

Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta, Katedra zoologie

Charles University, Faculty of Science Department of zoology

Doktorský studijní program: Zoologie Ph.D.

Study program: Zoology

Autoreferát disertační práce

Summary of the Ph.D. Thesis



Evolution of sociality and parental care in bees of the genus *Ceratina*

Evoluce sociality a rodičovské péče u včel rodu *Ceratina*

Mgr. Michael Mikát

Školitel/Supervisor: Mgr. Jakub Straka Ph.D.

Praha, 2020

Abstrakt

Včely rodu *Ceratina* jsou výbornou modelovou skupinou pro studium evoluce rodičovského chování a eusociality. Je pro ně typická prodloužená rodičovská péče – matka obvykle hlídá potomstvo do dospělosti a následně ho krmí pylem a nektarem. Většina druhů je fakultativně eusociální a fakultativně eusociální byl pravděpodobně i společný předek celého rodu.

Ačkoliv mají včely rodu *Ceratina* velmi zajímavé chování, podrobné studie byly provedeny jenom na několika druzích. Tyto druhy byly obvykle ze severní Ameriky, Japonska či Austrálie. Od evropských druhů existují jenom ojedinělá pozorování. Podrobný průzkum chování evropských druhů nebyl před mojí disertací proveden.

Cílem práce je prozkoumání prvků chování evropských druhů rodu *Ceratina*. Dále je cílem identifikovat případné zisky a ztráty prvků chování. Zaměřil jsem se na následující vlastnosti: sociální hnízdění, hlídání potomstva do dospělosti a krmení dospělého potomstva. Během mého magisterského studia jsem objevil obourodičovskou péči u druhu *C. nigrolabiata*. Tudíž nejdůležitější cíl mého Ph.D. projektu bylo ohodnocení zisků a ztrát obourodčovského chování.

Hlídání potomstva do dospělosti výrazně zvyšuje jeho přežívání. Důvodem je efektivní obrana proti přirozeným nepřítelům. Dříve se předpokládalo, že matka hlídá potomstvo do dospělosti u všech druhů včel rodu *Ceratina*. Ovšem naše výzkumy ukázaly, že u tří druhů se hlídá matka potomstvo jen u části hnízd. U těchto druhů může matka po dozásobování hnízda buď hlídat potomstvo, nebo hnízdo uzavřít a opustit. Hlídaná hnízda mají vyšší počet zásobovaných komůrek, než hnízda zátkovaná. Pravděpodobnou výhodou opouštění hnízda je možnost dalšího hnízdění, a tedy produkce větší počtu potomků.

Matka včel rodu *Ceratina* obvykle krmí své dospělé potomstvo. U severoamerického druhu *C. calcarata* v případě smrti matky krmí potomstvo trpasličí dcera. Krmení potomstva matkou se vyskytuje u všech tří studovaných evropských druhů, ovšem v případě smrti matky není potomstvo nijak krmeno.

Eusociální hnízdění bylo nově dokumentováno u šesti druhů. Eusocialita u včel rodu *Ceratina* je tudíž hojná i u druhů, které se vyskytují v mírném či subtropickém klimatu. U druhu *C. parvula* bylo nalezeno až šest samic v hnízdě, což je dosud nejvyšší zaznamenaný počet u včel rodu *Ceratina*. Velmi neobvyklá eusocialita se vyskytuje u druhu *C. chalybea*. Eusociální hnízda obsahují jednu starou samici, až devět mladých dospělců a nově zazásobované komůrky. Mladí dospělci jsou obvykle samci a asi polovina z nich je nepříbuzná staré samici.

Obourodičovská péče nebyla u včel dosud známa. *Ceratina nigrolabiata* je první druh včely, u které byla obourodičovská péče zaznamenána. Samec a samice se nacházeli společně v téměř všech aktuálně zásobovaných hnízdech. Páry ovšem nejsou stabilní a samci se v průběhu sezony střídají. V důsledku střídání samců samec není obvykle otcem potomstva, protože většina potomků pochází od předchozích partnerů samice. Pokud ovšem samec vydrží v hnízdě dlouho, zvyšuje se míra jeho paternity i celkové množství potomků v hnízdě. Předpokládáme, že vícenásobné páření samice překvapivě podpořilo vznik obourodičovské péče, neboť samice jsou receptivní po celou hnízdní sezonu. Prodloužená receptivita samice selektuje na dlouhověkost samců, a tudíž umožňuje, aby se podíleli na péči.

