com a floração de plantas melíferas, polinizadas por abelhas. É, então, que uma nova  
16 abelha solitária chega à fase adulta e emerge do ninho.

17 As abelhas recém-emergidas voam em busca de flores onde possam se alimentar de néctar  
18 para obter energia. Como dito anteriormente, sendo esta abelha uma fêmea, ela deverá copular,  
19 construir sozinha os novos ninhos, colocar os ovos e provisionar todo o alimento necessário para  
20 o desenvolvimento da cria. Tudo isso em apenas poucas semanas, durante o seu curto período de  
21 vida como adulta. Por isso, o tempo é um fator crucial para estas abelhas. O estágio em que estão  
22 ativas como adultas é, em geral, sincronizado com o período de floração de plantas que fornecem  
23 alimento. Sobretudo no caso de abelhas oligoléticas (*oligo* = poucas), nas quais as fêmeas  
24 restringem a dieta da prole a pólen de espécies de planta do mesmo gênero ou família, o que quer  
25 dizer que as fêmeas coletam o pólen para a cria e, frequentemente, também o néctar,  
26 exclusivamente nas flores de poucas espécies de plantas aparentadas. No universo dessas abelhas  
27 oligoléticas, as flores são, muitas vezes, os locais onde estratégias reprodutivas dos machos são  
28 centradas e tornam-se o palco da vida reprodutiva desses insetos. Um excelente exemplo para isso

29 são abelhas solitárias oligoléticas em flores de cactos que ocorrem no Pampa gaúcho, onde a  
30 maioria dos pequenos cactos globosos é polinizada por elas — cujo mundo gira apenas em volta  
31 deste grupo de plantas.

32

### 33 *Os cactos que alimentam as abelhas*

34 Nos Pampas do Rio Grande do Sul, Brasil, existe uma região chamada “Guaritas” com  
35 formações rochosas sedimentares pitorescas (Fig. 1). Nesta região, ocorre uma série de espécies  
36 de cactos endêmicas, que atraem a atenção de botânicos e naturalistas desde o século XIX.  
37 Atualmente, a maioria desses cactos se encontra na lista vermelha de espécies ameaçadas de  
38 extinção.



Figura 1. Vista da região das Guaritas, Rio Grande do Sul, Brasil. Onde ocorrem várias espécies de cactos ameaçados de extinção e as abelhas oligoléticas que são suas polinizadoras.

39

40 Os cactos das Guaritas  
41 crescem entre pastagens e  
42 afloramentos rochosos e suas flores se  
43 destacam nesses ambientes (Fig. 2). As  
44 flores da maioria das espécies abrem  
45 nos horários mais quentes do dia, entre  
46 11 e 13 horas. E em todos os  
47 indivíduos da mesma espécie elas  
48 desabroçam sincronicamente no



Figura 2. Afloramento de quartzito na região das Guaritas, RS, com indivíduos de *Parodia neohorstii* (Cactaceae) em floração.

49 mesmo horário e já se fecham duas a quatro horas depois, dependendo da espécie. A floração, no  
50 entanto, é descontínua e, usualmente, há períodos de vários dias sem flores abertas entre as  
51 fases de florescimento, como é o caso de *Parodia neohorstii*, *P. neobuenekeri*, *Gymnocalycium*  
52 *denudatum*; *Frailea gracilima* e *F. phaeodisca* (Fig. 3).

53 Em outras espécies de cactos a floração é mais previsível e se estende por mais tempo,  
54 como é o caso de *Opuntia*, que tem florescimento contínuo e suas flores grandes amarelo  
55 alaranjadas podem abrir em qualquer horário entre 9 e 16 horas e duram dois dias abertas (Fig.  
56 4).

57 As espécies do Pampa florescem entre outubro e janeiro. Neste mesmo período, as abelhas  
58 dos cactos emergem dos ninhos no solo e têm sua atividade de voo altamente sincronizada com o  
59 horário de abertura das flores. As fêmeas coletam a maior parte do pólen dessas flores e o estocam  
60 no ninho para alimentar a prole. As eficientes *Arhysosage cactorum*, por exemplo, coletam cerca  
61 de 50% de todo pólen de uma pequena população de *Parodia neohorstii* em apenas uma hora  
62 (Fig. 5). Apesar de boa parte deste pólen ir para as células de cria (Fig. 6), elas também depositam  
63 nos estigmas uma quantidade de grãos de pólen suficiente para garantir a formação de frutos e  
64 fecundar todos os óvulos das flores. Tãmanha é a importância das abelhas dos cactos que, na sua  
65 ausência, as plantas não produzem frutos.



Figura 3. Espécies de cactos na Região das Guaritas, no domínio do Pampa Riograndense, *Parodia crassigibba* (a), *Frailea gracillima* (b), *Gymnocalycium denudatum* (c) e *Frailea phaeodisca* (d).

Enquanto abelhas garantem a reprodução sexuada dos cactos e são responsáveis pela formação de frutos e novos indivíduos, as flores são o ponto central da vida sexual dessas abelhas especialistas.

### *Comportamento reprodutivo dos machos de abelhas*

O que fazem os machos, se são as fêmeas que realizam todo o trabalho de nidificação e provisionamento do alimento larval? Para os machos a reprodução – encontrar fêmeas, copular e assegurar transferência de espermatozoides – é o único objetivo de vida, enquanto a cópula é apenas um detalhe na vida de fêmeas de abelhas solitárias. Na maioria das espécies de abelhas, acredita-se que as fêmeas copulem apenas uma vez na vida, o que basta para receberem esperma suficiente para fertilizar todos os seus óvulos. Depois, elas deixam de ser receptivas.



Figura 4. Flores de *Opuntia megapotamica*, onde abelhas solitárias coletam recursos e os sexos se encontram.

88 Como na maioria dos insetos, o investimento na produção de gametas é assimétrico entre machos e fêmeas de abelhas: eles produzem espermatozoides muito menores e em maior quantidade que os grandes e custosos óvulos produzidos pelas fêmeas. Com o mesmo

98 investimento energético, um macho produz muito mais gametas que uma fêmea e pode fertilizar  
 99 todos os óvulos de várias parceiras. Essa diferença leva a um conflito de interesses entre os sexos.  
 100 Nas abelhas solitárias, fica explícito este conflito de interesses, tanto investimento diferencial na  
 101 produção quanto no cuidado com a prole.

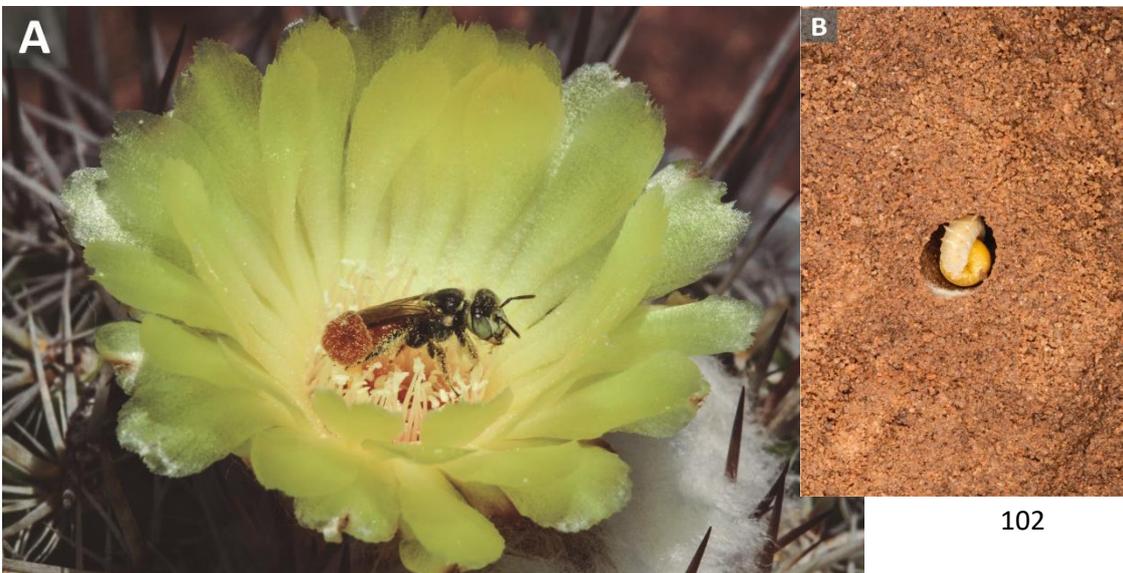


Figura 5. Fêmea de *Arhysosage cactorum* coletando pólen em flor de *Parodia neohorstii* (a); célula de cria de *A. cactorum* com massa de alimento aprovisionado, com pólen exclusivamente de Cactaceae, e larva desta espécie.

103

104 ***As estratégias reprodutivas dos machos: flores de cactos como ponto de encontro de***  
105 ***parceiras***

106 Tendo em vista que as fêmeas são um recurso limitante ao sucesso reprodutivo dos  
107 machos, na década de 70, os etólogos Stephen Emlen e Lewis Oring, propuseram que a  
108 distribuição de parceiras seria determinante na estratégia empregadas por eles para encontrá-las.  
109 A fêmeas, por sua vez, distribuem-se de acordo com os padrões de distribuição dos recursos  
110 alimentares e locais de nidificação. Assim, dependendo da distribuição espacial dos recursos e,  
111 conseqüentemente, das fêmeas, os machos adotam diferentes estratégias reprodutivas. Eles  
112 podem buscar pacificamente ou por meio de lutas pela posse dos locais de nidificação, por  
113 recursos atrativos a elas ou para salvaguardá-las de novos parceiros.

114 Como as fêmeas de abelhas oligoléticas exibem uma relação estreita com suas plantas  
115 fonte de pólen e que, desta maneira, são sítios para encontrá-las com alta probabilidade, é lá que  
116 os machos de muitas espécies de abelhas oligoléticas as buscam. Mas as estratégias que machos  
117 utilizam para encontrar as fêmeas nas flores variam amplamente entre as espécies de abelhas. As  
118 abelhas dos cactos são uma fonte rica para se investigar estratégias e comportamento sexual de  
119 abelhas especialistas. A seguir, apresentaremos as estratégias reprodutivas de machos de três  
120 espécies de abelhas dos cactos no Pampa.

121

122 **Territorialidade e a luta pelas flores - *Ptilothrix fructifera* e flores de *Opuntia***

123 Por mais fácil que possa parecer a vida dos machos de abelhas solitárias, alguns lutam  
124 muito para conseguir seu “lugar ao sol”. Este é o caso dos machos de *Ptilothrix fructifera*, uma  
125 espécie solitária da tribo Emphorini, família Apidae. As fêmeas de *P. fructifera* nidificam em  
126 agregações com centenas de ninhos em estradas de terra, com solo compactado na região das  
127 Guaritas.

128 Nesta espécie, as fêmeas copulam somente uma vez no início da fase adulta. Entre os  
129 machos, essa monandria, causa uma corrida para ser o primeiro a encontrar uma fêmea não

130 acasalada e obter a paternidade de seus filhos. Depois da cópula, as fêmeas deixam de ser atrativas  
131 aos machos, e eles não as abordam mais ao encontrá-las nas flores (Fig. 6a). Esta perda de  
132 interesse, provavelmente se deve a alterações nos feromônios sexuais, como acontece em outras  
133 espécies de abelhas solitárias. Essas mudanças odoríferas permitem que fêmeas não receptivas se  
134 alimentem sem a interrupção por machos e economizem tempo e energia.

135



Figura 6. Fêmeas de *Ptilothrix fructifera* coletando pólen em flor de *Opuntia elata* (a); Machos de *P. fructifera* brigando em flor de *O. elata* (b).

136

137 As opuntias, também conhecidas como urumbebas, se distribuem em agrupamentos de  
138 indivíduos no campo. Alguns machos conseguem monopolizar um conjunto de flores, e formar  
139 verdadeiros territórios protegidos. Como as flores desses cactos são a única fonte de pólen onde  
140 as fêmeas buscam por alimento para a prole, os machos que detêm territórios com flores  
141 aumentam sua chance de encontrar com as fêmeas não acasaladas. Contudo, como não há flores  
142 suficiente para que todos os machos, nem todos conseguem dominar um território com flores de  
143 *Opuntia*. Com isso, somente machos de maior tamanho corporal conseguem formar, manter e  
144 defender territórios, pois a defesa do território envolve brigas corporais com mordidas que podem  
145 levar a injúrias nos envolvidos. Os machos maiores têm maior chance de ganhar as brigas e  
146 expulsar invasores menores do seu território (Fig. 6b). Os machos menores, por sua vez, não são  
147 territoriais e vagueiam entre arbustos nas proximidades dos ninhos, buscando interceptar fêmeas  
148 não acasaladas que buscam alimento nas flores de *Opuntia*. Eles também podem invadir territórios

149 de machos grandes, sobretudo aqueles às margens da agregação. As chances de acasalamento  
150 desses machos, contudo, é muito menor, praticamente ínfima.

151

152 **Além de todo trabalho com a prole, fêmeas carregam os machos nas costas –**

153 ***Arhysosage cactorum***

154

155 As fêmeas de *Arhysosage cactorum* (tribo Calliopsini, família Andrenidae) coletam pólen  
156 apenas em flores de cactos pequenos globosos ou semienterrados no solo de *Parodia*,  
157 *Gymnocalycium* e *Frailea* (Fig. 2). Como as flores desses pequenos cactos não oferecem néctar,  
158 elas buscam por este recurso nas flores das opuntias. A floração dos pequenos cactos é curta,  
159 esporádica e altamente sincronizada, ou seja, cactos em diferentes locais florescem por poucas  
160 horas (de duas a quatro horas por dia), em poucos episódios por ano e ao mesmo tempo. Em *P.*  
161 *neohorstii*, por exemplo, as flores permanecem abertas por apenas três horas e plantas com flores  
162 abertas somente podem ser vistas cerca de cinco vezes por mês. Assim, abelhas fêmeas e machos  
163 precisam encontrar a cada dia a espécie de cacto que está em floração.

164

165 Quando alguma dessas  
166 espécies está em flor, é comum  
167 encontrar casais de *A. cactorum*  
168 em posição de cópula nas flores  
169 (Fig. 7a). Diferentemente das de  
170 *P. fructifera*, as fêmeas de *A.*  
171 *cactorum* estão sempre  
172 receptivas sexualmente. Elas são  
173 poliândricas, o que significa que  
174 copulam com mais de um macho  
175 e mantêm a atratividade aos  
176 machos durante a vida toda.  
177 Assim, nesta espécie, fêmeas e  
178 machos possuem diversos  
179 parceiros sexuais. As fêmeas  
180 devem distribuir seu tempo entre  
181 as múltiplas cópulas e o  
182 forrageio em flores pouco  
183 longevas, o que gera uma pressão para que sejam coletoras eficientes.

184 A estratégia de acasalamento utilizada por machos de *A. cactorum* é de inspecionar flores  
185 em busca de fêmeas sem, contudo, estabelecer territórios. Durante a busca, os machos mergulham  
186 nas flores e muitas vezes permanecem ali um tempo. Eles aguardam pela visita de uma fêmea  
187 com o corpo enterrado entre estames e apenas com a face voltada para fora da flor. A face dos  
188 machos é da cor dos estames, o que os torna camuflados na flor, e seja uma estratégia para que as  
189 fêmeas visitem as flores sem notar sua presença (Fig. 7b). Ao encontrar a fêmea na flor, o macho  
190 imediatamente se sobrepõe a ela e se agarra com suas mandíbulas entre o abdômen e o tórax da  
191 fêmea (Fig. 7a). Quando a fêmea se movimentar, o macho se apoia com as pernas e permanece  
192 parado enquanto a fêmea está em voo. Ou seja, é ela que faz todo o esforço para carregar o macho

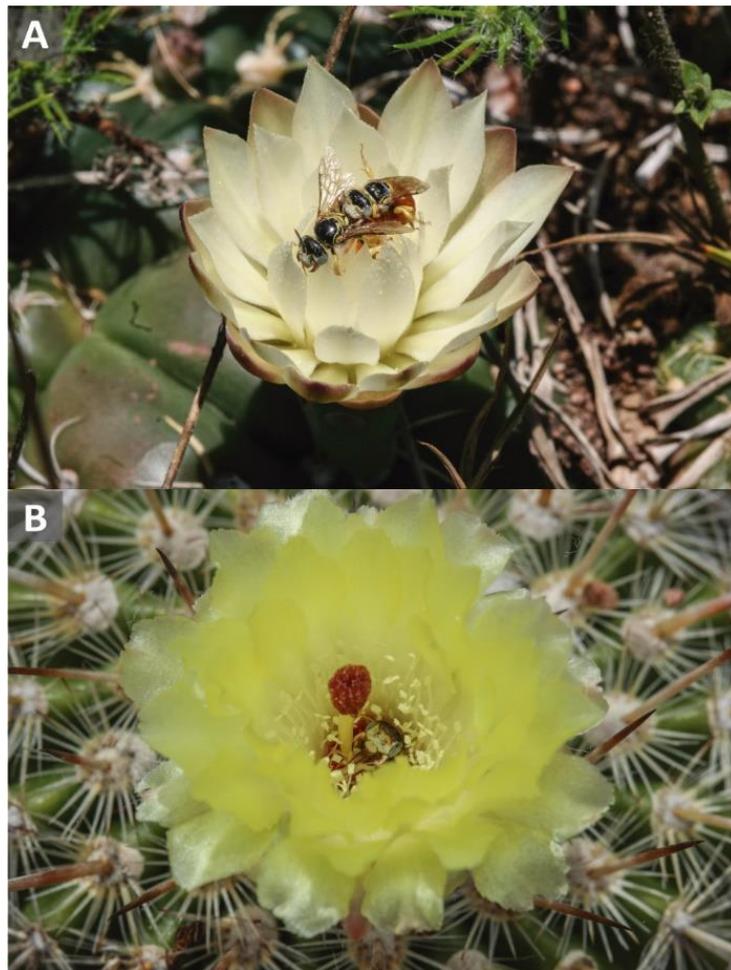


Figura 7. Casal de *Arhysosage cactorum* em cópula em flor de *Gymnocalycium denudatum* (a). Macho *A. cactorum* entre os estames em flor de *Parodia neohorstii* (b).

