



CAMPUS DE SÃO JOSÉ DO RIO PRETO

**Carlos Alberto dos Santos**

**Sobre a Produção de Novas Rainhas e o Acasalamento  
em *Synoeca surinama* (Vespidae; Polistinae: Epiponini)**

Sistemática  
Evolução

DOUTORADO



PÓS GRADUAÇÃO  
EM BIOLOGIA ANIMAL

**São José do Rio Preto**

**2015**

Biologia  
Estrutural

PÓS-GRAD

Carlos Alberto dos Santos

**Sobre a Produção de Novas Rainhas e o Acasalamento  
em *Synoecca surinama* (Vespidae; Polistinae: Epiponini)**

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Biologia Animal, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.

Orientador: Profº. Drº. Fernando Barbosa Noll

São José do Rio Preto

2015

Santos, Carlos Alberto dos.

Sobre a produção de novas rainhas e o acasalamento em  
*Synoecca surinama* (Vespidae; Polistinae: Epiponini) / Carlos Alberto  
dos Santos. -- São José do Rio Preto, 2015

79 f. : il., tabs.

Orientador: Fernando Barbosa Noll

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de  
Mesquita Filho", Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas

1. Ecologia animal. 2. Vespa. 3. Sociedades de insetos. 4. Vespa -  
Comportamento. 5. Vespa - Reprodução. 6. Acasalamento de  
animais. I. Noll, Fernando Barbosa. II. Universidade Estadual  
Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Instituto de Biociências, Letras e  
Ciências Exatas. III. Título.

CDU – 595.798

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca do IBILCE  
UNESP - Câmpus de São José do Rio Preto

Carlos Alberto dos Santos

**Sobre a Produção de Novas Rainhas e o Acasalamento  
em *Synoeca surinama* (Vespidae; Polistinae: Epiponini)**

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Biologia Animal, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.

**Comissão Examinadora**

Prof. Dr. Fernando Barbosa Noll  
UNESP – São José do Rio Preto  
Orientador

Dr. Sidnei Mateus  
USP – Ribeirão Preto

Dr. Eduardo Fernando dos Santos  
UNESP – São José do Rio Preto

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Sulene Noriko Shima  
UNESP – Rio Claro

Prof. Dr. Edilberto Giannotti  
UNESP – Rio Claro

São José do Rio Preto

27 de março de 2015

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus por me permitir compreender um pouco sobre a grande maravilha que é a vida e me conceder mais uma grande conquista.

Ao meu orientador Dr. Fernando Barbosa Noll, a quem cultivo grande admiração, não somente pelo pesquisador, mas pela grande pessoa que é, pela oportunidade, compreensão, amizade, confiança e pelos ensinamentos.

Aos Dr. Sidnei Mateus, Dr. Eduardo Fernando dos Santos, Dr<sup>a</sup>. Sulene Noriko Shima e Dr. Edilberto Giannotti, por terem aceitado os convites para participarem como membros da banca.

À minha filha Thaís Cristina Borges dos Santos, pelo amor e por me proporcionar grande alegria.

À minha família, em especial à minha mãe Célia Alves dos Santos, pela compreensão e ao meu irmão Sérgio Luiz dos Santos, pela grande ajuda e amizade.

Aos colegas de laboratório pela amizade e ensinamentos.

# SUMÁRIO

|                                                                                                                                                         |      |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| APRESENTAÇÃO                                                                                                                                            | VIII |
| <b>Capítulo 1</b>                                                                                                                                       |      |
| RESUMO                                                                                                                                                  | X    |
| ABSTRACT                                                                                                                                                | XI   |
| <b>1. INTRODUÇÃO</b>                                                                                                                                    | 1    |
| <b>2. MATERIAL E MÉTODOS</b>                                                                                                                            | 5    |
| 2.1. Localidade, períodos de estudo e características gerais dos ninhos.                                                                                | 5    |
| 2.2. Desenho experimental para o teste de remoção de rainhas.                                                                                           | 6    |
| 2.3. Análises comportamentais.                                                                                                                          | 8    |
| 2.4. Morfometria comparativa entre rainhas originais, operárias, novas rainhas e novas operárias.                                                       | 9    |
| 2.5. Definição dos grupos quanto ao desenvolvimento ovariano e idade relativa.                                                                          | 10   |
| 2.6. Catálogo comportamental.                                                                                                                           | 13   |
| <b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>                                                                                                                        | 17   |
| 3.1. Composição original e características reprodutivas das colônias antes do teste de remoção das rainhas.                                             | 17   |
| 3.2. Comportamentos e interações das rainhas originais com operárias antes do teste de remoção de rainhas.                                              | 21   |
| 3.3. A totipotência das fêmeas e os fatores envolvidos no estabelecimento dos grupos de novas rainhas nas colônias após o teste de remoção das rainhas. | 23   |
| 3.4. Nível de agressões antes e após a remoção das rainhas e as interações no estabelecimento do grupo de novas rainhas.                                | 27   |
| 3.5. Diferenças morfométricas entre novas rainhas e novas operárias.                                                                                    | 38   |
| 3.6. Diferenças comportamentais entre novas rainhas e novas operárias.                                                                                  | 46   |
| 3.7. Oviposições desempenhados pelas novas rainhas.                                                                                                     | 51   |
| 3.8. Rainhas inseminadas realizando funções de operárias.                                                                                               | 53   |
| <b>4. CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÕES</b>                                                                                                             | 55   |
| <b>5. REFERÊNCIAS</b>                                                                                                                                   | 59   |

## **Capítulo 2**

|                                                                               |           |
|-------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| RESUMO                                                                        | 68        |
| ABSTRACT                                                                      | 69        |
| <b>1. INTRODUÇÃO</b>                                                          | <b>70</b> |
| <b>2. MATERIAL E MÉTODOS</b>                                                  | <b>71</b> |
| <b>3. RESULTADOS</b>                                                          | <b>72</b> |
| 3.1. Comportamentos, interações e permanência de jovens machos nas colônias.  | 72        |
| 3.2. Formação de agregação de machos e acasalamento de novas rainhas virgens. | 72        |
| <b>4. DISCUSSÃO</b>                                                           | <b>74</b> |
| <b>5. CONCLUSÕES</b>                                                          | <b>76</b> |
| <b>6. REFERÊNCIAS</b>                                                         | <b>77</b> |