Klíčová slova: eusocialita, rodičovská péče, obourodičovská péče, rodičovské investice, příbuznost, *Ceratina*, kyjorožky, Xylocopinae

Abstract

Small carpenter bees (genus *Ceratina*) are an excellent model taxon for the study of evolution of parental care and origin of eusociality. Prolonged offspring care is typical for this bee genus. Females usually guard their offspring until adulthood and later feed their adult offspring pollen and nectar. Moreover, most of studied species are facultatively eusocial, a trait probably inherited from the common ancestor of the genus.

Although *Ceratina* bees have generally very interesting behavior, detailed studies were performed in only a few species, usually from North America, Japan and Australia. Only anecdotal observations of natural history existed for a few European species, and detailed research has not been performed before my thesis.

The goal of my thesis is to explore the natural history of European species of *Ceratina* and to identify possible costs and benefits of this species' behavioral traits. I focused on following these behavioral traits: social nesting, guarding of offspring until adulthood, and feeding of mature offspring. Through my master project, I discovered biparental care in species *C. nigrolabiata*, therefore the most important goal of my Ph.D. project is the evaluation of costs and benefits of this behavior.

Guarding of offspring by mother significantly influences their survival, because it serves as an effective protection against natural enemies. It was supposed that mothers guard their offspring until adulthood in all *Ceratina* bees. However, we found three species, in which guarding was only a facultative strategy. The mother can continuously guard her offspring, or close and abandon the nest. Guarded nests have a higher number of provisioned brood cells and usually also higher offspring survival rate. A probable benefit of nest abandonment is the possibility of another nesting elsewhere and therefore production of higher number of offspring.

Mothers of *Ceratina* bees usually feed their adult offspring. In North American species *C. calcarata*, dwarf eldest daughters feed their siblings in case of mother's death. Feeding of mature offspring by mother occurs in three studied European species. However, no individual feeds them in case of mother's death.

Eusocial nesting was newly documented in six species. Therefore, eusociality is common under temperate as well as subtropical climates in *Ceratina* bees. Nests with six females were documented in *C. parvula*, which is the highest number of females in one nest ever documented in *Ceratina* bees. Strange eusociality occurs in *C. chalybea*. Eusocial nests contain one old female, up to nine young adults, and new brood cells. These young adults are usually males and a half of them are unrelated to the old female.

Biparental care was not previously known in bees. *Ceratina nigrolabiata* is the first bee species in which biparental care was discovered. A male and female pair was found in almost all nests with provisioned brood cells, but the pairs are not permanent and exchanging of males occurs. The currently present male is usually not related to the offspring, who are fathered by previous partners of the female. However, long term pair stability has benefits for males and also females. If a pair is stable, nest productivity increases and so does the probability of the present male's paternity. We suppose that female mating multiple times paradoxically allows establishment of biparental care. As the female is receptive through the whole nesting season, long-term male survival is selected, therefore the probability of male care development is also increasing.

Keywords: eusociality, parental care, biparental care, parental investments, relatedness *Ceratina*, small carpenter bees, Xylocopinae

Obsah

1 Úvod

2 Cíle práce

3 Materiál a metodika

4 Výsledky a diskuse

5 Závěry

Curriculum vitae

Seznam publikací

English version

Contents

1 Introduction

2 Aims of the study

3 Material and methods

4 Results and discussion

5 Conclusions

6 References

Curriculum vitae

Selected publications

Úvod

Péče o potomstvo je efektivním způsobem, jak zvýšit přežívání potomstva. Většinou je péče prováděna pouze jedním jedincem, obvykle matkou. Existuje ovšem řada situací, kdy více jedinců kooperuje při péči. Když více jedinců spolupracuje, komplexita společenství a také rozpoznávací schopnosti jedinců vzrůstají. Komplexita chování tudíž vzrůstá celkově. Eusocialita a obourodičovská péče jsou nejčastějšími případy spolupráce více jedinců stejného druhu.