193 durante a cópula e, ainda assim, prossegue com sua coleta de pólen, voando de flor em flor. Os  
194 voos de cópula são longos, podendo durar até 15 minutos, o que para abelhas é muito tempo. A  
195 associação duradoura entre machos e fêmeas em cópula pode representar um caso de guarda de  
196 parceira, uma forma de competição entre os machos para garantir que seu esperma seja utilizado  
197 para fertilizar os óvulos da fêmea. Esse é um exemplo de corrida de machos para ser o último a  
198 copular com a fêmea, como caracterizado bem por Danforth, Minckley e Neff (2019) em seu  
199 recente livro sobre abelhas solitárias.

200

### 201 **Fêmeas se defendem contra o assédio sexual – *Anthrenoides micans***

202 O tempo dedicado ao acasalamento é, em geral, mais custoso para as fêmeas do que para  
203 os machos. A perda de tempo durante a cópula é mais significativa para uma espécie na qual as  
204 fêmeas têm um curto período para coletar e ainda competem acirradamente com outras fêmeas  
205 pelo recurso. Em *Anthrenoides micans*, machos chegam às flores ainda antes da abertura e  
206 começam a sobrevoá-las. Quando avistam uma fêmea na flor, eles imediatamente tentam copular.  
207 As cópulas desta espécie, assim como em *A. cactorum*, são longas (até 12 minutos) e são as fêmeas  
208 que carregam os machos. Os machos permanecem parados durante a cópula, com as asas  
209 fechadas, em posição quase perpendicular à fêmea; uma posição nada aerodinâmica para o voo  
210 (Fig. 8a). Para as fêmeas desta espécie as cópulas são especialmente custosas porque, além de  
211 carregarem os machos, elas param de coletar pólen durante a cópula, perdendo assim um valioso  
212 tempo durante o curto período que as flores estão abertas. O casal sai da flor e voa para arbustos  
213 ou para o chão ao entorno dos cactos (Fig. 8b).

214

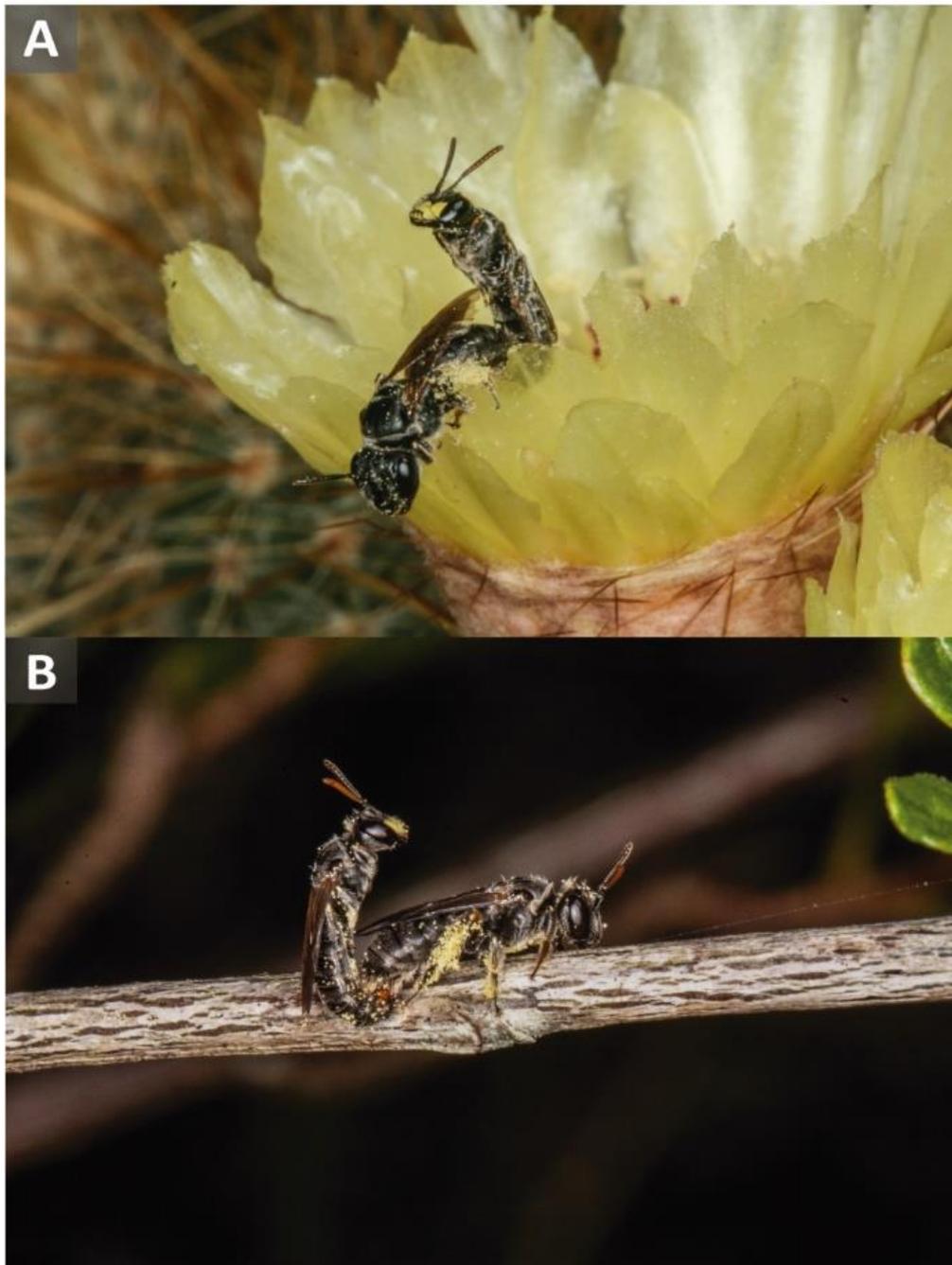


Figura 8. Casal de *Anthrenoides micans* em cópula em flor de *Parodia neobuenekeri* (a) em um galho fora da flor (b).

215 Os machos, por sua vez, passam mais da metade do seu tempo inspecionando as flores  
216 em busca de fêmeas. Toda vez que encontram uma fêmea na flor, eles tentam copular.  
217 Aproximadamente, a cada quatro flores que as fêmeas visitam em busca de pólen, os machos as  
218 interceptam para tentar copular. Porém, as fêmeas de *A. micans* não são sempre tão acessíveis  
219 quanto as de *A. cactorum*. Como uma concha, curvando o abdômen para frente, as fêmeas se  
220 fecham e usam as mandíbulas para morder a genitália do macho e impedir que ele insira sua

221 genitália e, assim, conseguem resistir às cópulas em 82% das vezes. Este comportamento permite  
222 que as fêmeas economizem tempo, que seria gasto copulando, na coleta de pólen. Com isso, elas  
223 conseguem visitar dois terços de flores a mais do que se aceitassem todas as cópulas.

224

### 225 *Meu cacto, minha vida*

226 Ao nos referirmos aos Pampas gaúchos e olharmos para as fotos das grandes formações  
227 rochosas das Guaritas, não imaginamos que ali, entre os campos e pastagens, está um dos  
228 principais pontos de endemismo de cactos do nosso país. Cactos pequenos e de delicadas flores  
229 que, por sua beleza, atraem a atenção de muitos colecionadores, mas que estão na lista de espécies  
230 ameaçadas de extinção. Ainda é mais difícil imaginar que, intimamente associadas a esses cactos,  
231 está a vida de abelhas solitárias. Elas, que são essenciais para a manutenção dessas espécies, têm  
232 ali uma extraordinária variedade de comportamentos reprodutivos ligados às flores desses cactos.  
233 Algumas nós apresentamos aqui, mas tantas outras ainda permanecem desconhecidas, e devem  
234 ser estudadas futuramente. Compreender esses sistemas e preservar o ambiente de ocorrência  
235 dessas espécies é essencial para conservar essas interações fundamentais para esses grupos.

236

### Sugestões de leitura

- Cerceau I, Siriani-Oliveira S, Dutra AL, Oliveira R, Schlindwein C (2019) The cost of fidelity: foraging oligolectic bees gather huge amounts of pollen in a highly specialized cactus-pollinator association. *Biol J Linn Soc* 128:30–43
- Carneiro AM, Farias-Singer R, Ramos RA, Nilson AD. 2016. *Cactos do Rio Grande do Sul*. Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 224 pp.
- Danforth BN, Minckley RL, Neff JL (2019) *The Solitary Bees: Biology, Evolution, Conservation*. Princeton University Press, United States of America
- Dutra AL, Schlindwein C, Oliveira R (2020) Females of a solitary bee reject males to collect food for offspring. *Behav Ecol* 31:884–891
- Emlen ST, Oring LW. 1977. Ecology, sexual selection, and the evolution of mating systems. *Science*. 197(4300):215-223.
- Oliveira R, Schlindwein C. 2010. Experimental demonstration of alternative mating tactics of male *Ptilothrix fructifera* (Hymenoptera, Apidae). *Anim Behav*. 80(2):241-247.
- Schlindwein C. 1998. Frequent oligolecty characterizing a diverse bee? Plant community in a xerophytic bushland of subtropical Brazil. *Stud Neotrop Fauna E*. 33(1):46-59.

## **CAPÍTULO I**

### **Females of a solitary bee reject males to collect food for offspring**

**TITLE:** Females of a solitary bee reject males to collect food for offspring

ANA LAURA DUTRA<sup>a</sup>, CLEMENS SCHLINDWEIN<sup>b</sup> and REISLA OLIVEIRA<sup>a,c\*</sup>

<sup>a</sup> Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Conservação e Manejo da Vida Silvestre, Universidade Federal de Minas Gerais.

<sup>b</sup> Departamento de Botânica, Universidade Federal de Minas Gerais.

<sup>c</sup> Departamento de Genética, Ecologia e Evolução, Universidade Federal de Minas Gerais.; Address: Av. Antônio Carlos, 6627, Pampulha, CEP: 31270-901, Belo Horizonte, Minas Gerais; Phone: +55-31-3409-3026.

238 **Acknowledgements**

239 We thank John Alcock, Kelly Ramos, and Adalberto Lopes for helpful comments on the  
240 manuscript and Isabelle Cerceau, Samuel Siriani-Oliveira and William Sabino for their  
241 specialized assistance in the field. Thanks to the residents of the village of Minas do  
242 Camaquã, especially Maria Elma, Marlise Freitas and família Pohren for facilitating our  
243 field work and temporary residence in Rio Grande do Sul. We are grateful to Betina  
244 Blochtein for providing access to the entomological collection of the Museu de Ciências  
245 e Tecnologia of the Pontificia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

246 **ABSTRACT**

247

248 The time dedicated to courtship and copulation is the most general cost of mating for females.  
249 However, quantitative estimates of this cost and consequences to female mating behavior have  
250 been investigated for only a few model organisms, mostly under laboratory conditions. In this  
251 study, we determined the costs of copulations and persistent courtship of males in terms of time  
252 for females of the solitary bee *Anthrenoides micans*. We estimate the rate and duration of male  
253 mating behaviors and the consequences for sexual interactions for females in respect to the loss  
254 of foraging opportunity in the wild. Males invested most of their time searching for mates and  
255 intercepted foraging females every three minutes. Copulas lasted on average 10 times longer than  
256 the time a females took to resist male mating attempts. Despite the high frequency of these  
257 attempts (82%), females spent 3-fold more time copulating than rejecting males. Considering the  
258 rate of encounters with males and the mean duration of flower visits of females, we estimate that  
259 females would perform 64% fewer flower visits/hour if they would accept all copulation attempts.  
260 The loss of time is especially grave in the natural habitat of the species, where host cacti blossom  
261 for extraordinary short time and females compete with other cacti-specialized bees and  
262 conspecifics. Because the offspring production of a female solitary bee depends on its pollen  
263 collection capacity, the reduction of the foraging performance directly influences the female  
264 reproductive success.

265 **Keywords:** cost of reproduction; sexual conflict; oligolectic bees, coercion, ecological contex

## 266 **Introduction**

267           In the majority of animal species, females invest more energy and time in parental  
268 care than males (Trivers 1972). For this reason, females best increase their reproductive  
269 success investing in offspring survival, while males do so by mating as often as possible  
270 (Bateman 1948; Trivers 1972; Janicke et al. 2016). Males are selected to find and coerce  
271 females to mate. In contrast females, which commonly receive in just one copulation  
272 sufficient sperm to fertilize all their ova (Boulton and Shuke 2014), tend to resist surplus  
273 and costly copulations (Holland and Rice 1998; Gavrilets et al. 2001).

274           Males can physically hold females and force copulation, harass females with  
275 frequent attempts to copulate, or punish females that refuse to mate (Clutton-Brock and  
276 Parker 1995). Coercion often has high costs to females because it can reduce their life  
277 span (Blanckenhorn et al. 2000; Garcia-Gonzalez and Simmons 2010), increase predation  
278 risk (Magnhagen 1991; Kemp 2011; Oku et al. 2018) and provoke waste of time and  
279 energy that could be used in foraging or brood care (Watson et al. 1998; Arnqvist and  
280 Nilsson 2000; Pilastro et al. 2003; Harano 2015).

281           Male coercive mating may exert strong evolutionary pressure on the female's  
282 reproductive decisions (Clutton-Brock and Parker 1995; Gavrilets et al. 2001; Shine et al.  
283 2005). By controlling their acceptance and duration of copulation, females can equilibrate  
284 the costs and benefits of mating in different ecological conditions (Rowe 1992; Toft and  
285 Albo 2015). This difference of interest between females and males leads to a sexual  
286 conflict because traits that are favored by one sex are costly to the other (Chapman et al.  
287 2003). The individual decision of males and females towards a more profitable mating  
288 behavior determine the frequency of copulations (Magurran and Nowak 1991; Gowaty  
289 1994; Magurran and Seghers 1994; Clutton-Brock and Parker 1995; Choe and Crespi  
290 1997). Therefore, investigating the balance between costs and benefits of mating is

291 relevant to comprehend the mating system of a species. Despite this, the costs imposed to  
292 females during mating are seldom estimated empirically except for a few model  
293 organisms, like fruit flies (Wigby and Chapman 2005), water striders (Rowe 1994;  
294 Watson et al. 1998) and bean beetles (*Callosobruchus chinensis*; Harano 2015). These  
295 case studies were essential to estimate the costs of mating, for example by reducing  
296 female lifespan or production of offspring, but most were conducted under controlled  
297 environments that cannot incorporate and estimate costs that are context dependent and  
298 exist only in a natural scenario, like predation (Kemp 2011). Moreover, the above cited  
299 insect groups can be maintained under laboratory conditions, which is not the case for the  
300 majority of animal species, including almost all species of solitary bees (Torchio 1990;  
301 Oliveira and Schlindwein 2009).

302         In several solitary bee species of Andrenidae, copulations last much longer than  
303 the time required for sperm transfer as observed in *Calliopsis puellae* (Cockerell, 1933)  
304 (Rutowski and Alcock 1980), *Arhysosage cactorum* Moure, 1999, *Anthrenoides micans*  
305 Urban, 1995 (Schlindwein and Wittmann 1995), *Protomeliturga turnerae* (Ducke, 1907)  
306 (Medeiros and Schlindwein 2003) and *Callonychium petuniae* (Wittmann et al. 1990). In  
307 *Calliopsis puellae* and *Callonychium petunia* the prolonged post-copulatory association  
308 was related to male mate guarding, since males remain with females almost until  
309 oviposition, indicating last male sperm precedence (Rutowski and Alcock 1980;  
310 Wittmann et al. 1990). From the females' point of view the post-copulatory association  
311 can reduce their efficiency of resource collection and nest provisioning, activities that  
312 females perform alone in all bee species (Michener 2007).

313         Schlindwein and Wittmann (1995) observed that pairs of *Anthrenoides micans*  
314 remain associated for up to 8 min. During this period, the male is carried passively  
315 attached to the metasoma of the female, which is responsible for all locomotory activity

316 of the couple. The rendezvous site of the species is on cactus flowers, where females  
317 preferentially collect pollen to provision brood cells. Males patrol pollen resource patches  
318 and try to copulate with the females as soon as they land on the flower. As detected for  
319 other species (Magurran and Seghers 1994; Stone 1995; Pilastro et al. 2003; Dadda 2015),  
320 it is expected that the male mating activity of *A. micans* reduces the foraging efficiency  
321 of females. The trade-off between mating and foraging activities could partially explain  
322 why females of *A. micans* are often unreceptive to sexually persistent males (personal  
323 observation).

324 In this study, we investigated the mating behavior of *A. micans* and estimated the  
325 costs in terms of time of copula and the reluctance to copulate for females in the wild.  
326 The response of a female to male mating behavior probably depends on the economics of  
327 rejection and acceptance of copulations. Thus, we expected that females adopt more  
328 frequently the mating behavior that imposes a smaller impact on time for resource  
329 collection for larval supply.