## APRESENTAÇÃO

Nos himenópteros sociais, as sociedades são constituídas principalmente por fêmeas, sendo a maioria de operárias estéreis e um menor número de rainhas, que são as fêmeas com funções reprodutivas. Nas sociedades avançadas, as rainhas geralmente são morfologicamente diferentes e emergem destinadas à reprodução, no entanto, nas sociedades primitivas e mesmo em alguns grupos mais derivados, não ocorrem diferenças morfológicas entre operárias e rainhas, desta forma, uma fêmea emerge sem destino certo, podendo ser uma operária ou rainha, dependendo do contexto social. Este último cenário é verificado na maioria das espécies da subfamília Polistinae (Vespidae), onde os conflitos reprodutivos e o controle reprodutivo são ditos comportamentalmente controlados. A presente tese foi elaborada a partir da necessidade de estudos comportamentais que corroborem ou não o modelo comportamental proposto de controle da reprodução em vespas da tribo Epiponini (Polistinae). Para isso, nós trabalhamos com teste de remoção de rainhas em colônias de *Synoecca surinama*, criando artificialmente as condições onde novas rainhas são produzidas. Esperamos com este estudo entender melhor como a reprodução é controlada e como os conflitos são limitados nesta espécie. Nós dividimos a tese em dois capítulos, pois parte das colônias estavam produzindo machos, desta forma, o primeiro capítulo trata das informações referentes às fêmeas e aos fatores relacionados à produção de um novo grupo de rainhas e o segundo capítulo das informações referentes aos comportamentos de machos e o acasalamento.

### Fatores e Interações Comportamentais Envolvidos na Produção de Novas Rainhas em *Synoeca surinama* (Vespidae; Polistinae: Epiponini)

## RESUMO

A tribo Neotropical Epiponini apresenta espécies com dimorfismo de castas, provavelmente determinadas pré-imaginalmente por diferenças nutricionais das larvas, no entanto, na maioria das espécies não existe dimorfismo rainhas/operárias, sendo as castas determinadas pós-imaginalmente. Nesse caso, estudos sugerem que as castas são determinadas a partir de interações competitivas entre os membros da colônia, sendo o controle reprodutivo baseado em interações comportamentais. Em estudos realizados em *Synoeca surinama*, *Metapolybia aztecoides* e *Parachartergus colobopterus*, espécies que apresentam baixa diferenciação de castas, fêmeas recém-emergidas são suprimidas da reprodução por operárias e rainhas e se tornam operárias, mas se a colônia perde as rainhas, as agressões diminuem e elas se tornam rainhas. Em contraste, não observamos agressões na maioria das colônias de *S. surinama* aqui estudadas e fêmeas recém-emergidas não receberam agressões, porém, após removermos as rainhas, operárias iniciaram as agressões sobre recém-emergidas. Nas colônias sem recém-emergidas, operárias se agrediram, provavelmente por direitos reprodutivos. O grupo de novas rainhas veio das recém-emergidas que se encontravam nas colônias no período crítico de agressões e nas colônias sem emergência, novas rainhas vieram do grupo de operárias que participaram das agressões, como agredidas e agressoras, mostrando que operárias mais velhas também são totipotentes. As agressões sobre recém-emergidas pode ser uma forma de controle coletivo das operárias para evitar a produção de um maior número de novas rainhas que seria ótimo para a colônia. Nós não verificamos nenhuma tendência pré-imaginal morfométrica entre as novas rainhas e novas operárias (operárias da mesma geração que as novas rainhas). Apesar de não realizarmos bioensaios, nós encontramos evidências indiretas que a supressão de fêmeas recém-emergidas e operárias é realizada pelas rainhas por sinalização química: operárias reconheciam rainhas e fêmeas em desenvolvimento ovariano; recém-emergidas não desenvolveram seus ovários na presença de rainhas; novas rainhas foram as fêmeas que mais receberam agressões; operárias mais velhas, não forrageiras, também apresentaram totipotência e não observamos interações entre elas que expliquem a mútua supressão; ausência de desenvolvimento ovariano em fêmeas emergidas após o estabelecimento do novo grupo de rainhas; ocorrência de intermediárias em colônias com baixo número de rainhas. Parece provável que o controle da reprodução e supressão em operárias é realizado pelas rainhas a partir de sinalização química, no entanto, nada é conhecido sobre como as operárias distinguem fêmeas em desenvolvimento ovariano ou sobre o estímulo que desencadeia as agressões contra elas. Muitas hipóteses permanecem para serem demonstradas a respeito da natureza, fonte e ação desses supostos feromônios, se são inibidores ou sinais honestos na supressão de operárias.

## ABSTRACT

The Neotropical tribe Epiponini presents species with caste dimorphism that may be determined pre-imaginally by larval nutritional differences, however, in most species there is no queen/worker dimorphism, being castes determined post-imaginally. In these cases, studies suggest that castes are determined from competitive interactions between the members of the colony, being the reproductive control based on behavioral interactions. In studies conducted in *Synoeca surinama*, *Metapolybia aztecoides* and *Parachartergus colobopterus*, species that present low caste differentiation, newly emerged females are suppressed reproduction by workers and queens and become workers, but if the colony loses all queens, the attacks to decrease and they become queens. These studies, however, are very restricted, with few colonies or a little time of observation. In this work, our studies did not demonstrate that aggressions in most colonies studied and newly emerged females did not received attacks, however, after we remove the queens, workers began the assault on newly emerged females. In the colonies without newly emerged, workers attacked each other, probably by reproductive rights. The group of new queens came from newly emerged who were in the colonies in the critical period of aggression and in the colonies without emergency, new queens came from the group of workers who participated in the assaults, as victims and perpetrators, showing that older workers are also totipotent. The attacks on newly emerged females can be a form of collective control of the workers to avoid the production of a larger number of new queens than it would be great for the colony. We did not see any preimaginal trend based on morphometrics among the new queens and new workers (wasps without ovarian development of the same generation to the new queens). Although we did not perform bioassays, we found indirect evidence that the suppression of newly emerged females and workers is held by queens by chemical signaling: workers recognized queens and females with ovarian development; newly emerged females did not have their ovaries developed in the presence of original queens; new queens were females which received more attacks; older workers, non-foraging, also presented totipotent and we did not observe interactions among them to explain the mutual suppression; absence of ovarian development in females emerged after the establishment of the new group of queens; occurrence of intermediates in colonies with low number of queens. It seems likely that reproduction control and suppression in workers is held by queens by chemical signals, however, nothing is known about how the workers are distinguished from females in ovarian development or about the stimulus that triggers the aggressions against them. Many questions need to be answered about the nature, source and action of these putative pheromones, if are inhibitors or honest signals in the suppression of workers.