Pro žahadlové blanokřídlé je typická rozsáhlá péče o potomstvo. U většiny druhů (které jsou označovány jako samotářské) pečuje pouze matka. Matka poté, co dozásobuje potomstvo potravou, je obvykle opouští a založí nové hnízdo. Ovšem v rámci žahadlových blanokřídlých vznikla opakovaně eusociální společenství, která mohou čítat až miliony jedinců. Velká eusociální společenství jsou populární mezi vědci a širokou veřejností. Ačkoliv se velká společenství se vyznačují mnoha fascinujícími fenomény, nejsou příliš vhodná pro výzkum vzniku sociálního chování. Pro stadium vzniku eusociality jsou optimální společenství fakultativně eusociálních druhů, tedy druhé, které jsou schopny vytvářet eusociální s i samotářská společenství. Tyto dva typy společenství pak můžeme srovnávat a vyhodnotit zisky a ztráty jednotlivých strategií. Chování většiny fakultativně eusociálních druhů je ovšem špatně známo.

Samci u blanokřídlých jsou obvykle krátkověcí a těší se jen malé pozornosti. U většiny druhů samci neparticipují na péči o potomstvo. Ovšem existují některé výjimky. Samci mohou mít určitou, byť jen malou roli v některých eusociálních společenstvích, například u vosíků či čmeláků. Obourodičovská péče byla zjištěna u některých kutilek. Nejznámějším příkladem jsou kutilky rodu *Trypoxylon*.

Včely rodu *Ceratina* jsou výbornou skupinou pro výzkum rodičovského a sociálního chování. Mají prodlouženou mateřskou péči. Když matka dokončí zásobování hnízda, tak hlídá své potomky až do jejich dospělosti. Když potomstva dosáhnou dospělosti, matka je krmí pylem či nektarem. Ačkoliv jsou včely rodu *Ceratina* obvykle považovány za samotářské, sociální hnízdění bylo dokumentováno u většiny podrobněji prozkoumaných druhů. Podíl sociálních hnízd je ale malý, obvykle mezi 1-20%. Společný předek celého rodu byl pravděpodobně fakultativně eusociální.

Cíle práce

Chování u většiny druhů rodu *Ceratina* nebylo dosud studováno. Evropské druhy nejsou výjimkou. Dosud byla publikována jen ojedinělá pozorování bez dostatečně velkých souborů dat. Prvním cílem mé práce je prozkoumat sociální a rodičovské strategie evropských druhů rodu *Ceratina*. Dále jsem se snažil vyhodnotit výhody a nevýhody jednotlivých prvků chování. Pro včely rodu *Ceratina* je typické hlídání potomků až do dospělosti, jehož výhody jsem testoval. U některých druhů jsem zjistil, že jen část hnízd je hlídána matkou, tudíž jsem porovnal hlídaná a opuštěná hnízda. U druhů, u kterých jsem dokumentoval eusociální hnízdění, jsem se snažil porovnat solitérní a eusociální hnízda. Dále jsem se snažil vyhodnotit výhody a nevýhody sociálního hnízdění u druhu *C. chalybea*, u kterého se vyskytují v hnízdech nepříbuzní samci. Nejdůležitějším cílem bylo vyhodnocení výhod a nevýhod obourodičovské péče u druhu *C. nigrolabiata* pro obě pohlaví. Dále jsem se snažil ohodnotit podmínky, za kterých obourodičovská péče může vzniknout.

Materiál a metodika

Pro každý článek jsem použil jiný soubor metod. Nejdůležitější metodou byla pitva hnízd, která byla součástí každé části mé disertace. Hnízda byla sebrána z přirozených hnízdních příležitostí nebo arteficiálních hnízdních příležitostí před hnízdní sezonou. Hnízda byla sbírána vždy večer nebo ráno, tedy v době, kdy jsou všichni jedinci v hnízdě. Hnízda byla otevřena zahradnickými nůžkami nebo nožem. Obsah hnízda a hnízdní sktruktura byla zdokumentována. Byl zjištěn počet a pohlaví dospělců a počet a vývojové stadium nedospělých jedinců.

V rámci některých studií byli juvenilní jedinci dochováni do dospělosti. Juvenilní jedinci byli přesunuti do vialek a tam ponecháni, dokud nedosáhli dospělosti. Bylo určeno pohlaví dochovaných jedinců a změřena jejich šířka hlavy.

Značení dospělců bylo používáno pro ověření jejich identity. Pomocí olejového fixu byla nanesena jedna nebo více teček na zadeček včely.