330

## 331 **Material and Methods**

### 332 *Study site*

333 The study was conducted in the municipality of Santana da Boa Vista, Rio Grande  
334 do Sul, Brazil (30°53'36.3"S 53°25'14.3"W), which is located within the Pampa region,  
335 from October to November of 2013 2014, and 2017. The study area, named “Guaritas”,  
336 is characterized by shallow soils with sandstone and conglomerate rocky outcrops and  
337 vegetation cover dominated by xerophytic shrubs, small trees and numerous herbaceous  
338 species (Schlindwein 1998; Paim et al. 2010). Cacti species of the genera *Parodia*,  
339 *Frailea*, *Gymnocalycium* and *Opuntia* are common in this environment (Schlindwein and  
340 Wittmann 1995).

341

342 *Studied species*

343 *Anthrenoides* Ducke 1907 occurs in Brazil, Paraguay and Argentina and belongs  
344 to the subfamily Panurginae, tribe Protandrenini, which is restricted to the New World  
345 (Michener 2007). The genus comprises more than 60 species of which most were  
346 described recently (Urban 2009 and citations therein). Species of *Anthrenoides* are small  
347 (up to 12 mm body length) black bees, and males in general have yellow or white spots  
348 in the lower part of the face (Silveira et al. 2002). Information on natural history and  
349 mating behavior have been obtained only for a few species of the tribe. Most species are  
350 solitary and specialized in collecting pollen from a restricted group of plants (Rozen 1967;  
351 Rozen 1989; Neff and Rozen 1995; Schlindwein and Moure 1998; Schlindwein and  
352 Moure 1999; Gaglianone 2000; Gimenes 2002).

353 *Anthrenoides micans* Urban, 1995 (Hymenoptera, Andrenidae) is an univoltin  
354 species of bee (Schlindwein, C; personal observation), occurring in Rio Grande do Sul,  
355 Brazil (Schlindwein and Wittmann 1995; Urban 1995; Moure et al. 2012). Females are  
356 common floral visitors of species of *Parodia* and *Gymnocalycium* (Cactaceae) from  
357 which they collect pollen to feed their larvae (Schlindwein and Wittmann 1995; Cerceau  
358 et al. 2019). Specimens of bees collected in the field were deposited in the Entomological  
359 Collection of UFMG (Centro de Coleções Taxonômicas da UFMG, Universidade Federal  
360 de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil).

361 Males and females of *A. micans* visited flowers of *Parodia neobuenekeri* (F.  
362 Ritter) Anceschi & Magli and *Parodia neohorstii* (S. Theun.) N.P. Taylor from October  
363 to November, the flowering period of these species. The daily period of anthesis varies  
364 for the two cacti species, ranging from 11:00h to 14:00h (Schlindwein and Wittmann  
365 1995, cited as *Notocactus succineus*) and 13:00h to 16:00h, respectively, but flower

366 opening is synchronous for every species (Schlindwein and Wittmann 1995; Cerceau et  
367 al. 2019).

368

### 369 *Frequency of males and females*

370 To determine the frequency of males and females of *A. micans* on flowers of cacti  
371 we monitored flower visitors during the anthesis for seven days and recorded the number  
372 of females and males that visited the flowers during ten-minute intervals every 30 min,  
373 totaling 670 min of observation (N= 67 intervals). Moreover, we recorded whether  
374 females encountered males or not during the flower visits.

375 We calculated the relative frequency of males and females throughout anthesis by  
376 dividing the number of individuals of each sex by the total number of individuals  
377 observed during each interval. Then we divided the mean frequencies of males by that of  
378 the females recorded during all intervals to obtain the proportion of males to females in  
379 the flowering patches.

380

### 381 *Mating behavior*

382 We recorded the mating behavior of males patrolling flower patches of *Parodia*  
383 *cacti* during 370 min of observations. We monitored the behavior of focal males marked  
384 with individual color codes on the mesoscutum using Revell ink (Revell, Germany)  
385 (N=6). We observed only one patrolling male at a time and recorded its behaviors  
386 performed with voice records. Using these records, we described the male mating  
387 behaviors in an ethogram (Table 1)

388 To describe the copulation and the resistance to male copulation attempts by  
389 females, we analyzed video recordings (Camera Canon EOS Rebel T5i) and made direct  
390 observations of bees in the field. We considered as copula when the male inserted its

391 genitalia in the metasoma of the female and remained in copula position (Table 1). When  
392 a male grasped a female without inserting its genitals, we considered this as an  
393 unsuccessful mating attempt, because of the male failure to inseminate the female (Table  
394 1).

395

#### 396 *Costs of copula and resistance to copula*

397 From video records, we recorded the duration of all observed copulas and female  
398 resistance to copulate ( $N_{\text{copula}}=12$ ;  $N_{\text{resistance}}=12$ ) (Table 1) and verified whether the  
399 persistence of males, which means the duration of a mating attempt, increases their  
400 chances to copulate ( $N=10$ ). We calculated the ratio of copulas and resistances throughout  
401 anthesis by dividing the number of each behavior by the total number of times these  
402 behaviors were observed during each interval ( $N=13$  intervals).

403 Because the flowers of *P. neobuenekeri* and *P. neohorstii* do not produce nectar,  
404 females of *A. micans* visited the flowers exclusively to collect pollen and males inspect  
405 flowers only searching for females. Knowing that a female of *A. micans* performed a  
406 pollen collection visit on average every 6.8s ( $\pm 5.5$ ) (Cerceanu et al. 2019) and that the  
407 flights among cacti flower last about 2 s (Cerceanu, personal observation), we estimated  
408 the number of visits a female would miss while she copulates or while she resists  
409 copulation attempts.

410

#### 411 *Data analysis*

412 We built a general linear mixed model (GLMM) to compare the flower visitation  
413 frequency of females and males, assuming a binomial data distribution. We considered  
414 the relative frequency as response variable, sex as fixed explanatory variable and the day  
415 of observation as random variable. In order to compare the copula and unsuccessful

416 copula attempt rates, we built a generalized linear model (GLM), assuming a binomial  
417 data distribution. We considered these relative rates as response variable and the behavior  
418 (copula or not) as fixed explanatory variable. Then we compared these full models with  
419 null models. The duration of copulas and resistance to the male mating attempts  
420 (unsuccessful copulas) were compared using a generalized linear model (GLM) assuming  
421 a quasipoisson data distribution and a log link function. The time spent was used as  
422 response variable and the copula or resistance behaviors as categorical predictor  
423 variables. We performed the analyses using packages lme4 (Bates et al. 2015) and MASS  
424 (Venables and Ripley 2002). All the tests and graph editing were carried out with the  
425 software R (R Core Team 2018).

426

## 427 **Results**

### 428 *Mating behavior*

429 Males arrived at the patches of the *Parodia* cacti before the beginning of floral  
430 anthesis and immediately started to patrol flower buds in pre-anthesis. The first females  
431 arrived only when the flowers were already open. Females were significantly more  
432 frequent flower visitors than males throughout the anthesis: females performed 67% and  
433 males 3% of the visits ( $\chi^2=149.43$ ;  $df=3$ ;  $P<0.001$ , Fig. 1). The proportion of males to  
434 females was skewed toward females, reaching 0.49 flower visits of males per one female  
435 flower visit.

436 Males patrolled on average eight flowers during a day and spent most of the time  
437 (63%) inspecting these flowers (Supplementary Material - Movie S1). When males  
438 encountered rivals, they chased one another until one of them left the patch. However,  
439 they never engaged in contests with body contact. Males spent on average 16.7% of their

440 time landed on cacti flowers, 10.2% on the ground or surrounding vegetation and 10.1%  
441 interacting with females (Fig.2).

442 Females encountered a male every 4.5 flower visits. Males tried to copulate in all  
443 these encounters, but they were successful only in 18% (10 copulations out of 56  
444 encounters) of the mating attempts. When engaged in copulation, males held the female's  
445 wings with the mandibles and gripped the female's body with the legs, while they tried  
446 to insert the genitals. They curved the abdomen forward, in a way that the last tergum is  
447 positioned below the abdomen of the female on the pygidial area. At this moment, males  
448 already had part of their genitalia exposed. When copula occurred, they inserted the  
449 genitalia in the female. During copulas, the male remained almost perpendicular ( $\Theta \cong 80^\circ$ )  
450 to the female's body with wings and legs adjacent to his body (Fig.3 a,b; Supplementary  
451 Material - Movie S2). Thereafter, they remained in this position fixed only by the  
452 genitalia. Other conspecific males frequently touched the pairs in copula while they were  
453 still with the genitalia attached (Supplementary Material - Movie S2).

454

#### 455 *Duration of copula and resistance to copulation attempts*

456 The copulas lasted on average  $5.14 \pm 3.5$  min (range 0.7 to 12.0 min N=12). The  
457 duration of copulation was somewhat underestimated because in a few cases we lost the  
458 couple after it left the flower or after it left a second site in the surrounding vegetation to  
459 fly to a further site landing on the surrounding vegetation, ground or stones (Fig. 3b).  
460 These flights lasted only few seconds with the couple flying slowly and with some  
461 difficulty. During the flight, the female carried the male, who remained motionless in the  
462 perpendicular position. In some cases, we observed that females tried unsuccessfully to  
463 interrupt the copula, curving their body and using their mandibles to detach the male  
464 genitals (Fig.4 a,b).

465           When resisting the copulation attempts of males, females curved their abdomen,  
466 assuming a shell form. The apex with the genital openings bent forward, the females used  
467 their mandibles to prevent the male from inserting his genitalia (Fig. 5; Supplementary  
468 Material - Movie S3). In this position the female extended her hind legs with adhering  
469 pollen grains in the scopa upturned. This resistance time, when males were not successful,  
470 lasted on average 31 s ( $\pm$  54s; N=12). Even when the male held the female with his claws,  
471 he was not able to reach the entrance of her genitalia. Males that engaged longer on  
472 copulation attempts were not more successful than those who spent less time in copulation  
473 attempts ( $\chi^2= 1.07$ ; df=1; p= 0.299).

474           Females visited the cactus flowers exclusively to collect pollen, but generally  
475 failed to when they resisted copulation attempts and during actual copulations. Copulas  
476 lasted on average 10 times longer than the time a female took to resist male mating  
477 attempts ( $F_{1,19}=21.88$ ; P=0.0001) (Fig. 6). Thus, a copula has the duration of about 45  
478 female flower visits and the rejection of males' copulation attempts the duration of only  
479 4.5 visits.

480           Considering the mean duration of a flower visit of a female (6.8 s), the flight  
481 duration among cacti flowers (2 s) and assuming constant foraging velocity, we estimate  
482 that a female might visit around 400 flowers during one hour if there were no males in  
483 the foraging sites (Fig. 7). Taking into account the characteristics measured in the field i)  
484 encounters of females with males every 4.5 flower visits, ii) male copulation attempts in  
485 all contacts with females and iii) an average duration of a copula of 308 s and of rejection  
486 of a copula of 31 s, we estimate that a female would visit only around 50 flowers in one  
487 hour if she would accept all copulation attempts, and around 250 flowers, if she would  
488 reject all attempts. Adopting the realized behavior, recorded in the field, females reject

489 82% of the copulation attempts and would then visit around 140 flower visits per hour  
490 (Fig. 7).

491

## 492 **Discussion**

493 In this study, we examined the mating behavior of the solitary bee *Anthrenoides*  
494 *micans* in a wild population. We demonstrated that the frequent male mating attempts and  
495 the copulas impose costs to females in terms of time and dramatically reduce their pollen  
496 collection performance. Males invest most of their time searching for mates and  
497 intercepting foraging females, which resist, on average, four out of five male mating  
498 attempts. For many species, continuous encounters with mate attempting or guarding  
499 males restricts the reproductive success of females (Mühlhäuser and Blanckenhorn 2002;  
500 Rönn et al. 2006; Shuker et al. 2006). This is viewed as a form of sexual coercion  
501 (Clutton-Brock and Parker 1995; Mühlhäuser and Blanckenhorn 2002; Maklakov and  
502 Lubin 2006; Rönn et al. 2006; Shuker et al. 2006; den Hollander and Gwynne 2009).  
503 Similarly, we interpret the mating behavior of males of *A. micans* to be coercive and  
504 consider the reluctance of females as a behavioral adaptive counter response in a case of  
505 sexual conflict over mating decisions.

506 The examination of costs that male mating behaviors impose on females of *A.*  
507 *micans* revealed that, even in the face of repeated harassment by males (about one each  
508 three min), copulation was more costly to females, in terms of time (3-fold more), than  
509 resistance to the males' attempts. The ongoing harassment by other males to the couples  
510 during copulation may explain why many of them left the flower patch during copulas,  
511 as also observed for another solitary bee (Sabino et al. 2017). This displacement of  
512 females from the foraging area may further increase their copulation costs. Considering  
513 the economics of mating for females of *A. micans*, the balance of costs explains why

514 females preferred not to mate, which corroborates our prediction that females of *A. micans*  
515 preferentially adopt the mating behavior with lower cost in terms of time.

516 Females can play a prominent role in determining the outcome of conflict in pre-  
517 mating struggles, by accepting or rejecting superfluous copula (Arnqvist 1992; Rowe  
518 1992). The variation in the behavior of females is affected by the density of males (Rowe  
519 et al. 1994). We suggest that in the studied population, females of *A. micans* can decide  
520 when to copulate and that the observed elevated frequency of rejection was possible  
521 because females were more abundant than males at the mating sites. In conditions of  
522 male-biased sex ratio, encounters with attempting males become more frequent and  
523 females can be less reluctant to mate (Rowe 1992; Clutton-Brock and Parker 1995).  
524 Furthermore, because males of *A. micans* are smaller than females (Supplementary  
525 Material - S1), they are probably not able to inflict injury on females. In species in which  
526 males are larger than females, the costs of resistance increases, and females tend to accept  
527 copulas more with larger than with smaller males (Crean and Gilburn 1998; Chapman et  
528 al. 2003).

529 Once copulas have been initiated males apparently control the copula duration, because  
530 the females' efforts in interrupting the copulation were never successful. In other species  
531 of *Anthrenoides* the genitalia of males have sclerotized intromittent structures, which  
532 seem to fix the couple together after these are inserted into the reproductive tract of  
533 females (see in *A. nigrinasis*; Ramos 2018). Thus, a morphological analysis of the male  
534 genitalia in *A. micans* would be interesting to verify if males are endowed with  
535 morphological adaptations that allow them to keep females from leaving during  
536 copulations.

537

538 *Is the mating system of Anthrenoides micans determined by the behavior of the females?*

539 In most monandrous bee species, females become sexually unattractive after  
540 mating (Mayer and Miliczky 1998; Ayasse et al. 1999; Schiestl and Ayasse 2000;  
541 Simmons et al. 2000; Oliveira and Schlindwein 2010; Alcock 2013). This loss of  
542 attractiveness is frequently mediated chemically by the decline in pheromone production  
543 by altering the composition of female sex pheromones (Ayasse et al. 1999). These  
544 olfactory changes permit non-receptive females to forage without being assaulted by  
545 patrolling males, economize flight energy to males and guarantees the monandry in these  
546 species (Schiestl and Ayasse 2000). In *A. micans*, we could not determine the mating  
547 system because rematings by individually marked females were not observed. However,  
548 polyandrous mating systems are common in Panurginae (Rozen 2013) and as is true for  
549 *A. micans*, males of other species (e.g. *Arhysosage cactorum*, *Callonychium petuniae*,  
550 *Protomeliturga turnerae*) try to copulate with all females they encounter, indicating that  
551 males do not discriminate between virgin and non-virgin females and that there is no  
552 olfactory recognition of the status of a female. Therefore, we suggest for *A. micans* and  
553 other polyandrous Panurginae that the number of copulas of females, as well as the mating  
554 system, is not mediated by chemical cues but by female behavior.

555

556 *Does the ecological context influence the decision of females in reject mating?*

557 The costs and benefits of mating strongly depend on both the environmental state  
558 and the condition of the individual (Fox and Hickman 1994; Fox 1993; Kemp 2011;  
559 Boulton & Shuker 2015; Cordero & Eberhard 2003; Tseng et al 2007). The regime of  
560 food presentation, predation risk and population density are expected to modulate female  
561 and male behavior, and thus the number of copulations by each sex (Emlen and Oring  
562 1977; Cornwallis and Uller 2009; Perry and Rowe 2018). The number of offspring of  
563 most female solitary bees appears to be resource limited (Neff 2008), since the quantity

564 of pollen collected by a female during the period their specific food plant flowers are open  
565 determine the number of brood cells she can provision. It is implausible that female suffer  
566 sperm deprivation, since in a single copulation they receive and store in the spermatheca  
567 sufficient sperm to fertilize all their eggs. Females may gain indirect benefits from  
568 copulating with more than one male, like increase genetic variability among progeny and  
569 inheritance of “good genes” that may enhance the viability of offspring or increase sexual  
570 attractiveness of grandsons (all sons in haplodiploid species arise from unfertilized eggs)  
571 (Anderson 1994; Jennions and Petrie 2000). However, for seasonal solitary species, the  
572 time invested in superfluous copulations leads to a reduction in foraging efficiency by  
573 females and can affect the resource allocation for larval feeding, reducing oviposition  
574 rates and reproductive success of females (Stone 1995). The availability pollen seems to  
575 be an environmental pressure on the female decisions in *A. micans*. As for other solitary  
576 bee species (Eickwort and Ginsberg 1980), they are solely responsible for nest  
577 construction and foraging for larval food supply. The short period per day, in which the  
578 pollen of *Parodia*-cacti is available, seems to be an environmental pressure on the female  
579 decisions in *A. micans*.