## 1. INTRODUÇÃO

Sociedades de insetos estão entre os mais complexos sistemas da natureza. Na ordem Hymenoptera verificamos espécies eussociais nas famílias Apidae (abelhas), Crabronidae (Pemphredoninae: *Microstigmus*), Formicidae (formigas) e Vespidae (marimbondos), tendo a eussocialidade surgido independentemente nestas famílias (Hunt, 1999). Particularmente em Vespidae podemos encontrar diferentes níveis de socialidade, desde grupos com modo de vida solitário na maioria das espécies das subfamílias Euparagiinae, Masarinae e Eumeninae (Cowan, 1991) até grupos eussociais em Stenogastrinae (Turillazzi, 1991), Polistinae e Vespinae (Richards, 1978), sendo um táxon frequentemente usado para testar modelos evolutivos para a origem do comportamento social (West-Eberhard, 1978; Spradbery, 1991).

Segundo a teoria da aptidão inclusiva de Hamilton (1964), as operárias não reprodutivas poderiam ser favorecidas compensando sua perda na reprodução direta pela reprodução indireta, ajudando a criar as filhas de suas parentes rainhas, desta forma, sua aptidão inclusiva seria alta o bastante para manter a sociedade. A teoria também previu potenciais conflitos reprodutivos dentro das sociedades, pois os indivíduos são geneticamente diferentes, tendo consequentemente diferentes interesses reprodutivos (Hamilton, 1964; Ratnieks, 1988; Queller e Strassmann, 1998).

Em muitas sociedades primitivamente eussociais de Polistinae como *Polistes* Latreille, *Mischocyttarus* de Saussure e a maioria das espécies de *Ropalidia* Guérin-Ménéville (Ropalidiini) não existem diferenças morfológicas entre as castas e ninhos são fundados independentemente por um pequeno grupo de fundadoras, onde uma hierarquia de dominância linear é estabelecida a partir de interações agressivas, com a fêmea mais dominante se tornando a principal ou a única a ovipositar no ninho, sendo a dominância reprodutiva baseada em comportamentos agressivos (Spradbery, 1991). Em *Polistes* as interações de dominância são mais frequentes que em *Mischocyttarus* (Spradbery, 1991) e em *Ropalidia* ocorrem poucas interações diretas ou são quase ausentes, sendo que o repertório de dominância neste grupo parece estar entre os mais modestos nos polistíneos (Spradbery, 1991; Kardile e Gadagkar, 2002; Bhadra et al., 2010). Após o estabelecimento da dominância é observada uma redução dos níveis de agressões (West-Eberhard, 1986; Hughes et al., 1987; Sledge e Boscaro 2001), sugerindo que em adição à agressão, a dominância reprodutiva pode ser mantida por sinais químicos (West-Eberhard, 1986; Dapporto et al., 2007; Bhadra et al., 2010), possivelmente por misturas de hidrocarbonetos de secreção do órgão de Van der Vecht (Dapporto et al., 2007) ou produtos da glândula de Dufour (Bhadra et al., 2010). Os fatores de controle endócrino e oogênese não estão

ainda claros, no entanto, somente comportamento de dominância parece insuficiente para manter o controle reprodutivo (Röseler, 1991).

Nos Vespinae, uma única fêmea inseminada funda o ninho independentemente (Greene, 1991) e o controle da reprodução e supressão ovariana em operárias é mediado por feromônios (Spradbery, 1991), tendo um menor gasto de energia em relação ao controle físico, pois evita lutas e consequente perda de força operária (Downing, 1991). Em contraste, nas vespas Polistinae Neotropicais eussociais da tribo Epiponini a colônia é fundada por enxameio, onde rainhas e operárias, em sincronia, emigram do velho para o local do novo ninho, seguindo uma trilha química construída por escoteiras (Jeanne, 1981a; West-Eberhard, 1982; Mateus, 2011). Neste táxon existem evidências que as operárias exercem controle sobre a reprodução (Queller et al., 1993; Hastings et al., 1998; Herman et al., 2000), favorecendo a produção de rainhas em colônias com baixo número de rainhas e a produção de machos em colônias com alto número de rainhas (Queller et al., 1993). Adicionalmente, as operárias favorecem a produção dos machos pelas rainhas à produção de machos por outras operárias, pois são mais relacionadas geneticamente aos filhos das rainhas que aos filhos das outras operárias (Hastings et al., 1998). As atividades das rainhas, em Epiponini, resumem-se a botar ovos e não desempenham nenhuma tarefa na colônia, além de oviposições (Herman et al., 2000), diferente das sociedades menos derivadas de Polistinae, como *Polistes* e *Mischocyttarus*, onde as rainhas ativas controlam a reprodução e as ações das operárias na colônia, utilizando dominância física (Queller et al., 1997; Reeve, 1991; Noll e Wenzel, 2008). Muitos estudos genéticos (Strassmann et al., 1991; Queller et al., 1993; Strassmann et al., 1998; Hastings et al., 1998), demográficos (Strassmann et al., 1991; Strassmann et al., 1992; Strassmann et al., 1997; Strassmann et al., 1998), morfométricos e fisiológicos (Noll e Zucchi, 2000, 2002) em vespas Epiponini suportam o controle das operárias na reprodução e a ocorrência da oligoginia cíclica. Entretanto, estudos comportamentais são escassos, sendo estes de grande importância para a verificação das interações causais da ocorrência dos processos em questão.

Epiponini é conhecida pela impressionante arquitetura de seus ninhos; colônias com muitas rainhas funcionais (poliginia); a ocorrência da oligonia cíclica (West-Eberhard, 1978), que é a diminuição do número de rainhas no decorrer do ciclo colonial; fundação de novas colônias por enxameio; a ocorrência de intermediárias (fêmeas não inseminadas com desenvolvimento ovariano) (Richards e Richards, 1951; Shima et al., 1998; Noda et al., 2003) e por apresentar grande variação de castas morfológicas (Noll e Wenzel, 2008), o que levaram Noll e colaboradores (2004) a propor quatro síndromes de diferenciação de castas: 1) sem castas; 2) castas fisiológicas somente; 3) rainhas maiores que as operárias, mas com a mesma forma; 4) rainhas com formas diferentes, indicando em suas análises que as castas em Epiponini evoluíram

de diferentes formas em diferentes linhagens, uma vez que devem existir diferentes estratégias reprodutivas.