V rámci jednotlivých experimentů bylo pozorováno sběrací chování samice. Časy příletu a odletu samice byly zaznamenány. Pozorování byla provedena na nemanipulovaných hnízdech, nebo hnízdech, která byla přesunuta do studijních ploch. Hnízda pozorovaná ve studijních plochách byla zakrývána plastovými víčky pro zpomalení včel pro snížení pravděpodobnosti nezaznamenání příletu či odletu.

Pro testování vlivu přítomnosti dospělců na přežití a produktivity hnízda jsme provedli odstranění dospělců. Samice byly odstraňovány dvěma odlišnými metodami: buď v situaci, kdy přirozeně opustili hnízdo, nebo poté, co vylezly z hnízda po vyrušení stéblem. Samci *C. nigrolabiata* byly odstraňovány poté, co vylezli z hnízda po vyrušení stéblem.

Příbuznost mezi jedinci v hnízdě byla testována pomocí mikrosatelitových lokusů. Deset lokusů bylo vyvinuto pro druh *C. nigrolabiata*, ale bylo možné je využít i na příbuzné druhy. Mikrosatelitové lokusy byly používány společně v multiplexu. DNA byla izolována pomocí Chelexu a poté amplifikována pomocí PCR. Délka fragment DNA byla měřena pomocí automatického sekvenátoru. Program Gene Marker byl použit pro identifikaci alel. Paternita byla testována pomocí programu Colony.

Statistické analýzy byly provedeny pomocí programu R.

Výsledky a diskuse

Dokumentovali jsme sociální hnízdění u šesti druhů, u kterých nebylo předtím známo: *C. chalybea*, *C. cypriaca*, *C. mandibularis*, *C. parvula*, *C. bispinosa*, and *C. chrysomalla*. Naopak za striktně solitérní považujeme druhy *C. cucurbitina*, *C. dallatoreana* a pravděpodobně *C. chalcites*. *Ceratina nigrolabiata* má obourodčovskou péči tudíž není zařaditelná ani do jedné kategorie. U druhu *C. parvula* jsme zjistili až šest samic v hnízdě a u druhu *C. mandibularis* pět, což je více než u jakéhokoliv předtím zkoumaného druhu rodu *Ceratina*. Zvláštní eusocialita byla zjištěna u druhu *C. chalybea*. V hnízdě se vyskytuje jedna stará samice, několik mladých dospělců a nově zásobované komůrky. Většina mladých dospělců jsou ovšem samci, a asi polovina je nepříbuzná staré samici. Předpokládáme, že hlavní výhoda pro mladé dospělé je příjem potravy od staré samice. Mladí dospělci mohou chránit hnízdo před přirozenými nepřáteli v případě nepřítomnosti steré samice.

Když potomci dosáhnou dospělosti, matka je zásobuje pylem a nektarem. U severoamerického druhu *C. calcarata* provádí krmení mladých dospělců nejstarší dcera v případě smrti matky. Altruistická

dcera nebyla ale dokumentována u žádného ze studovaných evropských druhů (*C. chalybea*, *C. cucurbitina* a *C. nigrolabiata*). Tudíž nikdo nekrmí v opuštěných či osiřelých hnízdech. Mladí dospělci se pravděpodobně přesunou do hnízda, kde stará samice stále krmí.

Hlídní hnízda matkou výrazně zvyšuje přežívání potomstva. Matka chrání potomstvo před přirozenými nepřáteli, například mravenci, chalcidkami a ostatními samicemi rodu *Ceratina*. Hlídní potomstva do dospělosti bylo považováno za univerzální znak pro včely rodu *Ceratina*. Naše výzkumy ovšem ukázaly fakultativní opouštění hnízda u tří druhů. Matka u těchto druhů může hlídat hnízdo až do dospělosti, nebo ho záztkovat a opustit. Hlídná hnízda mají větší počet zásobovaných komůrek a obvykle také větší podíl přežívajících potomků. Domníváme se, že hlídní způsobuje efektivnější ochranu potomstva, ovšem záztkování umožňuje započítí nového hnízda v důsledku toho větší počet potomků.