580         We found that every 4.5 flower visits a female encounters a male and is confronted  
581 with the double choice “decision” of copulating or rejecting a mating attempt. Females  
582 refuse most of the potential partners, but If they would accept all copulation attempts,  
583 they would perform 64% fewer flower visits/hour than recorded in the field. The *Parodia*  
584 cacti show highly synchronized flower opening and extremely short anthesis, and like  
585 other Pampa cacti, their flower resources are shared by other cactus-specialized bees  
586 (Schlindwein and Wittmann 1995; Cerceau et al. 2019). Flowers of *P. neohorstii*, for  
587 instance, have 58% of their pollen grains collected by bees during the first hour of anthesis  
588 (Cerceau et al. 2019). In this circumstance, efficient female foragers that focus their

589 foraging activities on the short anthesis period of these cacti should be able to rear more  
590 offspring when foraging uninterrupted during floral anthesis. Therefore, the loss of  
591 provision time is a significant direct cost of mating for the females.

592 Our findings reinforce the idea that the consideration of the ecological context  
593 under which sexual interactions occur is critical when the economics of mating is studied  
594 and may fundamentally influence how we evaluate mating systems and sexual conflict.

595

## 596 **Conclusion**

597 This study is one of a handful that evaluates the costs of male mating behavior for  
598 females in solitary bees. We demonstrated empirically that females of *A. micans* avoided  
599 frequent male mating attempts to copulate to gain time to provision brood cells. We  
600 interpret the female behavior as an adaptive response to male coercion.

601 We suggest that the episodic flowering of the food plant represents an important  
602 ecological pressure on females, making the fine adjustment between food presentation in  
603 host flowers and the timing of mating female foraging a critical task, modulating mating  
604 decisions in this solitary bee.

605 **REFERENCES**

- 606 Alcock J. 2013. Sexual selection and the mating behavior of solitary bees. In: Brockmann  
607 HJ, Roper TJ, Naguib M, Mitani JC, Simmons LW, Barrett L, editors. *Advances*  
608 *in the Study of Behavior*. Oxford: Elsevier. p. 1-48.
- 609 Andersson M. 1994. *Sexual Selection*. United States of America, Princeton: Princeton  
610 University Press.
- 611 Arnqvist G. 1992. Pre-copulatory fighting in a water strider: inter-sexual conflict or mate  
612 assessment? *Anim Behav.* 43(4):559-567.
- 613 Arnqvist G, Nilsson T. 2000. The evolution of polyandry: multiple mating and female  
614 fitness in insects. *Anim Behav.* 60(2):145-164.
- 615 Ayasse M, Engels W, Lübke G, Taghizadeh T, Francke W. 1999. Mating expenditures  
616 reduced via female sex pheromone modulation in the primitively eusocial  
617 halictine bee, *Lasioglossum (Evyllaesus) malachurum* (Hymenoptera: Halictidae).  
618 *Behav Ecol Sociobiol.* 45:95-106.
- 619 Bateman AJ. 1948. Intra-sexual selection in *Drosophila*. *Heredity.* 2:349–368.
- 620 Bates D, Mächler M, Bolker B, Walker S. 2015. Fitting linear mixed-effects models using  
621 lme4. *J Stat Softw.* 67(1):1-48.
- 622 Blanckenhorn WU, Mühlhäuser C, Morf C, Reusch T, Reuter M. 2000. Female choice,  
623 female reluctance to mate and sexual selection on body size in the dung fly *Sepsis*  
624 *cynipsea*. *Ethology.* 106:466-482.
- 625 Boulton RA, Shuke DM. 2014. Polyandry. *Curr Biol.* 23(24):1080-1801.
- 626 Cane JH. 1987. Estimation of bee size using intertegular span (Apoidea). *J Kansas*  
627 *Entomol Soc.* 60(1):145-147.
- 628 Cerceau I, Siriani-Oliveira S, Dutra AL, Oliveira R, Schlindwein C. 2019. The cost of  
629 fidelity: foraging oligolectic bees gather huge amounts of pollen in a highly  
630 specialized cactus-pollinator association. *Biol J Linn Soc.* (in print).
- 631 Chapman RE, Wang J, Bourke AFG. 2003. Genetic analysis of spatial foraging patterns  
632 and resource sharing in bumble bee pollinators. *Mol Ecol.* 12(10):2801-2808.
- 633 Choe JC, Crespi B. 1997. *The Evolution of Mating Systems in Insects and Arachnids*.  
634 Cambridge, United Kingdom: Cambridge University Press.
- 635 Clutton-Brock TH, Parker GA. 1995. Sexual coercion in animal societies. *Anim Behav.*  
636 49(5):1345-1365.

- 637 Cordero C, Eberhard W. 2003. Female choice of sexually antagonistic male adaptations:  
638 a critical review of some current research. *J Evolution Biol.* 16:1-6.
- 639 Cornwallis CK, Uller T. 2009. Towards an evolutionary ecology of sexual traits. *Trends*  
640 *Ecol Evol.* 25(3):145-152.
- 641 Crean CS, Gilburn AS. 1998. Sexual selection as a side-effect of sexual conflict in the  
642 seaweed fly, *Coelopa ursina* (Diptera: Coelopidae). *Anim Behav.* 56:1405–1410.
- 643 Danforth BN, Minckley, RL, Neff JL. 2019. *The Solitary Bees: Biology, Evolution,*  
644 *Conservation.* Princeton University Press.
- 645 Dadda M. 2015. Female social response to male sexual harassment in poeciliid fish: a  
646 comparison of six species. *Front Psychol.* 6(1453):1-9.
- 647 den Hollander M, Gwynne DT. 2009. Female fitness consequences of male harassment  
648 and copulation in seed beetles, *Callosobruchus maculatus*. *Anim Behav.*  
649 78:1061–1070.
- 650 Eickwort GC, Ginsberg HS. 1980. Foraging and mating behavior in Apoidea. *Annu Rev*  
651 *Entomol.* 25:421-446.
- 652 Emlen ST, Oring LW. 1977. Ecology, sexual selection, and the evolution of mating  
653 systems. *Science.* 197(4300):215-223.
- 654 Fox CW. 1993. The influence of maternal age and mating frequency on egg size and  
655 offspring performance in *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae).  
656 *Oecologia.* 96(1):139-146.
- 657 Fox CW, Hickman DL. 1994. Influence of oviposition substrate on female receptivity to  
658 multiple mating in *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). *Ann*  
659 *Entomol Soc Am.* 87(3):395-398.
- 660 Gaglianone MC. 2000. Behavior on flowers, structures associated to pollen transport and  
661 nesting biology of *Perditomorpha brunerii* and *Cephalurgus*  
662 *anomalus*(Hymenoptera: Colletidae, Andrenidae). *Rev Biol Trop.* 48(1):89-99.
- 663 Garcia-Gonzalez F, Simmons LW. 2010. Male-induced costs of mating for females  
664 compensated by offspring viability benefits in an insect. *J Evolution Biol.*  
665 23(10):2066-75.
- 666 Gavrilets S, Arnqvist G, Friberg U. 2001. The evolution of female mate choice by sexual  
667 conflict. *Proc R Soc Lond B.* 268(1466):531-9.

668 Gimenes M. 2002. Interactions between bees and *Ludwigia elegans* (Camb.) Hara  
669 (Onagraceae) flowers at different altitudes in São Paulo, Brazil. Rev Bras Zool.  
670 19:681-689.

671 Gowaty PA. 1994. Architects of sperm competition. Tree. 9(5): 160-162.

672 Harano T. 2015. Receptive females mitigate costs of sexual conflict. J Evolution Biol.  
673 28(2):320-7.

674 Holland B, Rice WR. 1998. Chase-away sexual selection: antagonistic seduction versus  
675 resistance. Evolution. 52(1):1-7.

676 Janicke T, Häderer IK, Lajeunesse MJ, Anthes N. 2016. Darwinian sex roles confirmed  
677 across the animal kingdom. Sci Adv. 2(e1500983):1-10.

678 Jennions MD, Petrie M. 2000. Why do females mate multiply? A review of the genetic  
679 benefits. Biol Rev Camb Philos Soc. 75:21-64.

680 Kemp DJ. 2011. Costly copulation in the wild: mating increases the risk of parasitoid-  
681 mediated death in swarming locusts. Behav Ecol. 23(1):191-194.

682 Magnhagen C. 1991. Predation risk as a cost of reproduction. Tree. 6(6):183-186.

683 Magurran AE, Nowak MA. 1991. Another battle of the sexes: the consequences of sexual  
684 asymmetry in mating costs and predation risk in the guppy, *Poecilia reticulata*.  
685 Proc R Soc Lond B. 246:31-38.

686 Magurran AE, Seghers BH. 1994. A cost of sexual harassment in the guppy, *Poecilia*  
687 *reticulata*. Proc R Soc Lond B. 258(1351):89-92.

688 Maklakov AA, Lubin Y. 2006. Indirect genetic benefits of polyandry in a spider with  
689 direct costs of mating. Behav Ecol Sociobiol. 61(1):31-38.

690 Mayer DF, Miliczky ER. 1998. Emergence, male behavior, and mating in the Alkali Bee,  
691 *Nomia melanderi* Cockerell (Hymenoptera: Halictidae). J Kansas Entomol Soc.  
692 71(1):61-68.

693 Medeiros PCR, Schlindwein C. 2003. Territórios de machos, acasalamento, distribuição  
694 e relação com plantas em *Protomeliturga turnerae* (Ducke, 1907) (Hymenoptera,  
695 Andrenidae). Rev Bras Entomol. 47(4):589-596.

696 Michener CD. 2007. The bees of the world. United States of America: The Johns Hopkins  
697 University Press.

698 Moure JS, Urban D, Molin AD. 2012. Protandrenini Robertson, 1904. Catalogue of Bees  
699 (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region - online version. 23 Jul 2008  
700 ed.

701 Mühlhäuser C, Blanckenhorn WU. 2002. The costs of avoiding matings in the dung fly  
702 *Sepsis cynipsea*. Behav Ecol. 13(3):359–365.

703 Neff JL. 2008. Components of nest provisioning behavior in solitary bees (Hymenoptera:  
704 Apoidea). Apidologie. 39:30-45.

705 Neff JL, Rozen JG. 1995. Foraging and nesting biology of the bee *Anthemurgus*  
706 *passiflorae* (Hymenoptera: Apoidea), descriptions of its immature stages, and  
707 observations on its floral host (Passifloraceae). Am Mus Novit. 3138:1-19.

708 Oku K, Poelman EH, de Jong PW, Dicke M, Tregenza T. 2018. Female response to  
709 predation risk alters conspecific male behaviour during pre-copulatory mate  
710 guarding. Ethology. 124(2):122-130.

711 Oliveira R, Schlindwein C. 2009. Searching for a manageable pollinator for acerola  
712 orchards: the solitary oil-collecting bee *Centris analis* (Hymenoptera: Apidae:  
713 Centridini). Jof Econ Entomol. 102(1):265-273.

714 Oliveira R, Schlindwein C. 2010. Experimental demonstration of alternative mating  
715 tactics of male *Ptilothrix fructifera* (Hymenoptera, Apidae). Anim Behav.  
716 80(2):241-247.

717 Paim PSG, Fallgatter C, Silveira AS. 2010. Guaritas do Camaquã, RS: Exuberante  
718 cenário com formações geológicas de grande interesse didático e turístico. In:  
719 Winge M, Schobbenhaus C, Souza CRG, Fernandes ACS, Berbert-Born M,  
720 Sallun filho W, Queiroz ET, editors. Sítios Geológicos e Paleontológicos do  
721 Brasil. Brasília: CPRM. Perry J, Rowe L. 2018. Sexual conflict in its ecological  
722 setting. Philos T Roy Soc B. 373(20170418).

723 Pilastro A, Benetton S, Bisazza A. 2003. Female aggregation and male competition  
724 reduce costs of sexual harassment in the mosquitofish *Gambusia holbrooki*. Anim  
725 Behav. 65(6):1161-1167.

726 Ramos KS. 2018. Taxonomy of the bee species *Anthrenoides nigrinasis* (Vachal, 1909)  
727 n. comb.: redescription of the type, description of the female, and new distribution  
728 records (Hymenoptera: Apoidea). Zootaxa. 4378(2):279-283.

729 Rönn J, Katvala M, Arnqvist G. 2006. The costs of mating and egg production in  
730 *Callosobruchus* seed beetles. Anim Behav. 72(2):335-342.

731 Rowe L. 1992. Convenience polyandry in a water strider: foraging conflicts and female  
732 control of copulation frequency and guarding duration. Anim Behav. 44(2):189-  
733 202.

- 734 Rowe L. 1994. The costs of mating and mate choice in water striders. *Anim Behav.*  
735 48(5):1049–1056.
- 736 Rowe L, Arnqvist G, Sih A, Krupa JJ. 1994. Sexual conflict and the evolutionary ecology  
737 of mating patterns: water striders as a model system. *Tree.* 9(8):289-293.
- 738 Rozen JG. 1967. Review of the biology of panurgine bees, with observations on North  
739 American forms (Hymenoptera, Andrenidae). *Am Mus Novit.* 2297:1-44.
- 740 Rozen JG. 1989. Life history studies of the “primitive” panurgine bees (Hymenoptera,  
741 Andrenidae, Panurginae). *Am Mus Novit.* 2962:1-27.
- 742 Rozen JG. 2013. Mature larvae of Calliopsine bees: *Spinoliella*, *Callonychium*, and  
743 *Arhysosage* including biological notes, and a larval key to Calliopsine genera  
744 (Hymenoptera: Apoidea: Andrenidae: Panurginae). *Am Mus Novit.* 27(3782):1-  
745 27.
- 746 Rutowski RL, Alcock J. 1980. Temporal variation in male copulatory behaviour in the  
747 solitary bee *Nomadopsis puellae* (Hymenoptera: Andrenidae). *Behaviour*  
748 73(3/4):175-188.
- 749 Sabino WO, Silva CI, Alves-Dos-Santos I. 2017. Mating system and sleeping behaviour  
750 of the male and female *Centris (Paracentris) burgdorfi* Friese (Apidae,  
751 Centridini). *J Insect Behav.* 30(1):103–118.
- 752 Schiestl FP, Ayasse M. 2000. Post-mating odor in females of the solitary bee, *Andrena*  
753 *nigroaenea* (Apoidea, Andrenidae), inhibits male mating behavior. *Behav Ecol*  
754 *Sociobiol.* 48:303-307.
- 755 Schlindwein C. 1998. Frequent oligolecty characterizing a diverse bee? Plant community  
756 in a xerophytic bushland of subtropical Brazil. *Stud Neotrop Fauna E.* 33(1):46-  
757 59.
- 758 Schlindwein C, Moure JS. 1998. *Panurgillus* gênero novo de Panurginae, com a descrição  
759 de quatorze espécies do sul do Brazil. *Rev Bras Zool.* 15(2):397-493.
- 760 Schlindwein C, Wittmann D. 1995. Specialized solitary bees as effective pollinators of  
761 South Brazilian species of *Notocactus* and *Gymnocalycium* (Cactaceae).  
762 *Bradleya.* 13(13):25-34.
- 763 Shine R, Wall M, Langkilde T, Mason RT. 2005. Do female garter snakes evade males  
764 to avoid harassment or to enhance mate quality? *Am Nat.* 165(6):660-668.
- 765 Shuker D, Ballantyne GA, Wedell N. 2006. Variation in the cost to females of the sexual  
766 conflict over mating in the seed bug, *Lygaeus equestris*. *Anim Behav.* 72:313-  
767 321.

768 Silveira FA, Melo GAR, Almeida EAB. 2002. Abelhas Brasileiras: Sistemática e  
769 Identificação. Belo Horizonte.

770 Simmons LW, Tomkins JL, Alcock J. 2000. Can minor males of Dawson's burrowing  
771 bee, *Amegilla dawsoni* (Hymenoptera: Anthophorini) compensate for reduced  
772 access to virgin females through sperm competition? Behav Ecol. 11(3):319–325.

773 Stone GN. 1995. Female foraging responses to sexual harassment in the solitary bee  
774 *Anthophora plumipes*. Anim Behav. 50(2):405-412.

775 Toft S, Albo MJ. 2015. Optimal numbers of matings: the conditional balance between  
776 benefits and costs of mating for females of a nuptial gift-giving spider. J Evolution  
777 Biol. 28(2):457-67.

778 Torchio PF. 1990. Diversification of pollination strategies for U.S. crops. Environ  
779 Entomol. 19(6):1649-1656.

780 Trivers RL. 1972. Parental investment and sexual selection. In: Campbell B, editor.  
781 Sexual selection and the descent of man. Chicago: University of California Los  
782 Angeles. p. 136-179.

783 Tseng H, Yang R, Lin C, Horng S. 2007. The function of multiple mating in oviposition  
784 and egg maturation in the seed beetle *Callosobruchus maculatus*. Physiol  
785 Entomol. 32:150-156.

786 Urban D. 1995. Espécies novas de Paracolletini e Panurginae do Sul do Brasil e Argentina  
787 (Hymenoptera, Apoidea). Rev Bras Zool. 12(2):397 - 405.