Nas espécies que apresentam castas morfológicas, estas são determinadas pré-imaginalmente, provavelmente por diferenças nutricionais durante o desenvolvimento larval (Hunt et al., 1996; Sakagami et al., 1996) ou mudanças no eixo longitudinal do corpo, devido, provavelmente, a diferentes programações nos parâmetros de desenvolvimento no estágio pré-adulto (Jeanne et al., 1995). No entanto, nas espécies com ausência de dimorfismo rainha/operária, o mais aceito é que as castas provavelmente são determinadas pós-imaginalmente, a partir de interações competitivas entre os membros da colônia, nestas, todas as fêmeas que emergem são potenciais rainhas, se a colônia já possui rainhas essas recém-emergidas são comportamentalmente suprimidas da reprodução por rainhas e operárias e se tornam operárias, mas se a colônia perde todas as suas rainhas elas desenvolvem seus ovários e se tornam rainhas (West-Eberhard, 1978, 1981; Strassmann et al., 2002), sendo a dominância e controle reprodutivo baseado em interações comportamentais, no entanto, pouco é conhecido sobre os conflitos, interações e comportamentos envolvidos. Controle da reprodução por sinalização química também foi sugerido para muitas espécies de Epiponini (Naumann, 1970; West-Eberhard, 1977; Forsyth, 1978; Jeanne, 1980; Spradbery, 1991), embora não comprovado. Em adição, é possível que a comunicação de fertilidade por posturas ritualizadas pelas rainhas possa ser reforçada por sinais químicos (West-Eberhard, 1978; Spradbery, 1991). No entanto, feromônios de rainha com efeito fisiológico na supressão do desenvolvimento ovariano de operárias foram definitivamente identificados somente em *Apis mellifera* Linnaeus (Le Conte e Hefetz, 2008).

Strassmann e colaboradores (2002) verificaram que em colônias de *Parachartergus colobopterus* (Licht) novas rainhas surgem rapidamente após experimento de remoção de rainhas. Esses estudos suportam a ocorrência de determinação de castas pós-imaginal, porém, não mencionam como as novas rainhas são selecionadas e como a supressão é mantida em emergentes em colônias com rainhas e após reposição de rainhas.

Em espécies apresentando dimorfismo rainha/operária, mesmo que as diferenças de tamanho e de formas sejam óbvias, isso não prova que a determinação das castas ocorre no estágio larval ou que os conflitos não são importantes (Strassmann et al., 2002). Diversos fatores podem afetar no dimorfismo entre rainhas e operárias, tais como o ciclo da colônia (Noll e Zucchi, 2002), o tamanho da colônia (Karsai e Wenzel, 1998) e diferenças nutricionais durante o desenvolvimento larval (Hunt et al., 1996), devido à abundância ou escassez de alimento (Strassmann et al., 2002). Se o desenvolvimento larval das rainhas de uma colônia ocorre em um

período de abundância de alimento, provavelmente, elas serão maiores em comparação a um grupo de operárias que eram larvas em um período de escassez de recursos.

A maioria das evidências do controle da reprodução pelas operárias foi sugerida por estudos indiretos, por isso, trabalhando com experimento de remoção de rainhas nas colônias, analisando as interações antes e após a remoção, analisando a composição e estado fisiológico (desenvolvimento ovariano, idade relativa e inseminação) dos membros das colônias e comparando os resultados com morfometria comparativa entre novas rainhas e operárias que emergiram no mesmo período, minimizando assim os efeitos ambientais no dimorfismo das castas, é possível investigar como ocorre a produção de novas rainhas, seja o controle reprodutivo comportamental, químico ou uma combinação de ambos e melhorar o entendimento dos mecanismos sociais que operam na manutenção das sociedades de Epiponini.

O objetivo geral deste trabalho é investigar os fatores envolvidos no processo de produção de novas rainhas em *Synoecca surinama* (Linnaeus), verificando como a reprodução é controlada pelas operárias mais velhas, se for o caso, e como os conflitos são limitados. Como objetivos específicos serão verificados:

- Quais interações e conflitos estão envolvidos no surgimento de novas rainhas e como a supressão de jovens operárias é mantida em colônias com rainhas;
- Se colônias com apenas uma ou algumas rainhas não removidas mantêm a supressão em jovens fêmeas, como sugerido por West-Eberhard (1978, 1981) e Strassmann e colaboradores (2002);
- Qual grupo de vespas se torna rainhas em colônias apresentando emergência de adultos após remoção de rainhas e qual grupo se torna rainhas, se for o caso, em colônias não apresentando emergência de indivíduos;
- Como a supressão ovariana é mantida em fêmeas recém-emergidas após o estabelecimento de um novo grupo de rainhas;
- Se ocorrem diferenças morfométricas ou comportamentais entre os grupos de novas rainhas e operárias que emergiram no mesmo período.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Localidade, períodos de estudo e características gerais dos ninhos

O estudo foi conduzido em propriedades rurais nas proximidades do município de Indaiópolis, Estado de São Paulo, Brasil (19° 59' S; 50° 18' O). Nós manipulamos e observamos, em diferentes épocas do ano e por variados períodos, nove colônias de *S. surinama*, com diferentes características gerais, mas todas as colônias apresentando pupas no favo (Tab. 1).

*Synoeca surinama* é uma espécie de Epiponini de grande porte, com o corpo todo escuro, apresentando uma ligeira iridescência azul metálica. O ninho é do tipo astelocítaro (Richards e Richards, 1951), com seu único favo fixado diretamente ao substrato, coberto por um envelope com típicas corrugações e com a entrada na parte superior (Fig.1). São popularmente conhecidos como “marimbondo tatu” devido ao envelope do ninho ser parecido à couraça de um tatu (*Dasypus* sp.) (Richards, 1978).

Tabela 1. Data do início e término das observações. Tempo em dias investidos nas observações. Tempo entre o final das observações e a coleta das colônias. Altura do ninho com relação ao solo e comprimento dos ninhos estudados de *Synoeca surinama*.

| Colônia | Período das observações | Dias de observações | Coleta da colônia após as observações (dias) | Altura do ninho com relação ao solo (m) | Comprimento do ninho (cm) |
|---------|-------------------------|---------------------|----------------------------------------------|-----------------------------------------|---------------------------|
| A       | 06/02/2010 a 23/02/2010 | 17                  | 0                                            | 2                                       | 50                        |
| B       | 21/03/2010 a 14/04/2010 | 24                  | 82                                           | 3                                       | 30                        |
| C       | 22/03/2010 a 15/04/2010 | 24                  | 50                                           | 4                                       | 60                        |
| D       | 01/04/2012 a 02/05/2012 | 31                  | 0                                            | 6                                       | 85                        |
| E       | 11/04/2012 a 02/05/2012 | 21                  | 0                                            | 3                                       | 50                        |
| F       | 02/06/2012 a 06/07/2012 | 34                  | 0                                            | 5                                       | 30                        |
| G       | 10/09/2012 a 10/10/2012 | 30                  | 0                                            | 3                                       | 50                        |
| H       | 18/11/2012 a 08/12/2012 | 20                  | 0                                            | 3                                       | 30                        |
| I       | 12/01/2013 a 03/02/2013 | 22                  | 0                                            | 2                                       | 30                        |