V rámci včel byla obourodíčková péče poprvé objevena u druhu *C. nigrolabiata*. V naprosté většině hnízd ve fázi zásobování komůrek se nacházel samec se samicí. Páry vznikají již před tím, než začne zásobování komůrek. Ovšem jeden samec nezůstává v hnízdě po celou hnízdní sezonu, ale vydrží v hnízdě obvykle týden, poté je nahrazen jiným samcem. Pokud jeden samec v hnízdě vydrží dlouho, zvyšuje to produktivitu hnízda. Aktuálně přítomný samec obvykle není otcem ani části potomstva, protože se samice pářila s předchozími partnery a skladuje spermie ve spermatéce. Hlídní samec má alespoň nějaké potomstvo v 29% hnízd a jednom 10% potomstva. Pokud je samec v hnízdě delší dobu, pravděpodobnost jeho paternity roste. Roste rovněž i pravděpodobnost paternity na jeden den hlídní.

Závěr

Rodičovská péče je extrémně pestrá u evropských včel rodu *Ceratina*. Prodloužená mateřská péče, tedy hlídní potomstva do dospělosti má velké výhody pro přežití potomstva. Ovšem některé evropské druhy redukují hlídní potomstva a opouštějí potomky, jakmile je zásobování hnízda dokončeno.

Různé druhy se výrazně liší v sociální strategii, roli samců, rozsahu mateřské péči hnízdní struktury. Většina evropských druhů má schopnost sociálního hnízdní, ačkoliv podíl sociálních hnízd je obvykle malý. Obourodíčková péče má obvykle podobné výhody pro ochranu potomstva jako eusocialita, a tou je přítomnost hlídního jedince v situaci, kdy je zásobující jedinec pryč. Obourodíčková péče vznikla v situaci, kdy se samice páří vícekrát, zatímco eusocialita vzniká za podmínek jednonásobného páření samice.

Michael Mikát

Narozen 2. Zářím 1989, Hradec Králové

E-mail: michael.mikat@gmail.com

Katedra zoologie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Praha, Viničná 7, 12844, Prague

ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-5364-7180>

Research Gate: https://www.researchgate.net/profile/Michael_Mikat

Vzdělání

Doktorské studium: 1.10.2014-současnost

- Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova
- Studijní program: Zoologie
- Disertační projekt: Evoluce sociality a rodičovské péče u včel rodu *Ceratina* Future Ph.D
- Školitel: Mgr. Jakub Straka Ph.D.
- Výzkumná stáž v The Bee Lab (head: Sandra Rehan), University of New Hampshire (02/05/2016-09/12/16)

Magisterské studium: 1.10.2012-20.9.2014

- Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova
- Studijní program: Zoologie, specializace entomologie
- Master thesis: Sociální monogamie a rodičovská péče u včel rodu *Ceratina*
- Školitel: Mgr. Jakub Straka Ph.D.
- Studium zakončeno získáním červeného diplomu
- Diplomová práce oceněna cenou rektora

Bakalářské studium: 1.10.2009-20.9.2012

- Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova
- Studijní program: Biologie
- Bakalářská práce: Cyklický vývoj sociálních společenství u hmyzu
- Školitel: Mgr. Jakub Straka Ph.D.
- Studium zakončeno získáním červeného diplomu

Publikační aktivita: Publikace zahrnuté na web of Science: 7 (z toho 5 první autor), H-index = 3), Citace 25 (21 s vyloučením autocitací)