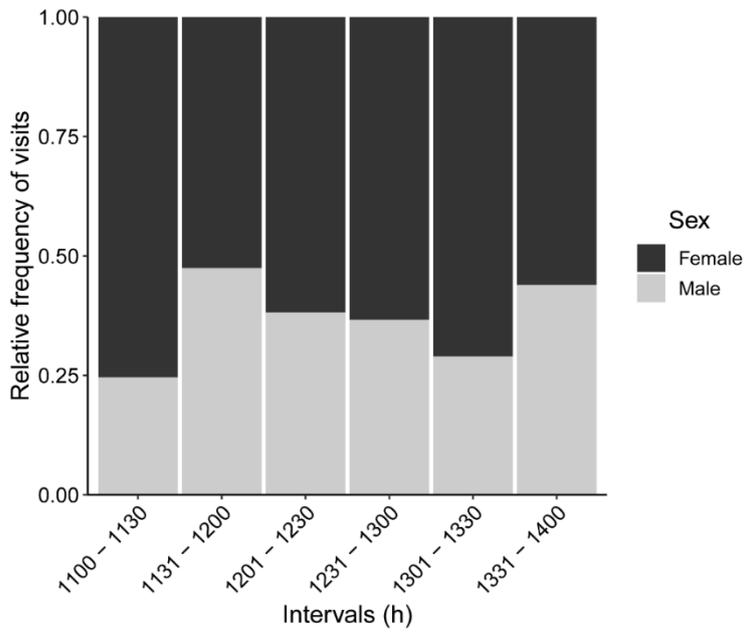
788 Urban D. 2009. Espécies novas de *Anthrenoides* Ducke (Hymenoptera, Apidae,  
789 Andreninae) da Argentina. Rev Bras Entomol. 53(2):216–226.

790 Venables WN, Ripley BD. 2002. Modern Applied Statistics with S. New York: Springer-  
791 Verlag.

792 Watson PJ, Arnqvist G, Stallmann RR. 1998. Sexual conflict and the energetic costs of  
793 mating and mate choice in water striders. Am Nat. 151(1):46-58.

794 Wigby S, Chapman T. 2005. Sex peptide causes mating costs in female *Drosophila*  
795 *melanogaster*. Curr Biol. 15(4):316-21.

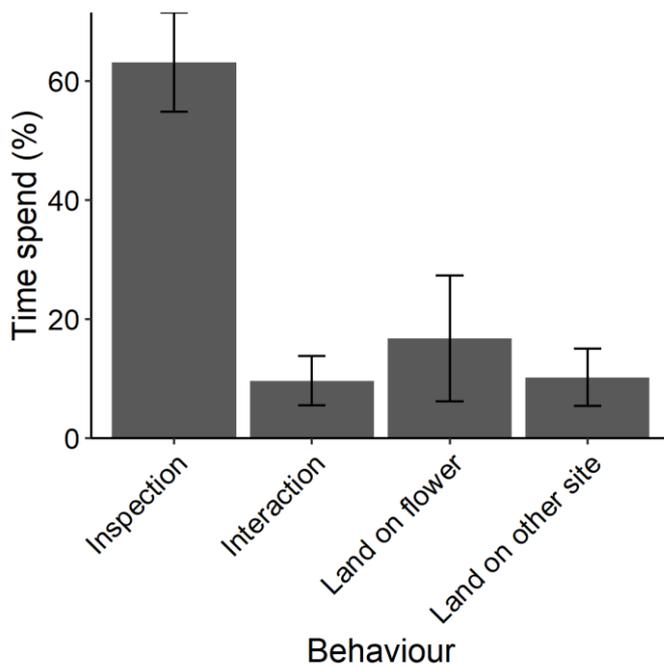
796 Wittmann D, Radtke R, Cure JR, Schifino-Wittmann MT. 1990. Coevolved reproductive  
797 strategies in the oligolectic bee *Callonychium petuniae* (Apoidea, Andrenidae)  
798 and three purple flowered *Petunia* species (Solanaceae) in southern Brazil. J Zool  
799 Syst Evol Res. 28(3):157-165.



800

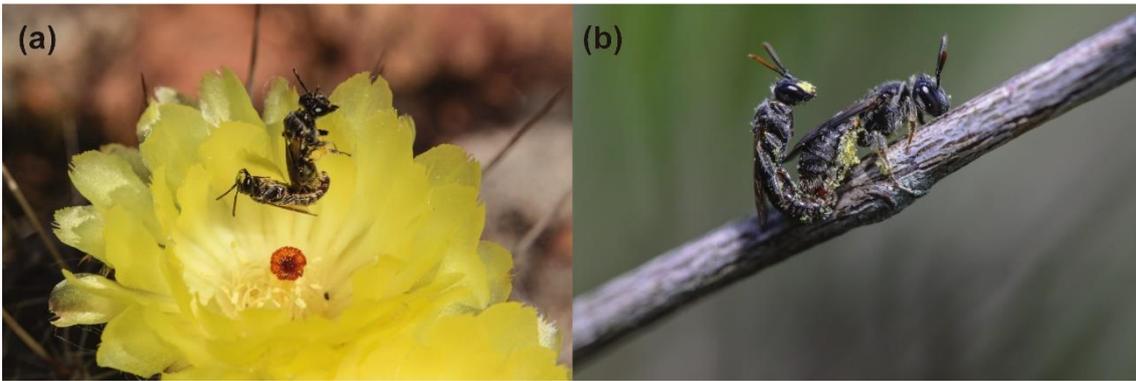
801 **Figure 1.** Mean visit frequency of male and female bees of *Anthrenoides micans* (Andrenidae) to  
 802 flowers of *Parodia neobuenekeri* (Cactaceae), in 10-min censuses at half-hour intervals. Males:  
 803 light grey bars; females: dark grey bars; average and error bars.

804



805

806 **Figure 2.** Time schedule of males of *Anthrenoides micans*. Bars represent mean  $\pm$  standard  
 807 error.



808

809 **Figure 3.** Male and female of *Anthrenoides micans* in copula position: (a) on *Parodia*  
810 *neohorstii* flower, with the female is holding the petal with her mandibles and the male is fixed  
811 to her by his genitalia; (b) on adjacent vegetation.

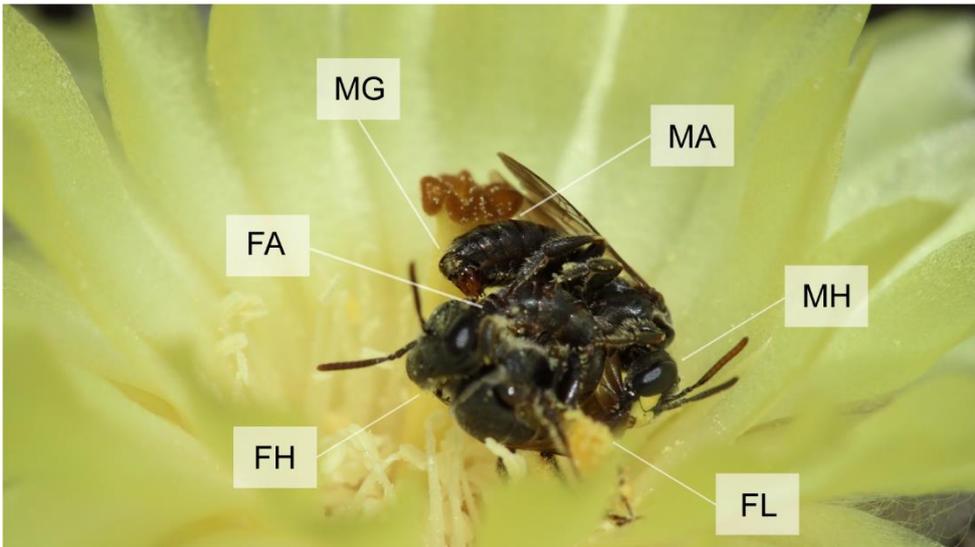
812



813

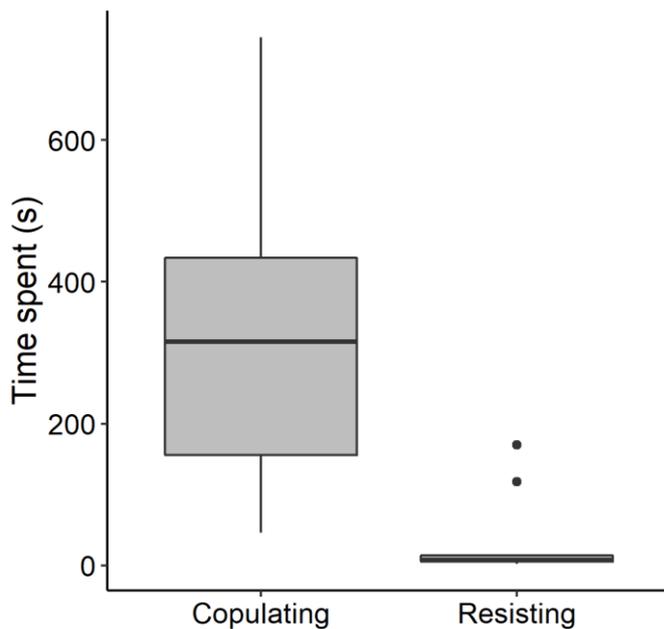
814 **Figure 4.** Copulation of *Anthrenoides micans* on a grass stalk (a) and in a cactus flower  
815 (b). The female tries to interrupt the copula. Curving its body, she uses the mandible  
816 and tries to remove the male's genitalia. Note a second male trying to split the couple.

817



818

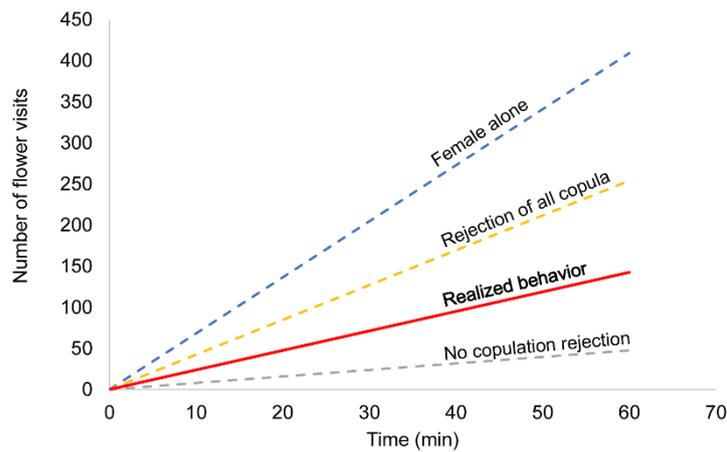
819 **Figure 5.** A female of *Anthrenoides micans* rejecting the male's attempt to copulate. The male  
 820 is holding the wings of the female using his mandibles, and the mandibles of the females are on  
 821 the male genitalia. Her hindleg is at the bottom of the image, over her thorax and abdomen. FH  
 822 – Female's head; FL – Female's hindleg; MH – Male's head; FA – Female's abdomen; MA –  
 823 Male's abdomen; MG – Male's genitalia.



824

825 **Figure 6.** Time spent by females of *Anthrenoides micans* during copulations and resistance to  
 826 copulation attempts by males. The boxplot shows the median (centerline in the box), the  
 827 quartiles (box) and the maximum and minimum values (stems). N= 12 copulas and 12  
 828 copulation attempts.

829



830

831 **Figure 7.** Estimates of the number of visits by females of *Anthrenoides micans* to flowers of  
 832 *Parodia cacti* performed per hour at different levels of interaction with harassing males.

833 Estimates are based on the average duration of flower visits when females forage under the  
 834 absence of males (females alone), when all mating attempts of males are rejected and when

835 females copulate in all encounters with males (no copulation rejection). During the realized  
 836 behavior observed in the field (bold line), females rejected 82% of copula attempts.

837 The estimates “Rejection of all copula”, “Realized behavior” and “No copulation rejection” take  
 838 into account that females encounter males every 4.5 visits.

839

840 **TABLES AND TABLE LEGENDS**

841 Table 1. Ethogram of behaviors performed by males of *Anthrenoides micans* while  
 842 patrolling on flowers of *Parodia neobuenekeri* and *P. neohorstii* (Cactaceae) and the  
 843 behaviors performed by males and females during mating.

Behavior	Description
Patrolling	Bee continuously flies over cacti flowers in a patch, inspecting the flowers
Inspection	Bee approaches a flower, decreases its flight speed, and inspects the flower without touching the petals or touching them briefly (<1s)
Landing on a flower	Bee lands on the flower and rests for at least 1 s
Landing on other sites	Bee lands on a site other than a flower (rock substrate, soil, twigs, or surrounding vegetation)
Interaction with females	Occurs when a male encounters a female in a flower and attempts to copulate or copulates
Mating attempt	Male approaches a female, holds her with his jaws, and tries to insert his genitalia
Copula	Male inserts his genitalia into the female and continue in copula position
Resistance to copula	Female prevents male to insert his genitalia, the copula does not occur (unsuccessful copula attempt)

844

## CAPÍTULO II

**Apenas guardar recursos não basta! Distribuição de fêmeas modula chances de acasalamento de machos territoriais de *Ptilothrix fructifera* (Hymenoptera, Apidae)**

**TÍTULO:** Apenas guardar recursos não basta! Distribuição de fêmeas modula chances de acasalamento de machos territoriais de *Ptilothrix fructifera* (Hymenoptera, Apidae)

ANA LAURA DUTRA<sup>a</sup>, ISABELLE CERCEAU<sup>b</sup>, CLEMENS SCHLINDWEIN<sup>c</sup> e REISLA OLIVEIRA<sup>a,d\*</sup>

<sup>a</sup> Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Conservação e Manejo da Vida Silvestre, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

<sup>b</sup> Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil

<sup>c</sup> Departamento de Botânica, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil

<sup>d</sup> Departamento de Genética, Ecologia e Evolução, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil

## RESUMO

845 Na poliginia com defesa de recursos, diferenças em qualidade dos atributos dos machos e do seu  
846 território são geralmente evocadas para explicar a variação no sucesso reprodutivo de machos  
847 territoriais. Contudo, poucos estudos avaliaram a influência do acesso das fêmeas aos territórios  
848 nas chances de acasalamento dos machos territoriais. Na abelha solitária *Ptilothrix fructifera*  
849 (Apidae) machos maiores defendem territórios contendo flores de *Opuntia* (Cactaceae), única  
850 fonte de pólen utilizada por fêmeas no provisionamento larval, e os machos menores patrulham  
851 nos arbustos entre territórios. Nós avaliamos a influência da qualidade dos machos territoriais  
852 (tamanho corporal), da qualidade do território (área e número de flores do território) e da  
853 acessibilidade do território às fêmeas (distância dos territórios para a agregação de ninhos) nas  
854 oportunidades de acasalamento dos machos territoriais de *P. fructifera*. Apesar do tamanho  
855 corporal determinar a tática empregada nessa espécie, este atributo não explicou a variação nas  
856 chances de acasalamento entre os machos territoriais. Territórios mais próximos aos sítios de  
857 nidificação foram duas vezes mais visitados pelas fêmeas, mas também 3,5 vezes mais invadidos  
858 por rivais do que territórios mais distantes. Nós interpretamos a redução da área dos territórios  
859 nas regiões fronteiriças da agregação como um ajuste adaptativo dos machos territoriais que  
860 mitiga o impacto das invasões, já que detentores de territórios menores têm 3,6 vezes mais  
861 chances de interceptar rivais. Apesar da qualidade do território, em termos de abundância de flores  
862 da planta hospedeira, ser essencial para o encontro com parceiras sexuais; a acessibilidade do  
863 território para fêmeas recém emergidas, que realizam seus primeiros voos de forrageio nas  
864 proximidades do ninho natal, parece modular as chances de acasalamento de machos territoriais  
865 com fêmeas não acasaladas, talvez o maior benefício conferido pela territorialidade em sistemas  
866 monândricos, como o estudado.

867 **palavras-chave:** territorialidade; competição intersexual; monandria; oligolectia; Cactaceae.

## 868 **Introdução**

869           A territorialidade é uma estratégia de acasalamento empegada por machos de uma  
870 miríade de espécies animais (Potts and Lewis 2014). Machos que detêm territórios de  
871 acasalamento — áreas de uso exclusivo que contêm recursos atrativos às fêmeas — têm  
872 maior chance de acessar fêmeas sexualmente receptivas e de maximizarem seu sucesso  
873 reprodutivo (Thornhill and Alcock 1983; Bergman et al. 2007). Apesar de conferir  
874 benefícios reprodutivos, a estratégia territorial também envolve custos associados à  
875 defesa do território, como dispêndio de tempo e energia, riscos de injúrias durante  
876 combates com invasores (Gill and Wolf 1975; Neat et al. 1998; Emlen 2014) e maior  
877 exposição aos predadores (Gwynne and O'Neill 1980; Sih et al. 1990; Alcock 1996a). A  
878 manutenção da estratégia territorial é esperada, então, apenas quando o benefício  
879 reprodutivo conferido ao indivíduo territorial ultrapassa os custos inerentes à defesa do  
880 território (Brown 1964; Parker 1978; Rutowski and Alcock 1980; Alcock and O'Neill  
881 1986; Rutowski 1991).