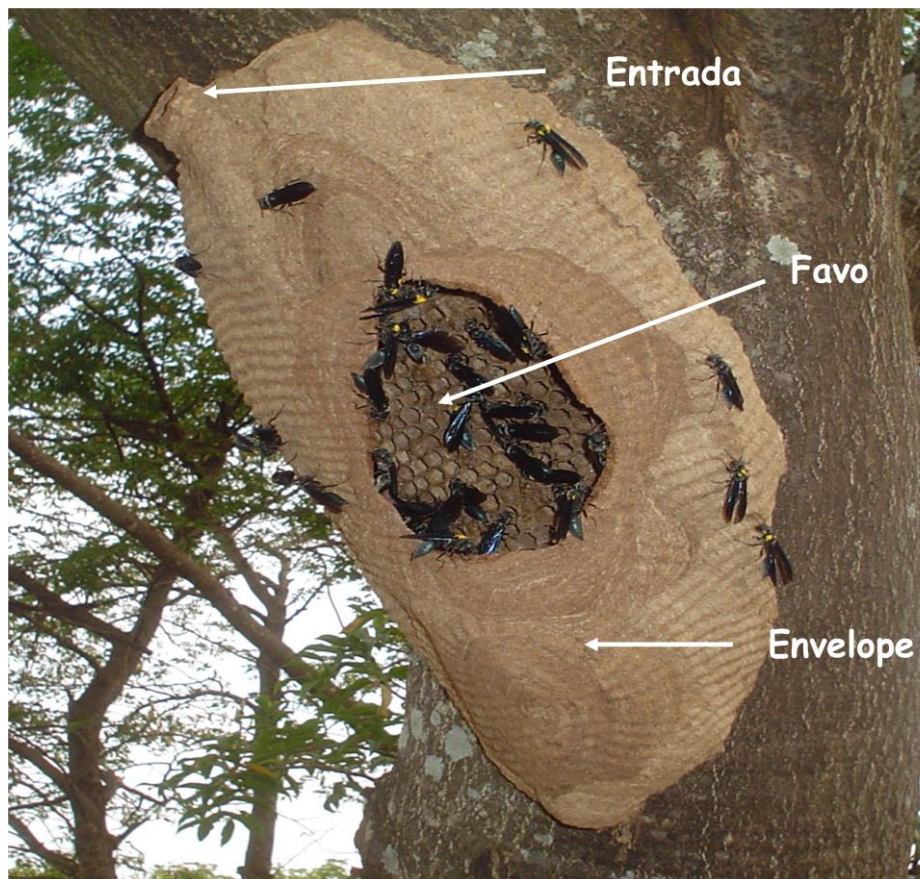


Figura 1. Ninho de *Synoeca surinama*. Setas indicando a entrada, o favo e o envelope do ninho.

## 2.2. Desenho experimental para o teste de remoção de rainhas

Como não existe diferenças morfológicas entre rainhas (fêmeas apresentando ovários desenvolvidos e inseminação) e operárias (fêmeas sem desenvolvimento ovariano) de *S. surinama* (Noll et al., 2004) e rainhas desempenham exclusivamente funções reprodutivas na colônia (Herman et al., 2000), após removermos grande parte do envelope do ninho, para expor o favo e estimular atividade de forrageio e construção, as operárias foram capturadas com pinça e marcadas com tinta de secagem rápida não tóxica, de acordo com as atividades desempenhadas, utilizando um código de cores, no mesoescuto e asas. As rainhas foram capturadas para a marcação quando em posição de postura dos ovos e as recém-emergidas no momento da emergência. Após marcação da maioria das vespas da colônia, nós observamos as colônias a olho nu e a partir de seções diárias (2 a 3 horas) de filmagens por quatro dias (filmadora digital Sony Handycam DCR-SR 85), para levantamento dos comportamentos e

interações entre operárias, rainhas e recém-emergidas. Após este período as rainhas marcadas e todos os indivíduos não marcados foram removidos. Este procedimento potencialmente assegurou que nenhuma rainha permanecesse no ninho e ainda produziu uma amostra de operárias para servir de controle para comparação do nível de desenvolvimento ovariano com as novas rainhas.

Em quatro das nove colônias estudadas algumas rainhas não foram removidas (Tab. 4). Na colônia H, as rainhas não removidas estavam realizando funções de operárias (rainhas operárias) e foram marcadas como operárias. Nas colônias I e G uma e duas das rainhas, respectivamente, não puderam ser removidas e na colônia A, nós removemos 46 rainhas no dia da remoção, mas no terceiro, quarto e quinto dias após remoção, nós removemos mais quatro, 12 e 9 rainhas, respectivamente, ovipondo. Mesmo assim, 9 rainhas não foram removidas até a coleta da colônia, 10 dias após a remoção das rainhas. Este procedimento, apesar de acidental, testou se a presença de uma ou algumas rainhas não removidas foi suficiente para suprimir o desenvolvimento ovariano em fêmeas recém-emergidas ou operárias, como sugerido por West-Eberhard (1978) e Strassmann e colaboradores (2002). Nós procedemos ao teste de remoção de rainhas em três colônias não apresentando emergência, para verificar se operárias mais velhas, desempenhando atividades no ninho (construção ou forrageio) são ou não totipotentes, podendo constituir um novo grupo de rainhas funcionais.

Nos dias subsequentes à remoção das rainhas, todas as vespas que foram vistas sem marca foram capturadas e marcadas como recém-emergidas. A certeza de estar marcando recém-emergidas se deu pelo fato de que, quando soltas, elas não apresentam habilidade de voo, pelo menos em *S. surinama* (observação pessoal). Nós registramos as atividades das vespas marcadas individualmente em seções diárias (duas horas de observação), como construção e forrageio (água, polpa e presa). Seções de filmagens seguiram diariamente para o levantamento das interações relacionadas ao estabelecimento do novo grupo de rainhas. Neste período, amostras de vespas em posição de postura (prováveis novas rainhas) foram coletadas para dissecação (condição ovariana e inseminação). As idades das recém-emergidas marcadas foram definidas em dias (idade absoluta) e dos outros indivíduos foram definidas as idades relativas, a partir do nível de pigmentação progressiva da borda oculta do 5º esternito metassomal (West-Eberhard, 1973). As coletas das colônias para dissecação (condição ovariana, inseminação e idade relativa de toda a colônia) foram realizadas em intervalos diferentes após a remoção das rainhas (Tab. 4), resultando assim em dados mais confiáveis em relação ao padrão de desenvolvimento ovariano e inseminação das novas rainhas. Nós consideramos novas rainhas as vespas que apresentaram

pelo menos um oócito maduro ou quase maduro. Todas as vespas que coletamos foram imediatamente fixadas em etanol 70%.