Publikace

- **Mikát, M.**, Benda, D., Straka, J., 2019: Maternal investment in a bee species with facultative nest guarding and males heavier than females. *Ecol. Entomol.*
<https://doi.org/10.1111/een.12768> (IF 2019= 2.073, počet citací 1, bez autocitací 1)
- **Mikát, M.**, Straka, J., 2019. Reply to Portman: Mate guarding, sib guarding, and biparental care in bees. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 116, 9713–9713. <https://doi.org/10.1073/pnas.1905235116> (IF 2019 = 9.580)
- **Mikát, M.**, Janošík, L., Černá, K., Matoušková, E., Hadrava, J., Bureš, V., Straka, J., 2019. Polyandrous bee provides extended offspring care biparentally as an alternative to monandry based eusociality. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 116, 6238–6243.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1810092116> (IF 2019 = 9.580, počet citací 2, bez autocitací 1)
- Macháčková, L., Votavová, A., **Mikát, M.**, Matějková, S., Řehoř, I., Gillarová, S., Straka, J., 2018. Measurement of protein and sugar consumed by bumblebee larvae under standard and food stress conditions using lanthanide complexes. *Insectes Sociaux.* 66 245–256
<https://doi.org/10.1007/s00040-018-00681-x> (IF 2018 = 1.412)
- **Mikát, M.**, Franchino, C., Rehan, S.M., 2017. Sociodemographic variation in foraging behavior and the adaptive significance of worker production in the facultatively social small carpenter bee, *Ceratina calcarata*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 71, 135.
<https://doi.org/10.1007/s00265-017-2365-6> (IF 2017= 2.473, počet citací 8, bez autocitací 7)
- **Mikát, M.**, Černá, K., Straka, J., 2016. Major benefits of guarding behavior in subsocial bees: implications for social evolution. *Ecol. Evol.* 6, 6784–6797. <https://doi.org/10.1002/ece3.2387> (IF 2016= 2.440, počet citací 7, bez autocitací 5)
- Janovský, Z., **Mikát, M.**, Hadrava, J., Horčíčková, E., Kmecová, K., Požárová, D., Smyčka, J., Herben, T., 2013. Conspecific and Heterospecific Plant densities at small-scale can drive plant-pollinator interactions. *PLoS ONE* 8, e77361.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077361> (IF 2013= 3.534, počet citací 7, bez autocitací 7)

Introduction

Offspring care is an effective way for increasing their survival. It is performed only by one individual in most cases, usually a mother. However, situations where multiple individuals caring for offspring cooperate also exist. When multiple individuals cooperate, the complexity of society and the necessary communication and recognition skills increase. Therefore, behavioral complexity increases in total. The most important cases where multiple individuals cooperate in caring for offspring is eusociality and biparentality.

A high extent of parental care is typical for aculeate Hymenoptera. Maternal care is usual in most species. In solitary species, the mother performs all provisioning of juveniles alone. When provisioning is finished, she usually closes the nest and founds another nest elsewhere. Aculeata also evolved eusocial colonies with one to several millions of workers multiple times. Large hymenopteran societies are popular among scientist and also in broad public. Although these societies evolved many fascinating phenomena, they are inappropriate for the study of emergence of cooperation and social behavior. Facultatively eusocial species are optimal for studying origins of eusociality. We can compare solitary and eusocial strategy, as well as costs and benefits of both strategies in one population. However, natural history of most of facultatively eusocial species is poorly known.

Predominantly short-living males are a neglected sex in Hymenoptera. They concentrate mainly on searching for females and mating. In most species, males do not participate in parental care. However, there are some exceptions. Males can perform some work in some eusocial groups, such as bumblebees or *Polistes* wasps. Moreover, in several crabronid wasps, biparental care has been described. The most well-known is in genus *Trypoxylon*.

Small carpenter bees are an excellent group for studying parental and social behavior because of prolonged maternal care. When mother finishes provisioning, she guards her offspring until adulthood. When offspring reach adulthood, she feeds them pollen and nectar. Although *Ceratina* bees were traditionally considered as solitary, social nesting was documented in most precisely examined species. However, the proportion of social nests is low, usually between 1–20%. The common ancestor of the genus was probably facultatively eusocial.

Aims of this study

Behavior of most *Ceratina* species has not been studied to this date. Only anecdotal observations without sufficiently large datasets necessary for evaluation of behavior were published for European species. First goal of my research was to describe social and parental strategies of several European species. Moreover, I tried to evaluate costs and benefits of different parental and social behavioral traits. For *Ceratina* bees, guarding of offspring until adulthood is typical. Therefore, I tested benefits of this guarding behavior. As I discovered facultative nest guarding in several species, I compared guarded and abandoned nests. I documented eusocial behavior in several species and evaluated factors which influence presence of eusocial nesting. Moreover, my second goal was to identify possible costs and benefits in strange societies of *Ceratina chalybea*, where unrelated males occur as helpers. The greatest goal was the identification of costs and benefits of biparental care from the point of view of both sexes in *C. nigrolabiata*. Furthermore I evaluated possible conditions, which lead to emergence of biparental care.