882           A habilidade competitiva do macho territorial e a qualidade do território  
883 influenciam profundamente o saldo ente custos e benefícios de se adotar a estratégia  
884 territorial (Hazel et al. 1990; Newton 1991; Martin 1998). Os territórios de maior  
885 qualidade são aqueles localizados em áreas com maior abundância ou qualidade de  
886 recursos guardados (Greenfield et al. 1989; Rutowski 1991; Sergio and Newton 2003).  
887 Machos que detêm esses territórios possuem maior chance de acasalamento (Sergio and  
888 Newton 2003). Como a oferta de áreas de alta qualidade é quase sempre limitada (ex.  
889 Tsubaki and Ono 1986), a posse de territórios altamente rentáveis depende da habilidade  
890 competitiva dos machos em adquirir e defender o território. Machos de maior qualidade,  
891 com maior investimento em atributos como tamanho corporal e armamentos, comumente

892 apresentam vantagens sobre os rivais na posse territorial (Fretwell 1972; Alcock 1995;  
893 Peixoto and Benson 2009).

894 O contexto social também pode afetar a economia da territorialidade. Sob alta  
895 densidade de machos, por exemplo, interações agonísticas frequentes entre machos  
896 territoriais e invasores podem majorar a manutenção do território e levar ao abandono da  
897 tática territorial (Kemp 2001) ou à erosão do sucesso reprodutivo dos machos territoriais,  
898 aumentando a variação nas chances de acasalamento desses machos (Sergio and Newton  
899 2003; Zabala and Zuberogoitia 2014).

900 A variação no sucesso reprodutivo dos machos territoriais é comumente atribuída  
901 às variações na qualidade dos machos e dos territórios (Hogstedt 1980; Alcock 1997;  
902 Goodburn 2008) e no contexto social do acasalamento (Emlen and Oring 1977; Carrete  
903 et al. 2006; Oliveira et al. 2012). Pouca atenção tem sido dada à contribuição da  
904 acessibilidade das fêmeas aos territórios na variação do desempenho reprodutivo dos  
905 machos em sistemas territoriais com defesa de recursos (Garshelis et al. 1984; Pearson et  
906 al. 2006), mesmo que a atração das fêmeas aos recursos contidos nos territórios preceda  
907 o encontro com machos. A facilidade de acesso das fêmeas aos territórios pode ser  
908 especialmente importante para espécies monândricas, em que a reprodução de um macho  
909 depende do acesso prioritário às fêmeas não acasaladas (Gilbert 1976; Alcock 1996b).  
910 Examinar as causas dessa variação tem um papel central no entendimento da evolução do  
911 comportamento de acasalamento dos machos, uma vez que a variação no sucesso  
912 reprodutivo entre indivíduos é a base sobre a qual a seleção sexual atua (Wade 1979;  
913 McGraw and Caswell 1996; Kokko et al. 2014).

914 Neste estudo, nós investigamos as causas da variação no desempenho reprodutivo  
915 de machos territoriais da abelha solitária *Ptilothrix fructifera* (Holmberg, 1903) (Apidae,  
916 Hymenoptera). As fêmeas são monândricas e oligoléticas em cactos *Opuntia* (Cactaceae),

917 ou seja, provisionam a dieta larval apenas com pólen de plantas desse gênero  
918 (Schlindwein and Wittmann 1997). Na busca por parcerias sexuais, machos de *P.*  
919 *fructifera* adotam táticas alternativas de acasalamento: os maiores defendem territórios  
920 contendo flores desses cactos e os menores patrulham na vegetação entre territórios e,  
921 frequentemente, invadem territórios em busca de fêmeas (Oliveira and Schlindwein  
922 2010).

923 Nós buscamos avaliar a contribuição da qualidade dos machos territoriais  
924 (representada pelo tamanho corporal), da qualidade do território (representada pela área  
925 e pelo número de flores do território) e da acessibilidade do território às fêmeas  
926 (representada pela distância dos territórios à agregação de ninhos) nas oportunidades de  
927 acasalamento (representada pelo número de visitas de fêmeas nos territórios por minuto)  
928 dos machos territoriais. E esperamos que machos de maior tamanho corporal ocupem  
929 territórios de melhor qualidade, mais acessíveis às fêmeas e que tenham mais  
930 oportunidades de acasalamento. Além disso, por esperarmos que territórios de melhor  
931 qualidade e mais próximos à agregação de ninhos estejam sujeitos a taxas de invasão por  
932 rivais mais elevadas que os territórios de pior qualidade, nós buscamos verificar os efeitos  
933 desse custo de defesa nas chances de acasalamento dos machos territoriais.

934

## 935 **Materiais e Métodos**

### 936 *Local de estudo*

937 O trabalho de campo foi realizado durante três estações reprodutivas de *P.*  
938 *fructifera*, em novembro de 2016, 2017 e 2018. O estudo foi realizado em Santana da Boa  
939 Vista, Rio Grande do Sul, Brasil (30 ° 56'15.443 " O, 53 ° 23 ' 55,536 " S). A região é  
940 caracterizada por arbustos xerófitos que se misturam com a vegetação campestre dos  
941 Pampas (Schlindwein 1998).

942

943 *Espécie estudada*

944 *Ptilothrix fructifera* (Hymenoptera, Apidae) é uma espécie de abelha solitária que  
945 ocorre nos Pampas do Brasil, Argentina e Paraguai (Moure and Melo 2012). A espécie é  
946 univoltina e sua estação reprodutiva se estende de novembro a dezembro. As fêmeas  
947 nidificam em estradas com solo exposto, em agregações com centenas de ninhos. As  
948 fêmeas são oligoléticas e coletam pólen apenas em flores do gênero *Opuntia*, sendo  
949 polinizadoras eficientes deste grupo de plantas (Schlindwein and Wittmann 1997). Na  
950 área de estudo, as duas espécies de *Opuntia* (*Opuntia megapotamica* Arechav. e *Opuntia*  
951 *elata* Salm-Dyck) que ocorrem no sul do Brasil, Argentina, Paraguai e Uruguai (Las  
952 Peñas et al. 2017), são as únicas fontes de pólen para as fêmeas, e os machos visitam suas  
953 flores para tomar néctar e as usam para pernoitar (Schlindwein and Wittmann 1997;  
954 Oliveira and Schlindwein 2010). As opuntias habitam áreas de solos rasos em  
955 afloramentos rochoso e são abundantes em pastagens (Zappi et al. 2015).

956 Machos adotam táticas alternativas de acasalamento, de forma que machos  
957 maiores defendem territórios contendo flores de *Opuntia*, e os menores patrulham em  
958 arbustos sem recursos florais, localizados entre os territórios, e furtivamente inspecionam  
959 flores nos territórios (Oliveira and Schlindwein 2010). Os territórios, geralmente, são bem  
960 delimitados e isolados, devido à distribuição em manchas destes cactos. Os machos  
961 territoriais utilizam uma flor poleiro do seu território, onde se alimentam, se limpam ou  
962 pousam entre as visitas de inspeção nas flores (Oliveira and Schlindwein 2010).

963

964 *Estimativa da qualidade dos machos*

965 Nós procuramos por machos territoriais em machas de *Opuntia* no entorno da área  
966 de nidificação (Fig. 1). Quando encontramos um macho patrulhando uma área,  
967 observamos por dez minutos para qualificá-lo como territorial. Para isso, verificamos se  
968 o macho permaneceu no local, defendeu contra coespecíficos, manteve regularidade na  
969 patrulha e qual flor utilizou como poleiro. Os machos territoriais foram capturados e  
970 marcados com cores de código individuais no mesoscuto, usando tinta Revell (Revell,  
971 Alemanha). Antes de soltarmos o macho, medimos sua distância intertegular (DI) (N=32),  
972 utilizando um paquímetro digital. Essa medida é um representante do tamanho corporal  
973 de abelhas, uma vez que se correlaciona com a massa corporal (Cane 1987). Dado que  
974 machos de maior tamanho corporal são aqueles que têm mais chance de deter territórios  
975 (Oliveira and Schlindwein 2010), consideramos que machos de maior distância  
976 intertegular tinham maior qualidade.



977 Figura 1. Manchas de cactos (indicadas com elipses), onde os machos de *P. fructifera* estabelecem  
978 os territórios e estrada onde se localizam os ninhos da espécie.

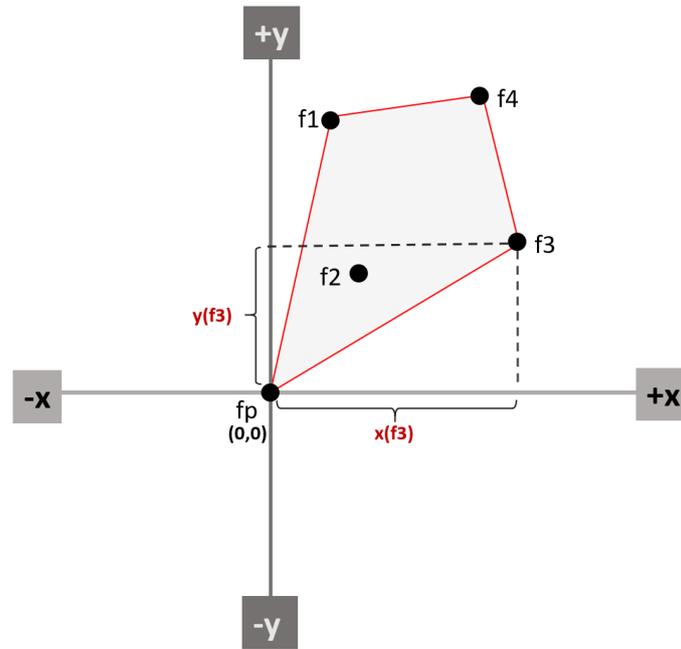
979

980 *Estimativa da qualidade dos territórios*

981 Durante os três anos de estudo nós analisamos 32 territórios (7 em 2016, 11 em  
982 2017 e 14 em 2018). Nós consideramos que territórios com mais de flores de *Opuntia*  
983 (recursos) tinham maior qualidade e maior área. Para contabilizar o número de flores de  
984 um território, nós numeramos com etiquetas todas as flores inspecionadas pelo macho  
985 territorial durante 40 patrulhas do seu território. Como uma rota de patrulha consideramos  
986 cada saída do macho da flor poleiro para inspecionar outras flores do território e retorno  
987 a esta mesma flor.

988 Para calcular a área do território nós empregamos um sistema de coordenadas  
989 cartesianas, em que a flor poleiro do território foi considerada como o ponto  $(0,0)$  a partir  
990 da qual traçamos os eixos  $x$  e  $y$  (Fig. 2). Em seguida medimos a distância de cada flor do  
991 território para estes eixos  $x$  e  $y$ , com uma fita métrica (Fig. 2). Com estes valores de  
992 distância das flores para os eixos, plotamos todas as flores do território com o pacote  
993 ‘geometry’ (Habel et al. 2019) do software estatístico R (R Core Team 2019). Este pacote  
994 retorna o polígono de menor complexidade com o conjunto de pontos bidimensional  $(x,$   
995  $y)$  e fornece a área deste polígono. Com isso, calculamos a área formado de cada território  
996 ( $N=24$ ).

997



998

999 Figura 2. Sistema de coordenadas cartesianas empregado para mediar a área dos territórios de  
 1000 machos de *Ptilothirx fructifera*. A partir de uma flor (fp) escolhida como ponto 0,0 foram traçados  
 1001 os eixos x e y. Foi medida a distância entre uma flor e outra (ex., f1, f2, f3, f4) e de cada flor para  
 1002 os eixos, formando o menor polígono possível. Com estes valores, foi calculada a área do  
 1003 polígono formado em cada território.

1004

#### 1005 *Acessibilidade dos territórios para as fêmeas*

1006 Nós consideramos que territórios mais próximos da área de nidificação eram mais  
 1007 acessíveis às fêmeas. Para avaliar a distância entre cada território e o local de nidificação,  
 1008 nós medimos a distância da flor poleiro de cada território até a estrada onde se localizava  
 1009 a área de agregação de ninhos, utilizando uma trena (N= 32; Fig. 1).

1010

#### 1011 *Estimativa de oportunidade de acasalamento*

1012 Para avaliar as oportunidades dos machos territoriais, nós estimamos o número de  
 1013 visitas florais de fêmeas aos territórios, por minuto. Para isso, contamos o número de  
 1014 visitas realizadas por fêmeas durante 40 rotas de patrulha do macho territorial (N=32  
 1015 territórios).

1016 Os machos dispenderam tempos diferentes para realizar as 40 rotas de patrulha.  
1017 Então, para padronizar o tempo, nós dividimos o número de fêmeas observado em cada  
1018 território pelo tempo gasto pelo macho para realizar as 40 rotas, isto é, o tempo de  
1019 observação de cada território. O quociente nos retornou a taxa de visitas de fêmeas nos  
1020 territórios por minuto  $\left[ \frac{N \text{ visitas de fêmeas}}{\text{tempo de observação}} = Nfêmeas/min \right]$ .

1021 Nós consideramos a taxa de visita de fêmeas aos territórios como uma boa  
1022 estimativa de oportunidades de acasalamento para os machos, tendo em vista que esta  
1023 espécie é monândrica, apresenta estação reprodutiva curta e é univoltina, o que torna o  
1024 primeiro acesso à fêmea uma medida mais próxima do sucesso do macho. Além disso, já  
1025 foi demonstrado que apenas os machos territoriais acasalam com as fêmeas virgens,  
1026 quando elas visitam o território (Oliveira and Schlindwein 2010).

1027

#### 1028 *Estimativa dos custos de defesa dos territórios*

1029 Como estimativa dos custos de defesa dos territórios, calculamos a taxa de invasão  
1030 de cada território, isto é o número de invasões de machos coespecífico por minuto. A  
1031 contagem de invasões foi realizada enquanto registrávamos visitas de fêmeas aos  
1032 territórios (descrito acima). Para obter a taxa, nós dividimos o número de machos  
1033 invasores observados em cada território pelo tempo de observação de cada território -  
1034 tempo gasto pelo macho territorial para realizar 40 rotas.

1035 Para verificar se territórios com maior número de flores teriam maior custo de  
1036 defesa, nós estimamos o número de rotas que um macho territorial teria que percorrer  
1037 para interceptar um macho invasor. Para isso, nós calculamos o tempo que cada macho  
1038 dispndia para realizar uma rota de patrulha. Durante o tempo de observação de número  
1039 de invasores, nós contabilizamos quantas flores foram vistoriadas pelo macho territorial.  
1040 Então, nós dividimos o número de flores vistoriadas pelo tempo de observação e

1041 chegamos ao valor médio de 3.6 segundos gastos por um macho territorial para transitar  
1042 entre uma flor e outra do território. Com isso, nós calculamos quanto tempo cada macho  
1043 dispndia para vistoriar todas as flores do território em uma rota de patrulha completa.  
1044 Por fim, nós dividimos o tempo até que houvesse uma invasão no território pelo tempo  
1045 que cada macho levou durante uma rota de patrulha. O quociente corresponde ao número  
1046 de rotas realizadas por um macho territorial até uma invasão.

1047

1048 *Análises estatísticas*

1049 *Relação entre tamanho dos machos e qualidade dos territórios*

1050 Nós construímos modelos lineares (LM) com a estrutura de erro gaussiana para  
1051 verificar a relação entre a qualidade dos machos territoriais (distância intertegrar) e a  
1052 qualidade dos territórios (área e número de flores) e entre a distância intertegrar e a  
1053 acessibilidade dos territórios às fêmeas (distância da agregação de ninhos).

1054 Com objetivo de verificar a relação entre as variáveis de qualidade dos territórios,  
1055 nós fizemos um modelo linear generalizado (GLM) com a estrutura de erro Poisson  
1056 utilizando como variável dependente o número de flores no território e como variável  
1057 preditora a área do território.

1058

1059 *Oportunidades de acasalamento dos machos territoriais*

1060 Para avaliar se as oportunidades de acasalamento dos machos é melhor explicada  
1061 pela qualidade dos machos, qualidade do território ou acessibilidade das fêmeas aos  
1062 territórios, nós empregamos modelos mistos lineares (LMMs) com uma estrutura de erro  
1063 gaussiana, utilizando o pacote 'afex' (Singmann et al. 2020). No modelo completo,  
1064 especificamos as variáveis distância intertegrar dos machos, distância dos territórios  
1065 para a agregação de ninhos e número de flores nos territórios como variáveis preditoras

1066 fixas, e o ano de estudo como covariável. Como variável aleatória nós utilizamos a  
1067 identidade dos machos territoriais. Como variável dependente nós consideramos a taxa  
1068 de visitas de fêmeas aos territórios. Nós removemos a variável área do modelo porque ela  
1069 se correlacionava com o número de flores no território. Após a construção do modelo  
1070 completo, realizamos o processo de simplificação de modelos através de comparação de  
1071 modelos aninhados e selecionamos o modelo mais parcimonioso.

1072

### 1073 *Custo de defesa dos territórios*

1074       Para testar a relação entre a taxa de invasões de um territórios e sua qualidade  
1075 (número de flores) e acessibilidade às fêmeas (distância da agregação), nós empregamos  
1076 LMMs com uma estrutura de erro gaussiana, utilizando o pacote 'afex' (Singmann et al.  
1077 2020). No modelo completo, especificamos as variáveis distância dos territórios da  
1078 agregação de ninhos e número de flores nos territórios como variáveis preditoras fixas, e  
1079 o ano de estudo como covariável. A identidade dos machos territoriais foi inserida como  
1080 variável aleatória. Como variável dependente nós consideramos o número de  
1081 invasões/min. Após a construção do modelo completo, realizamos o processo de  
1082 simplificação de modelos através de comparação de modelos aninhados e selecionamos  
1083 o modelo mais parcimonioso.

1084       Para testar se havia relação entre o número de flores no território e o número de  
1085 rotas realizada pelos machos, nós construímos um LM com a estrutura de erro gaussiana  
1086 utilizando como variável dependente o número de rotas realizadas por um macho  
1087 territorial até uma invasão e como variável preditora número de flores no território.