Duas colônias controle de *S. surinama* foram coletadas e dissecadas para definição da composição, idade relativa e nível de desenvolvimento ovariano nos grupos e usadas neste estudo como controle do desenvolvimento ovariano em operárias. A primeira colônia estava na fase de produção de operárias segundo descrição de Noll e Zucchi (2000) e era composta de aproximadamente 470 operárias, de variáveis idades relativas e 51 rainhas, todas inseminadas com ovários D1 e idade relativa P4 (ver seção 2.5. “Definição dos grupos quanto ao desenvolvimento ovariano e idade relativa”). A segunda estava no início da fase de estabelecimento de um novo ninho e era composta de aproximadamente 262 operárias e 14 rainhas inseminadas com ovários D1 e idade relativa P4. Nestas colônias nenhuma operária apresentou desenvolvimento ovariano, a não ser um muito baixo desenvolvimento (ovários B1) nas fêmeas com baixa pigmentação do 5º esternito metassomal (padrão de pigmentação P1).

### **2.3. Análises comportamentais**

As análises comportamentais foram realizadas a partir dos métodos de amostragem de todas as ocorrências, varredura, animal focal e amostragem por comportamento (“Ad libitum”, “Scan”, “Focal-animal” e “Behavior sampling”, respectivamente, sensu Altmann, 1974). O método de todas as ocorrências foi utilizado para qualificar os comportamentos antes e após a remoção das rainhas, sendo importante na tomada de decisões sobre quais comportamentos quantificar e o uso do melhor método de amostragem em cada caso. Para quantificar e comparar o nível de agressão total na colônia, antes e após a remoção das rainhas, nós utilizamos o método de amostragem por comportamento combinado com varredura (“scan”), com amostras de 5 minutos por varredura, com intervalos de 10 minutos para evitar problemas de dependência (pelo menos 5 amostras por dia).

Durante as amostragens das agressões por varredura, nós registramos os indivíduos agressores e agredidos por suas marcas individuais ou grupais. Nós consideramos comportamentos agressivos aqueles onde a vespa agressora agarrava a agredida com mordidas nas asas, pernas e outras partes do corpo e tentativas de ferroar (Agr), morder o abdome (Mordab) e investidas (Inv), que são comportamentos que levavam as agredidas a recuar, tentar escapar e fugir, correndo ou voando, ou ainda, causavam a eliminação delas do ninho. Os

comportamentos receber “Worker dance” de operárias (Rwd) e curvar o abdome (Curv) não foram considerados agressivos, pois são comportamentos ritualizados relacionados às rainhas (West-Eberhard, 1978) e novas rainhas, sem contato físico direto, além disso, não provocavam a fuga ou eliminação dos indivíduos que recebiam (ver seção 2.6. “Catálogo comportamental” para descrição dos comportamentos). Como na maioria das colônias a população inteira foi marcada individualmente, foi possível quantificar os comportamentos a partir do método de amostragem animal focal. Registramos comportamentos sequencialmente de aproximadamente 10 indivíduos de cada grupo em dias diferentes. As frequências foram corrigidas para produzir escores de frequência/30 minutos e plotadas em gráficos de barras para análise.

O nível de desenvolvimento ovariano foi quantificado a partir da contagem dos oócitos maduros ou quase maduros presentes nas fêmeas. Como os dados apresentaram desvios de normalidade para aplicação de teste de correlação paramétrico, nós usamos o teste de correlação de postos de Spearman para investigar possíveis correlações entre nível de desenvolvimento ovariano e número de rainhas na colônia, desenvolvimento ovariano e idade relativa, bem como presença de intermediárias (fêmeas apresentando desenvolvimento ovariano e ausência de inseminação) (ver Shima et al., 1998; Noda et al., 2003) e número de rainhas originais. Em todas as análises estatísticas, nós aplicamos testes paramétricos quando possível, quando não, aplicamos equivalentes não paramétricos (programas R, Statistica 7.0 e Excel 2007).

#### **2.4. Morfometria comparativa entre rainhas originais, operárias, novas rainhas e novas operárias**

Rainhas originais removidas, operárias, novas rainhas (fêmeas que apresentaram desenvolvimento ovariano após a remoção das rainhas) e novas operárias (operárias que emergiram no mesmo período das novas rainhas) foram comparadas morfometricamente. Seguindo os protocolos estabelecidos por Noll e colaboradores (2004), foram tomadas oito medidas (Fig. 2): Cabeça- largura da cabeça (HW), diâmetro máximo inter-orbital (IDX), diâmetro mínimo inter-orbital (IDm), largura da gena (GW); Mesossoma- comprimento do mesossoma (AL) e largura do mesoescuto (MSW); Metassoma- largura dorsal basal do segundo tergito metassomal (T2BW); Asa- comprimento da primeira célula discal da asa anterior (WL). As medidas obtidas foram transformadas (logaritmo natural) e analisadas estatisticamente segundo One Way ANOVA, com teste *a posteriori* de Tukey, e Análise Discriminante (programas Statistica 7.0). Estas análises investigaram diferenças de castas (entre rainhas e operárias), e se ocorre alguma tendência pré-imaginal na determinação de quais fêmeas se tornam novas rainhas.