Material and methods

A different set of methods was used for each paper or manuscript. The keystone method used in all parts of my thesis is the dissection of *Ceratina* nests. Nests were collected from natural nesting opportunities or artificial nesting opportunities, which were prepared before nesting season. These nests were collected in the evenings or mornings to ensure that all inhabitants were inside. Nests were opened by clippers or knife and observed nest content was noted, especially the presence of adults, number and stage of offspring, and also nest structure.

Immature offspring were translocated from nest to microtubes and reared to adulthood for several studies. Sex was determined and head width was measured in adult individuals.

Marking of individuals was used for verification of their identity. One or more dots were painted on metasoma of bees by enamel painters.

In several experiments, foraging activity of female was observed. Time of departure and arrival was noted. Observation was performed on unmanipulated nests or nests which were relocated to study plots. When nests were observed on study plots, plastic cups closing the nest entrance were used for decreasing the probability of missing a departure or arrival.

We removed adults to test their presence on offspring survival rate or nest productivity. Females were removed by two different methods: when they naturally departed from their nest or when they fled after their abdomen was pushed with a straw. Male of *C. nigrolabiata* was removed after he left the nest when he was pushed with a straw.

Relatedness between individuals was tested using microsatellite loci. Ten microsatellite loci were developed for species *C. nigrolabiata*, but it is possible to use them for related species as well. These loci were used in a multiplex. DNA was isolated using Chelex protocol and amplified by PCR. DNA fragments were separated using automatic sequencer (ABI prism). Gene marker software was used for identification of alleles. Colony software was used for paternity tests.

Statistical analyses were performed in R software.

Results and discussion

We documented social nesting in six species, where it was previously unknown: *C. chalybea*, *C. cypriaca*, *C. mandibularis*, *C. parvula*, *C. bispinosa*, and *C. chrysomalla*. On the other hand, based on our data, we consider *C. cucurbitina*, *C. dallatoreana*, and probably *C. chalcites* as strictly solitary species. *Ceratina nigrolabiata* has biparental care, therefore it is not included in either aforementioned social category. We documented nests with six females in *C. parvula* and nests with five females in *C. mandibularis*, which are higher numbers than has been documented for any *Ceratina* bee species to this date. Strange eusociality was found in *C. chalybea*. An old female, up to nine young adults, and new brood cells occurs in their eusocial nests. However, most of these young adults were males, about a half of them were unrelated to the old female. We suppose that the main benefit for young adults is obtaining food from the old female, while the benefits for the old female include protection of nest while she performs foraging or when she dies.

When offspring reach adulthood, mother feeds them pollen and nectar in the nest. When mother dies, feeding can be performed by dwarf daughter in American species *C. calcarata*. However, the presence of an altruistic daughter was not documented in any studied European species (*C. chalybea*, *C. cucurbitina*, and *C. nigrolabiata*). Therefore, no individual feeds offspring in orphaned or

abandoned nests. Young adults from these nests abandon the nests and probably move to nests, where a mother is still present.

Guarding offspring by mother significantly increases offspring survival rate as it serves as an effective protection against natural enemies, such as ants, chalcidoid wasps, and other *Ceratina* bees. Guarding of offspring until adulthood was considered an universal trait for *Ceratina* bees. However, we discovered facultative nest abandonment in three species. Mother can guard offspring until adulthood or she can plug and abandon the nest. Guarded nests have higher number of brood cell provisioned and usually also higher offspring survival rate than abandoned nests. We suppose that guarding may cause better offspring protection, however abandoning allows immediate nesting elsewhere and therefore higher number of offspring produced.

Biparental care was firstly documented in bees in species *C. nigrolabiata*. Male and female were found in almost all nests, where brood cells were currently provisioned. A pair is established before the start of brood cell provisioning. However, one male does not stay in one nest through whole nesting season. On average one male stays about a week in one nest. When the male disappears, he is quickly replaced by another male. When one male stays in one nest for a long time, it leads to increased nest productivity. A currently present male is usually not the father of offspring, because female mates with previous partners and stores the sperm. A guarding male had offspring in only 29% of nests and only 10% of offspring was fathered by guarding male. However, when one male stays in a nest for long time, the probability of his paternity increases. Moreover, probability of paternity per one day of guarding also increases.