1088       Todas as análises foram realizadas no software R (R Core Team 2019).

1089

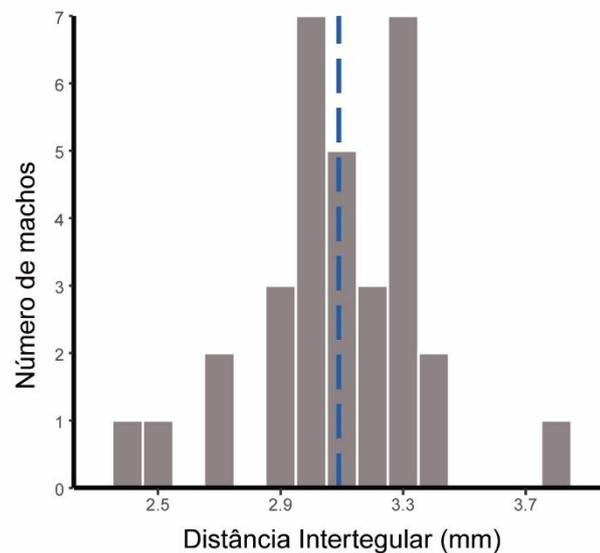
1090 **Resultados**

1091 *Qualidade dos machos territoriais e dos territórios*

1092 Machos territoriais apresentaram distância intertegular média de  $3.09\text{mm} \pm 0.28$   
1093 (Amplitude= 2.35 - 3.83 mm; Fig. 3). Eles defenderam territórios contendo, em média,  
1094  $18.38 \pm 8.05$  flores (Amplitude = 6 - 38 flores), com área média de  $21.80 \pm 29.35\text{m}^2$   
1095 (Amplitude: 0.18 - 129.13  $\text{m}^2$ ). Os territórios estavam a  $21.73 \pm 25.07$  m da agregação de  
1096 ninhos, em média. O território mais próximo da agregação estava a 1.97m e o mais  
1097 distante a 83m.

1098 Machos maiores não ocuparam territórios com área maior ( $F_{22,1}=0.061$ ,  
1099 Estimate=-0.639,  $p=0.807$ ; Fig.4a), com mais flores ( $F_{30,1}=0.282$ , Estimate=0.449,  
1100  $p=0.375$ ; Fig.4b) ou mais próximos da agregação de ninhos ( $F_{30,1}=0.418$ ,  $p=0.733$ ,  
1101 Estimate=-0.182; Fig.4c).

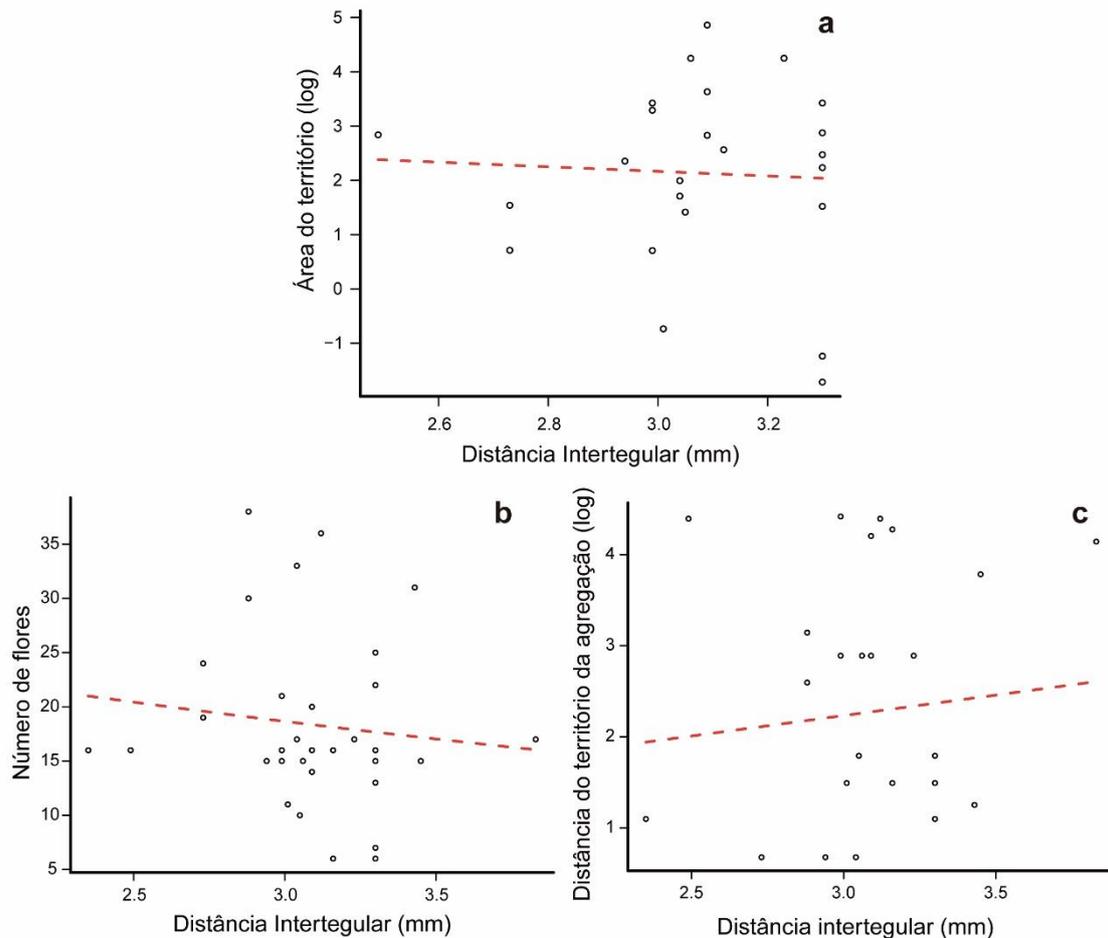
1102



1103

1104 Figura 3. Distribuição de frequência de machos de *Ptilothrix fructifera* de acordo com sua  
1105 distância intertegular.

1106



1107 Figura 4. Relação entre a distância intertegrular dos machos de *Ptilothrix fructifera* e a área do  
 1108 território em log (a), o número de flores do território (b) e a distância do território para a agregação  
 1109 de ninhos (c). As linhas de tendência vermelhas indicam que as relações não foram  
 1110 estatisticamente significativas (valor de  $p > 0.05$ ).

1111

1112 Territórios de maior área tiveram um maior número de flores ( $\chi^2=57.204$ ;  $df=23$ ;  
 1113 Estimate= 0.060;  $p=0.029$ ; Fig. 5). Os territórios mais próximos a área de nidificação  
 1114 foram menores do que aqueles mais afastados ( $F_{22,1}=6.859$ ; Estimate= 0.684,  $p=0.016$ ),  
 1115 mas não apresentaram menor número de flores ( $\chi^2= 0.003$ ;  $df=31$ ;  $p= 0.419$ ).

1116

1117  
1118  
1119  
1120  
1121  
1122  
1123  
1124  
1125  
1126  
1127  
1128  
1129  
1130  
1131  
1132  
1133  
1134  
1135  
1136  
1137  
1138  
1139  
1140

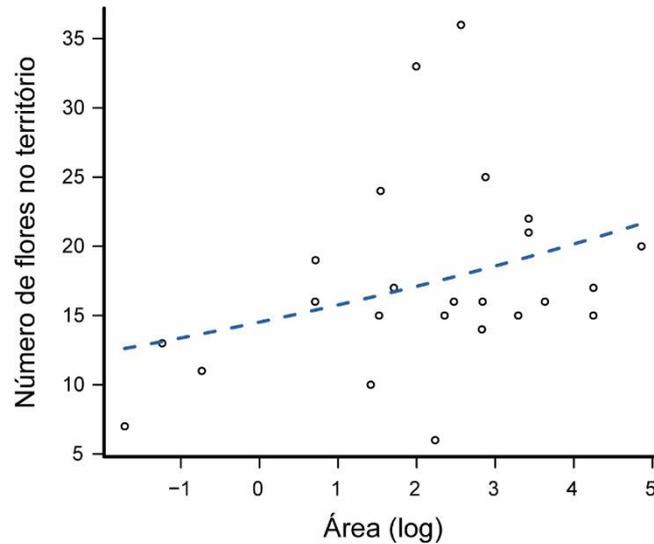
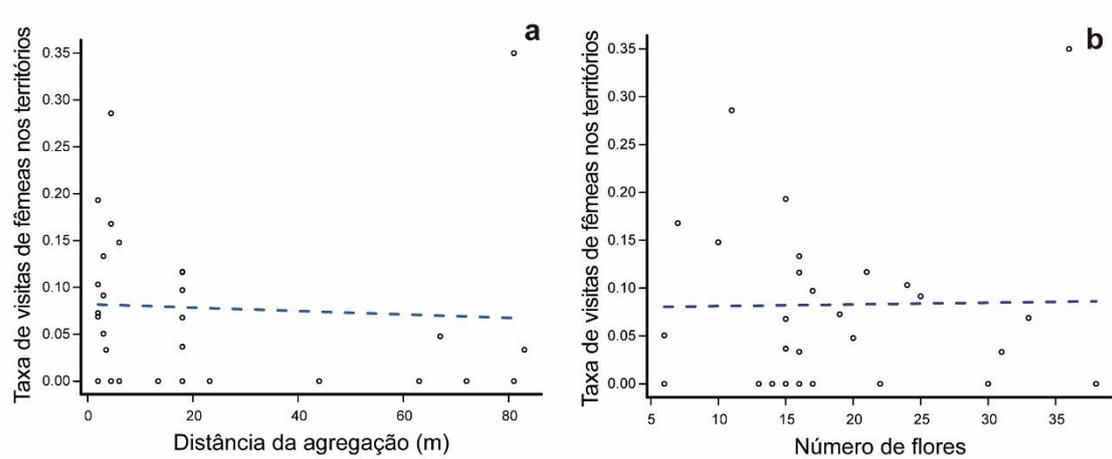


Figura 5. Relação entre a área (log) e o número de flores dos territórios de machos de *Ptilothrix fructifera*.

#### *Oportunidades de acasalamento*

Os territórios foram visitados por uma fêmea, em média, a cada 10 minutos (número médio de visitas/min=  $0.09 \pm 0.15$ ). Após a simplificação de modelos, o modelo mais parcimonioso selecionado foi aquele que incluiu as variáveis distância da agregação e a interação entre distância e número de flores nos territórios. Machos maiores não ocuparam territórios com maior taxa de visita de fêmeas (Tabela 1). Territórios com mais flores não tiveram maiores taxa de visita de fêmeas (Tabela 1). Os territórios mais próximos da agregação de ninhos foram mais visitados pelas fêmeas do que aqueles mais afastados (Tabela 1; Fig. 6a). Contudo, a interação entre número de flores e distância do território inverteu esta relação (Tabela 1), quanto maior número de flores, mesmo em territórios mais afastados, maior a taxa de visitas de fêmeas (Fig. 6b).



1141 Figura 6. Relação entre a distância dos territórios de machos de *Ptilothrix fructifera* para a  
 1142 agregação de ninhos e a taxa de visitas de fêmeas (a) e entre o número de flores nos territórios e  
 1143 a taxa de visitas de fêmeas em flores. As linhas de tendência azuis indicam que as relações foram  
 1144 estatisticamente significativas (valor de  $p < 0.05$ ).  
 1145

1146 Tabela 1. Sumário dos resultados obtidos do ajuste dos modelos para testar a influência da qualidade dos machos, qualidade dos territórios e  
 1147 acessibilidade das fêmeas nas oportunidades de acasalamento de machos territoriais de *Ptilothrix fructifera*. O asterisco (\*) representa o resultado significativo  
 1148 do modelo simplificado.

<b>Modelo</b>	<b>Variável explicativa</b>	<b>N</b>	<b>df</b>	<b>Estimate</b>	<b>F</b>	<b>Erro padrão</b>	<b>Valor de p</b>
Taxa de fêmeas ~ DI*Nflores*Distância + (1 ID)	DI	32	21	-0.4931	2.271	0.298195	0.147
Taxa de fêmeas ~ DI*Nflores*Distância + (1 ID)	Nflores	32	21	-0.0654	1.577	0.048906	0.224
Taxa de fêmeas ~ Distância + Nflores:Distância + (1 ID)	Distância da agregação	32	24	-0.0039	10.747	0.0012	0.003 *
Taxa de fêmeas ~ Distância + Nflores:Distância + (1 ID)	Nflores : Distância da agregação	32	25	0.0002	12.292	0.0001	0.002 *

1149

1150 Tabela 2. Resultado dos modelos de influência da qualidade dos machos, qualidade dos territórios e acessibilidade das fêmeas nas visitas de machos  
 1151 invasores aos territórios. O asterisco (\*) representa o resultado significativo do modelo simplificado.

<b>Modelo</b>	<b>Variável explicativa</b>	<b>N</b>	<b>df</b>	<b>Estimate</b>	<b>F</b>	<b>Erro padrão</b>	<b>Valor de p</b>
Taxa de invasões ~ Distância + Nflores:Distância + (1 ID)	Distância da agregação	32	23	-0.0228	9.747	0.0072	0.005 *
Taxa de invasões ~ Distância + Nflores:Distância + (1 ID)	Nflores : Distância da agregação	32	25	0.0012	13.4601	0.0003	0.001 *

1152

1153



1173 Diferentemente do que esperávamos, machos territoriais de melhor qualidade não  
1174 ocuparam os territórios melhores (com maior área e com mais flores) e mais próximos  
1175 dos sítios de nidificação e, portanto, com maior chance de encontro com parcerias. Deste  
1176 modo, em *P. fructifera*, dentre os machos territoriais, tamanho corporal não explica a  
1177 variação nas suas chances de acasalamento.

1178       Apesar do tamanho corporal ser um atributo condicionante da tática de  
1179 acasalamento empregada por machos de *P. fructifera* (Oliveira and Schlindwein 2010),  
1180 i.e., os maiores defendem territórios e os menores interceptam fêmeas na vegetação ou  
1181 em territórios alheios, dentro da tática territorial parece haver outras características dos  
1182 indivíduos que influenciam na sua capacidade de manter as áreas defendidas. Em *P.*  
1183 *fructifera*, os atributos individuais que predizem o sucesso dentro de uma tática podem  
1184 ser diferentes daqueles que determinam a alternância entre as táticas. Uma vez que os  
1185 territórios foram estabelecidos, a alternância de residentes não deve ser mais prevista pelo  
1186 tamanho dos machos, mas por outras habilidades que diferenciam o sucesso na  
1187 manutenção da tática. Como já demonstrado para insetos de outras espécies (Takeuchi  
1188 2006; Santos and Peixoto 2017), tempo de residência e motivação podem ser atributos  
1189 dos machos relacionados à manutenção do território. Na borboleta *Pararge aegeria*  
1190 (Nymphalidae), por exemplo, o encontro com fêmeas aumenta a motivação dos machos  
1191 territoriais em lutar com rivais, aumentando suas chances de se manter na tática territorial  
1192 (Bergman et al. 2010).

1193

1194 ***Além de guardar flores, manter um território mais acessível às fêmeas modula as***  
1195 ***chances de acasalamento dos machos territoriais***

1196       A acessibilidade dos territórios às fêmeas deve ser um fator decisivo gerador de  
1197 variação no sucesso reprodutivo dos machos territoriais de *P. fructifera*, já que a taxa de

1198 visita de fêmeas e, por consequência, as oportunidades de encontros entre parceiros  
1199 sexuais, é duplicada nos territórios mais próximos aos sítios de nidificação em relação  
1200 àqueles mais distantes (> 5m). Machos que se estabelecem nos arredores dos ninhos  
1201 também devem se encontrar em uma posição estratégica para interceptar fêmeas não  
1202 acasaladas, recém-emergidas. Em abelhas de diversas espécies, fêmeas inexperientes  
1203 executam os primeiros voos de forrageio nos arredores do seu local de emergência e  
1204 tendem a aumentar a área de forrageio à medida que se tornam mais experientes (Osborne  
1205 et al. 2013). Para um macho, ter maiores chances de interceptação de fêmeas não  
1206 acasaladas, garantindo a precedência no acasalamento é, talvez, o principal benefício  
1207 conferido pela territorialidade em sistemas monândricos.

1208         Para fêmeas nidificantes, forragear em manchas florais próximas aos seus ninhos  
1209 também deve ser vantajoso em termos de eficiência de forrageio e de redução das taxas  
1210 de parasitismo. Em todas as espécies de abelhas solitárias, apenas as fêmeas estão  
1211 envolvidas na construção, provisão e defesa dos ninhos (Michener 2007;  
1212 Danforth et al. 2019). Forrageadoras mais eficientes, capazes de converter mais recurso  
1213 floral em alimento larval por unidade de tempo, podem aumentar sua taxa de oviposição  
1214 e, por consequência, seu sucesso reprodutivo (Stone 1995; Neff 2008). Forrageadoras  
1215 mais eficientes também devem reduzir o nível de parasitismo das suas células de cria, já  
1216 que a incidência de parasitismo no ninho comumente aumenta com o tempo em que a  
1217 fêmea o deixa desprotegido (Seidelmann 2006). É de se esperar, portanto, que a seleção  
1218 favoreça fêmeas de *P. fructifera* capazes de otimizar o tempo de forrageio, reduzindo o  
1219 raio de voo de forrageio e o período em que deixam seus ninhos sem proteção.