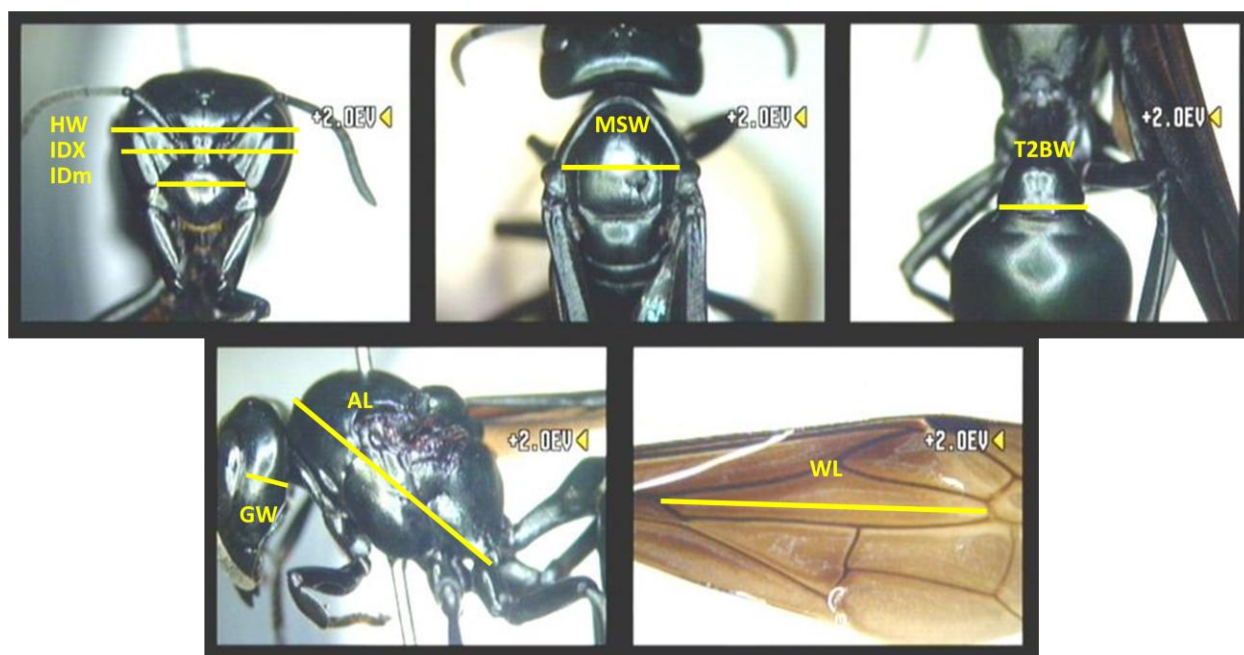


Figura 2. Medidas de oito variáveis morfométricas de rainhas originais removidas, operárias, novas rainhas e novas operárias, usadas na análise morfométrica comparativa. Cabeça- largura da cabeça (HW), diâmetro máximo inter-orbital (IDX), diâmetro mínimo inter-orbital (IDm), largura da gena (GW); Mesossoma- comprimento do mesossoma (AL) e largura do mesoescuto (MSW); Metassoma- largura dorsal basal do segundo tergito metassomal (T2BW); Asa- comprimento da primeira célula discal da asa anterior (WL).

## 2.5. Definição dos grupos quanto ao desenvolvimento ovariano e idade relativa

A partir de uma adaptação da classificação usada por Noda e colaboradores (2003), os seguintes tipos de ovários quanto ao nível de desenvolvimento foram distinguidos; tipo A: ovários com ovários filamentosos sem nenhuma granulação; tipo B1: ovários apresentando granulação, mas sem oócitos jovens; tipo B2: ovários com oócitos jovens; tipo C: apresentando um ou dois oócitos maduros ou quase maduros em cada ovário; tipo D1: ovários bem desenvolvidos, apresentando de três a sete oócitos maduros ou quase maduros em cada; tipo D2: ovários muito desenvolvidos com mais de sete oócitos maduros ou quase maduros em cada (Fig. 3). Os ovários apresentaram oócitos em estágios decrescente de desenvolvimento partindo da base. O comprimento dos ovários foi de 10 a 12 mm para os tipos de A, B1 e B2; de 13 a 14 mm para C e D1, sendo muito mais longos nos ovários tipo D2 (aproximadamente 23 mm).

O tipo ovariano A foi predominantemente encontrado nas operárias mais velhas e o tipo B1 na maioria das fêmeas recém-emergidas e algumas operárias mais jovens (idade relativa P1 e P2, respectivamente; ver a seguir nesta seção). Os tipos ovarianos B2 e C foram encontrados nas intermediárias, que foram as fêmeas não inseminadas apresentando desenvolvimento ovariano

encontradas nas colônias com a presença de rainhas originais. As rainhas originais apresentaram ovários tipos D1 e D2. A verificação da inseminação das fêmeas foi realizada a partir da observação em microscópio de luz da presença (inseminada) ou ausência (não inseminada) do saco de esperma na espermateca.

Foram definidas cinco categorias de idade relativa, de acordo com o nível de pigmentação abaixo de uma linha longitudinal que corta toda a extensão da borda oculta do quinto esternito metassomal, bem como a espessura dessa linha: borda sem pigmentação escura apresentando uma linha longitudinal muito fina e pouco perceptível na parte mediana da borda (P1) para recém-emergidas; borda com pouca pigmentação escura com uma linha fina perceptível em toda sua extensão (P2); borda parcialmente pigmentada, com uma linha grossa nas extremidades e fina na parte mediana (P3); borda parcialmente pigmentada, com uma linha grossa em toda sua extensão (P4); borda totalmente pigmentada, com uma linha muito grossa (P5) para as vespas mais velhas (Fig. 4).

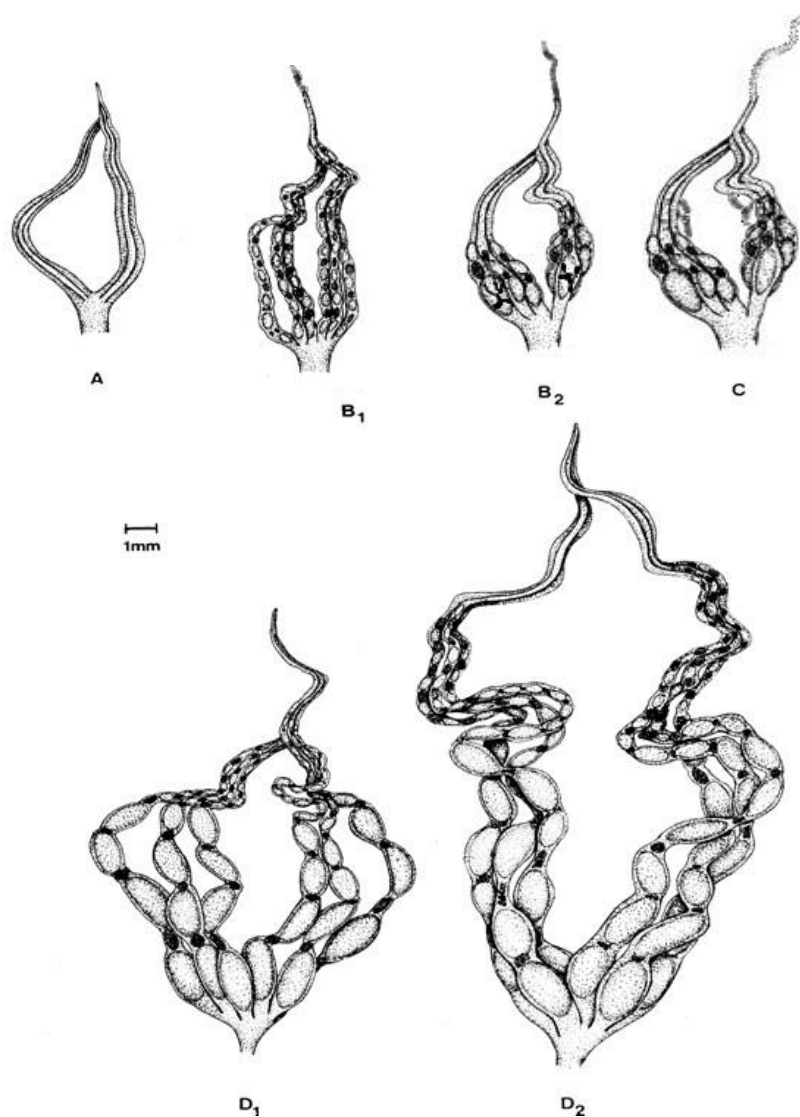


Figura 3. Definição dos tipos de ovários quanto ao nível de desenvolvimento (A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, C, D<sub>1</sub> e D<sub>2</sub>) para fêmeas de *Synoeca surinama*. Modificado de Noda e colaboradores (2003).