Conclusions

Parental care is extremely diversified in European *Ceratina* bees. Extended maternal care, the guarding of offspring, strongly influences offspring survival rate. However, some European species reduce guarding and abandon their offspring after nest provisioning is finished. Different species highly differ in social mode, role of males, extent of maternal care, and also nest structure. Most of European species probably have the ability of eusocial nesting, although the proportion of nests with multiple individuals is usually low. Biparental care probably has similar benefits of offspring protection as eusociality—i.e. the presence of a guard when another individual is on foraging trip. However, it evolves in different conditions. Biparental care originated in a situation when a female mates multiple times, eusociality evolved under single mating of a female.

Michael Mikát

Born 2nd September 1989

E-mail: michael.mikat@gmail.com

Department of Zoology, Faculty of Science, Charles University, Prague, Viničná 7, 12844, Prague

ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-5364-7180>

Research Gate: https://www.researchgate.net/profile/Michael_Mikat

Education

Phd Study: 1.10.2014-recent

- Charles University in Prague, Faculty of Science
- Study programme: Zoology
- Future Ph.D thesis: Sociality and parental care in bees of the genus *Ceratina*
- Supervisor: Mgr. Jakub Straka Ph.D.
- Visiting scholar in The Bee Lab (head: Sandra Rehan), University of New Hampshire (02/05/2016-09/12/16)

Master Study: 1.10.2012-20.9.2014

- Charles University in Prague, Faculty of Science
- Study programme: Zoology, specialization Entomology
- Master thesis: Sociality and parental care in bees of the genus *Ceratina*
- Supervisor: Mgr. Jakub Straka Ph.D.
- Study completed “cum laude”
- Rector’s award (for the best master student at university in Science)

Bachelor Study: 1.10.2009-20.9.2012

- Charles University in Prague, Faculty of Science
- Study programme: Biology
- Bachelor thesis: Cyclic development of social communities in insects
- *Supervisor:* Mgr. Jakub Straka Ph.D.
- Study completed “cum laude”

Publication activity: WOS indexed publications 7 (5 first author), H-index = 3, Citations 25 (21 excluding self-citations)

Publications:

- **Mikát, M.**, Benda, D., Straka, J., 2019: Maternal investment in a bee species with facultative nest guarding and males heavier than females. *Ecol. Entomol.*
<https://doi.org/10.1111/een.12768> (IF 2019= 2.073, Citations 1, Excluding self citations 1)
- **Mikát, M.**, Straka, J., 2019. Reply to Portman: Mate guarding, sib guarding, and biparental care in bees. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 116, 9713–9713. <https://doi.org/10.1073/pnas.1905235116> (IF 2019 = 9.580)
- **Mikát, M.**, Janošík, L., Černá, K., Matoušková, E., Hadrava, J., Bureš, V., Straka, J., 2019. Polyandrous bee provides extended offspring care biparentally as an alternative to monandry based eusociality. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 116, 6238–6243.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1810092116> (IF 2019 = 9.580, Citations 2, Excluding self citations 1)
- Macháčková, L., Votavová, A., **Mikát, M.**, Matějková, S., Řehoř, I., Gillarová, S., Straka, J., 2018. Measurement of protein and sugar consumed by bumblebee larvae under standard and food stress conditions using lanthanide complexes. *Insectes Sociaux.* 66 245–256
<https://doi.org/10.1007/s00040-018-00681-x> (IF 2018 = 1.412)
- **Mikát, M.**, Franchino, C., Rehan, S.M., 2017. Sociodemographic variation in foraging behavior and the adaptive significance of worker production in the facultatively social small carpenter bee, *Ceratina calcarata*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 71, 135.
<https://doi.org/10.1007/s00265-017-2365-6> (IF 2017= 2.473, Citations 8, Excluding self-citations 7)
- **Mikát, M.**, Černá, K., Straka, J., 2016. Major benefits of guarding behavior in subsocial bees: implications for social evolution. *Ecol. Evol.* 6, 6784–6797. <https://doi.org/10.1002/ece3.2387> (IF 2016= 2.440, Citations 7, Excluding self-citations 5)
- Janovský, Z., **Mikát, M.**, Hadrava, J., Horčíčková, E., Kmecová, K., Požárová, D., Smyčka, J., Herben, T., 2013. Conspecific and Heterospecific Plant densities at small-scale can drive plant-pollinator interactions. *PLoS ONE* 8, e77361.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077361> (IF 2013= 3.534, Citations 7, Excluding self-citations 7)