1220         Apesar do benefício de acasalamento, se estabelecer nas zonas fronteiriças à  
1221 agregação de ninhos demanda habilidade dos machos de constantemente rechaçarem  
1222 invasores, pois territórios nessas zonas também estão sujeitos a taxas elevadas de invasão

1223 por rivais (35% maior que em territórios mais distantes). Interpretamos a compressão da  
1224 área dos territórios nestas zonas como uma resposta adaptativa à pressão da interação com  
1225 rivais, já que territórios menores são mais facilmente defensáveis. Em territórios com  
1226 menor número de flores, os machos territoriais dispendem proporcionalmente menos  
1227 tempo para percorrer todas as flores do território. Por exemplo: se compararmos o menor  
1228 território amostrado (seis flores) com o maior (36 flores), tendo em vista que machos  
1229 dispendem 3.6s para vistoriar uma flor e voar até a seguinte, no menor território, um  
1230 macho dispenderia apenas 21.6 s para vistoriar todas as flores guardadas, enquanto no  
1231 maior dispenderia 129.6s, seis vezes mais tempo! Desta forma, reduzir o tamanho do  
1232 território permite o aumento da eficiência de defesa, sem incorrer no abandono da tática.

1233 A compressão do tamanho territorial para mitigar os custos de manutenção de um  
1234 território em um ambiente com altas taxas de invasão não raramente foi adotado por  
1235 machos de outros organismos (Schoener 1971; Myers et al. 1979; Hixon 1980; Jablonski  
1236 1996). Machos da abelha solitária *Protodiscelis palpalis* (Colletidae), por exemplo,  
1237 diminuem os custos da territorialidade ao investirem apenas na defesa de flores contidas  
1238 em uma área nuclear dos seus territórios e compartilham o restante da área com machos  
1239 territoriais vizinhos (Oliveira et al. 2012).

1240

#### 1241 ***Por que manter territórios distantes dos ninhos das fêmeas?***

1242 Ainda que territórios mais distantes da agregação recebam até de duas vezes  
1243 menos visitas de fêmeas, manter essas áreas de acesso exclusivo ainda deve conferir mais  
1244 vantagens reprodutivas aos machos do que oscilar para a tática não territorial. Machos  
1245 que estabelecem territórios em áreas mais afastadas da agregação, sob menor pressão de  
1246 invasão, são capazes de estabelecer territórios maiores, contendo manchas de *cactos* com  
1247 mais flores e provavelmente de período de floração mais extenso. Esses territórios podem

1248 ser fontes valiosas de pólen para fêmeas que emergiram mais tarde, ou para aquelas que  
1249 não foram interceptadas por machos nas vizinhanças da agregação.

1250 Uma vez que *P. fructifera* é uma espécie protândrica, machos estabelecem  
1251 territórios antes da emergência das fêmeas. Dessa forma, ao estabelecerem seus territórios  
1252 os machos não podem empregar a presença de fêmeas como pista ambiental, mas a  
1253 presença de flores da planta hospedeira. Quando estabelecem um território, eles não são  
1254 capazes de estimar o quanto de benefício o território irá prover, em termos de encontros  
1255 com fêmeas. Por isso, espera-se que os machos defendam o máximo de flores possível de  
1256 acordo com a disponibilidade de flores e com a pressão de invasão por rivais. Uma vez  
1257 que um território é estabelecido, abandoná-lo para buscar por outras áreas mais próximas  
1258 da agregação pode ser proibitivamente arriscado. Por outro lado, machos não territoriais,  
1259 cujas rotas de patrulha não são centradas em um grupo específico de flores, podem  
1260 empregar a presença de fêmeas como pista ambiental para estabelecerem suas áreas de  
1261 patrulha. Neste caso, machos da mesma espécie, que adotam táticas alternativas de  
1262 acasalamento empregam pistas ambientais diferentes.

1263

## 1264 **Conclusões**

1265 Nos sistemas de defesa de recurso, machos estrategicamente guardam recursos  
1266 consumidos preferencialmente pelas fêmeas. Neste estudo, demonstramos que as fêmeas  
1267 visitam mais os territórios mais próximos aos locais de nidificação, aumentando as  
1268 chances de acasalamento dos machos que se estabelecem nesses locais. Os sistemas  
1269 biológicos em que as fêmeas apresentam relações especializadas com plantas  
1270 hospedeiras, como nos sistemas oligoléticos, podem conter variações temporais sutis, de  
1271 acordo o comportamento de forrageio das fêmeas, que influenciam na disponibilidade de  
1272 parceiras para os machos. De modo que, para entender a evolução dos sistemas de

1273 acasalamento de forma mais acurada e por que um indivíduo não acasala todas as vezes  
1274 que encontra uma parceira em potencial, devemos considerar nos estudos avaliações  
1275 sobre ecologia alimentar e o comportamento das fêmeas.

1276

## 1277 REFERÊNCIAS

- 1278 Alcock J (1995) Body size and its effect on male-male competition in *Hylaeus alcyoneus*  
1279 (Hymenoptera: Colletidae). *J Insect Behav* 8:149-159
- 1280 Alcock J (1996a) Male size and survival: the effects of male combat and bird predation in  
1281 Dawson's burrowing bees, *Amegilla dawsoni*. *Ecological Entomology* 21:309–316
- 1282 Alcock J (1996b) The relation between male body size, fighting, and mating success in Dawson's  
1283 burrowing bee, *Amegilla dawsoni* (Apidae, Apinae, Anthophorini). *Journal of Zoology*  
1284 239:663-674
- 1285 Alcock J (1997) Competition from large males and the alternative mating tactics of small males  
1286 of Dawson's Burrowing Bee (*Amegilla dawsoni*) (Apidae, Apinae, Anthophorini). *J*  
1287 *Insect Behav* 10:99-113
- 1288 Alcock J (2013) Sexual selection and the mating behavior of solitary bees. In: Brockmann HJ,  
1289 Roper TJ, Naguib M, Mitani JC, Simmons LW, Barrett L (eds) *Adv Study Behav*.  
1290 Elsevier, Oxford, pp 1-48
- 1291 Alcock J, Jones CE, Buchmann SL (1976) Location before emergence of the female bee, *Centris*  
1292 *pallida*, by its male (Hymenoptera : Anthophoridae). *Journal of Zoology* 179:189-199
- 1293 Alcock J, O'Neill KM (1986) Density-dependent mating tactics in the Grey hairstreak, *Strymon*  
1294 *melinus* (Lepidoptera: Lycaenidae). *Journal of Zoology* 209:105-113
- 1295 Bergman M, Gotthard K, Berger D, Olofsson M, Kemp DJ, Wiklund C (2007) Mating success of  
1296 resident versus non-resident males in a territorial butterfly. *Proc Biol Sci* 274:1659-65
- 1297 Bergman M, Olofsson M, Wiklund C (2010) Contest outcome in a territorial butterfly: the role of  
1298 motivation. *Proc R Soc Lond B* 277:3027-3033
- 1299 Cane JH (1987) Estimation of bee size using intertegular span (Apoidea). *J Kans Entomol Soc*  
1300 60:145-147
- 1301 Carrete M, Sánchez-Zapata JA, Tella JL, Gil-Sánchez JM, Moleón M (2006) Components of  
1302 breeding performance in two competing species: habitat heterogeneity, individual quality  
1303 and density-dependence. *Oikos* 112:680-690
- 1304 Danforth BN, Minckley RL, Neff JL (2019) *The Solitary Bees: Biology, Evolution, Conservation*.  
1305 Princeton University Press, United States of America

1306 Emlen DJ (2014) Reproductive contests and the evolution of extreme weaponry. In: Shuker D,  
1307 Simmons L (eds) The evolution of insect mating systems. Oxford University Press, USA,  
1308 pp 92-105

1309 Emlen ST, Oring LW (1977) Ecology, sexual selection, and the evolution of mating systems.  
1310 Science 197:215-223

1311 Fretwell SD (1972) Populations in a seasonal environment. In. Princeton University Press,  
1312 Princeton, New Jersey, pp 217

1313 Garshelis DL, Johnson AM, Garshelis JA (1984) Social organization of sea otters in Prince  
1314 William Sound, Alaska. Can J Zool 62:2648-2658

1315 Gilbert LE (1976) Postmating female odor in *Heliconius Butterflies*: A male-contributed  
1316 antiaphrodisiac? Science 193:419-420

1317 Gill FB, Wolf LL (1975) Economics of feeding territoriality in the golden-winged sunbird.  
1318 Ecology 56:333-345

1319 Goodburn SF (2008) Territory quality or bird quality? Factors determining breeding success in  
1320 the Magpie *Pica pica*. IBIS 133:85-90

1321 Greenfield MD, Shelly TE, Gonzalez-Coloma A (1989) Territory selection in a desert  
1322 grasshopper: The maximization of conversion efficiency on a chemically defended shrub.  
1323 J Anim Ecol 58:761-771

1324 Gwynne DT, O'Neill KM (1980) Territoriality in digger wasps results in sex biased predation on  
1325 males (Hymenoptera: Sphecidae, Philanthus). J Kans Entomol Soc 53:220-224

1326 Habel K, Grasman R, Gramacy RB, Mozharovskyi P, Sterratt DC (2019) geometry: Mesh  
1327 Generation and Surface Tessellation. In, R package version 0.4.5. edn, [https://CRAN.R-](https://CRAN.R-project.org/package=geometry)  
1328 [project.org/package=geometry](https://CRAN.R-project.org/package=geometry)

1329 Hazel WN, Smock R, Johnson MD (1990) A polygenic model for the evolution and maintenance  
1330 of conditional strategies. Proc R Soc B 242:181-187

1331 Hixon MA (1980) Food production and competitor density as the determinants of feeding territory  
1332 size. Am Nat 115:510-530

1333 Hogstedt G (1980) Evolution of clutch size in birds: Adaptive variation in relation to territory  
1334 quality. Science 210:1148-1150

1335 Jablonski PG (1996) Intruder pressure affects territory size and foraging success in asymmetric  
1336 contests in the water strider *Gerris zaccustris*. Ethology 102:22-31

1337 Kemp DJ (2001) Investigating the consistency of mate-locating behavior in the territorial butterfly  
1338 *Hypolimnas bolina* (Lepidoptera: Nymphalidae). J Insect Behav 14:129-147

1339 Kokko H, Klug H, Jennions MD (2014) Mating systems. In: Shuker DM, Simmons LW (eds) The  
1340 Evolution of Insect Mating Systems, 1 edn. OUP, Oxford

1341 Las Peñas ML, Oakley L, Moreno NC, Bernardello G (2017) Taxonomic and cytogenetic studies  
1342 in *Opuntia* ser. *Armatae* (Cactaceae). Botany 95:101-120

- 1343 Martin TE (1998) Are microhabitat preferences of coexisting species under selection and  
1344 adaptive? *Ecology* 79:656–670
- 1345 McGraw JB, Caswell H (1996) Estimation of individual fitness from life-history data. *Am Nat*  
1346 147:47-64
- 1347 Michener CD (2007) The bees of the world. The Johns Hopkins University Press, United States  
1348 of America 913pp
- 1349 Moure JS, Melo GAR (2012) Emphorini Robertson, 1904. In: Moure JS, Urban D, Melo GAR  
1350 (eds) Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region - online  
1351 version
- 1352 Myers JP, Connors PG, Pitelka FA (1979) Territory size in wintering sanderlings: The effects of  
1353 prey abundance and intruder density. *The Auk* 96:551-561
- 1354 Neat FC, Taylor AC, Huntingford FA (1998) Proximate costs of fighting in male cichlid fish: the  
1355 role of injuries and energy metabolism. *Anim Behav* 55:875–882
- 1356 Neff JL (2008) Components of nest provisioning behavior in solitary bees (Hymenoptera:  
1357 Apoidea). *Apidologie* 39:30-45
- 1358 Neff JL, Simpson BB (1992) Partial bivoltinism in a ground-nesting bee: The biology of *Diadasia*  
1359 *rinconis* in Texas (Hymenoptera, Anthophoridae). *J Kans Entomol Soc* 65:377-392
- 1360 Newton I (1991) Habitat variation and population regulation in Sparrowhawks. *IBIS* 133:76-88
- 1361 Oliveira R, Carvalho AT, Schlindwein C (2012) Territorial or wandering: how males of  
1362 *Protodiscelis palpalis* (Colletidae, Paracolletinae) behave in searching for mates.  
1363 *Apidologie* 43:674-684
- 1364 Oliveira R, Carvalho AT, Schlindwein C (2013) Plasticity in Male Territoriality of a Solitary Bee  
1365 Under Different Environmental Conditions. *J Insect Behav* 26:690-694
- 1366 Oliveira R, Schlindwein C (2010) Experimental demonstration of alternative mating tactics of  
1367 male *Ptilothrix fructifera* (Hymenoptera, Apidae). *Anim Behav* 80:241-247
- 1368 Osborne JL, Smith A, Clark SJ, Reynolds DR, Barron MC, Lim KS, Reynolds AM (2013) The  
1369 ontogeny of bumblebee flight trajectories: From naïve explorers to experienced foragers.  
1370 *PLoS ONE* 8:e78681
- 1371 Pearson HC, Packard JM, Davis RW (2006) Territory quality of male sea otters in Prince William  
1372 Sound, Alaska: relation to body and territory maintenance behaviors. *Can J Zool* 84:939–  
1373 946
- 1374 Peixoto PEC, Benson WW (2009) Seasonal effects of density on territory occupation by males of  
1375 the satyrine butterfly *Paryphthimoides phronius* (Butler 1867). *Journal of Ethology*  
1376 27:489-496
- 1377 Potts JR, Lewis MA (2014) How do animal territories form and change? Lessons from 20 years  
1378 of mechanistic modelling. *Proc R Soc B* 281:20140231

1379 R Core Team (2019) R: A language and environment for statistical computing. In: R Foundation  
1380 for Statistical Computing, Vienna, Austria

1381 Rutowski RL (1991) The evolution of male mate-locating behavior in butterflies. *Am Nat*  
1382 138:1121-1139

1383 Rutowski RL, Alcock J (1980) Temporal variation in male copulatory behaviour in the solitary  
1384 bee *Nomadopsis puellae* (Hymenoptera: Andrenidae). *Behaviour* 73:175-188

1385 Santos TB, Peixoto PEC (2017) Agonistic interactions in the dragonfly *Micrathyria*  
1386 *ungulata*: does male fighting investment come from an innate ability or an indomitable  
1387 will? *Behav Ecol Sociobiol* 71

1388 Schlindwein C (1998) Frequent oligolecty characterizing a diverse bee? Plant community in a  
1389 xerophytic bushland of subtropical Brazil. *Studies on Neotropical Fauna and*  
1390 *Environment* 33:46-59

1391 Schlindwein C (2004) Are oligolectic bees always the most effective pollinators? In: Freitas BM,  
1392 Pereira JOP (eds) *Solitary Bees: Conservation, Rearing and Management for Pollination*.  
1393 Imprensa universitária, Fortaleza, Brazil, pp 285

1394 Schlindwein C, Wittmann D (1997) Stamen movements in flowers of *Opuntia* (Cactaceae) favour  
1395 oligolectic pollinators. *Plant Syst Evol* 204:179-193

1396 Schoener TW (1971) Theory of feeding strategies. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 2:369-404

1397 Seidelmann K (2006) Open-cell parasitism shapes maternal investment patterns in the Red Mason  
1398 bee *Osmia rufa*. *Behav Ecol* 17:839–848

1399 Sergio F, Newton I (2003) Occupancy as a measure of territory quality. *J Anim Ecol* 72:857–865

1400 Sih A, Krupa J, Travers S (1990) An experimental study on the effects of predation risk and  
1401 feeding regime on the mating behavior of the water strider. *Am Nat* 135:284-290

1402 Singmann H, Bolker B, Westfall J, Aust F, Ben-Shachar MS (2020) afex: Analysis of Factorial  
1403 Experiments. In: R package version 0.16-1

1404 Stone GN (1995) Female foraging responses to sexual harassment in the solitary bee *Anthophora*  
1405 *plumipes*. *Anim Behav* 50:405-412

1406 Takeuchi T (2006) Matter of size or matter of residency experience? Territorial contest in a green  
1407 hairstreak, *Chrysozephyrus smaragdinus* (Lepidoptera: Lycaenidae). *Ethology* 112:293–  
1408 299

1409 Thornhill R, Alcock J (1983) *The evolution of insect mating systems*. Cambridge: Harvard  
1410 University Press, United States of America

1411 Tsubaki Y, Ono T (1986) Competition for territorial sites and alternative mating tactics in the  
1412 dragonfly, *Nannophya pygmaea* Rambur (Odonata: Libellulidae). *Behaviour* 97:234-252

1413 Wade MJ (1979) Sexual selection and variance in reproductive success. *Am Nat* 114:742-747

1414 Wittmann D, Radtke R, Cure JR, Schifino-Wittmann MT (1990) Coevolved reproductive  
1415 strategies in the oligolectic bee *Callonychium petuniae* (Apoidea, Andrenidae) and three

- 1416 purple flowered *Petunia* species (Solanaceae) in southern Brazil. J Zool Syst Evol Res  
1417 28:157-165
- 1418 Zabala J, Zuberogitia I (2014) Individual quality explains variation in reproductive success better  
1419 than territory quality in a long-lived territorial raptor. PLoS ONE 9:e90254
- 1420 Zappi D, Taylor N, Santos MR, Larocca J (2015) Cactaceae in Lista de Espécies da Flora do  
1421 Brasil. In. Jardim Botânico do Rio de Janeiro
- 1422
- 1423