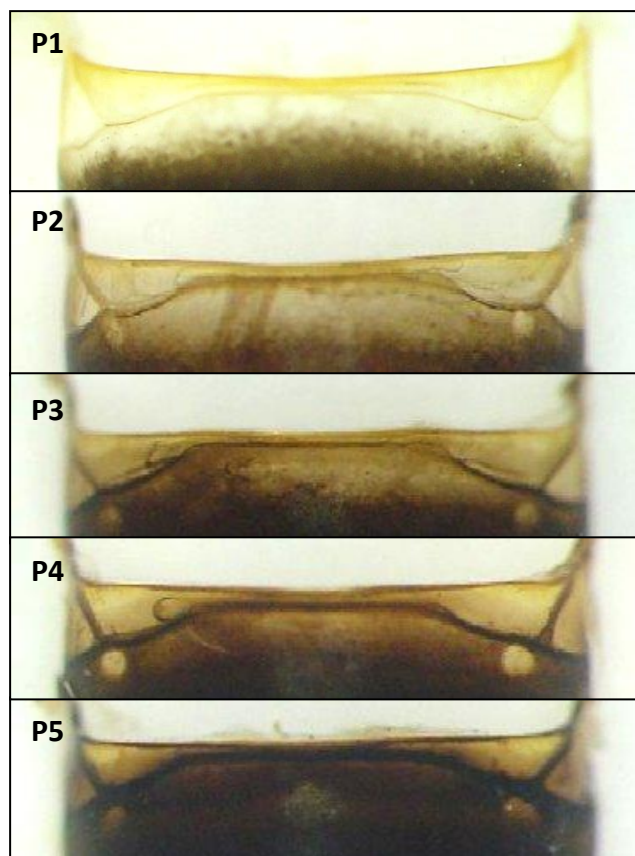


Figura 4. Categorias de idade relativa (de cima para baixo: P1, P2, P3, P4 e P5) definidas para fêmeas de *Synoeca surinama*.

## 2.6. Catálogo comportamental

A partir das observações a olho nu e filmagens nós geramos um catálogo comportamental de *S. surinama* usado no estudo. As descrições dos diferentes atos comportamentais do catálogo se seguem:

1. Inspeção de célula (IC): Operária, rainha ou macho inserem a cabeça em células quando caminham no favo.
2. Umedecer opérculo (Uop): Operária regurgita água no opérculo (tampão das pupas) quando a luz solar incide sobre o favo, controlando a temperatura.
3. Revestir opérculo (Rop): operária adiciona polpa sobre o opérculo.

4. Aumentar célula (Acel): Operária adiciona polpa nas paredes da célula para aumentar sua altura.
5. Construir (Const): Operária adiciona polpa nas bordas do envelope, modelando com as mandíbulas.
6. Receber polpa (Rpol): Operária recebe polpa macerada ou não de outra operária.
7. Macerar polpa (Mpol): Operária recebe polpa e adiciona saliva e água trabalhando a polpa com as mandíbulas e pernas anteriores.
8. Dividir polpa (Dpol): Operária forrageira ou não divide parte ou toda a polpa que carrega com outra operária.
9. Forragear (For): Operária sai do ninho voando e algum tempo depois volta com uma carga líquida, polpa vegetal para construção e reparo do ninho ou presa. A forrageira que pousa no ninho com carga líquida comumente procura imediatamente uma companheira ou é solicitada por uma, onde ela expõe uma gota passando a carga líquida por trofalaxia para uma ou mais companheiras.
10. Autolimpeza (Limp): Na limpeza de cabeça e mesossoma a operária, rainha ou macho passa as pernas anteriores no mesossoma, base da asa, cabeça, antenas e entre as mandíbulas, logo após, passa contra as pernas médias. Para a limpeza do metassoma e asas, ela usa as pernas posteriores e depois limpa as pernas atritando umas contra as outras e também com as pernas médias.
11. Limpeza social (Limpso): Operária limpa outra operária, rainha ou macho, mordiscando seus corpos.
12. Solicitar (Sol): Operária, rainha ou macho caminha em direção a outro indivíduo com as mandíbulas abertas e glossa exposta, solicitando recursos.
13. Receber solicitação (Rsol): Operária, rainha ou macho rebebe solicitação de recursos de outros indivíduos.
14. Trofalaxia (Tro): Contato bucal entre dois indivíduos, onde ocorre fluxo de recurso alimentar ou água.
15. Antenação (Ant): Um indivíduo agita suas antenas de cima para baixo sobre a cabeça de outro indivíduo. O comportamento pode ser recíproco ou não. Rainhas raramente são vistas antenando.

16. Receber antenação (Rant): Um indivíduo recebe antenação de outro.
17. Ventilação (Vent): Operária ou macho eleva a cabeça e mesossoma sobre as pernas médias e posteriores e agita as asas continuamente por alguns segundos ou mais de um minuto, o que contribui para o controle da temperatura no ninho. É mais frequente nos períodos mais quentes do dia.
18. Curvar o abdome (Curv): “Bending display” sensu West-Eberhad, 1978. Rainha curva o abdome lateralmente para outras rainhas ou operárias.
19. Receber curvar o abdome (Rcurv): Operária ou rainha recebe curvar o abdome de rainha.
20. “Worker dance” sensu West-Eberhard, 1978 (Wd): Operária investe em rainha com as mandíbulas abertas e com o corpo e antenas vibrando. Parece um tipo de forte solicitação.
21. Receber “Worker dance” (Rwd): Rainha recebe “Worker dance” de operária.
22. Solicitação agressiva (Solagr): Operária solicita agressivamente, parecendo morder outro indivíduo, geralmente rainhas em episódios de eliminação de rainhas, machos, recém-emergidas ou outras operárias após remoção de rainhas. Geralmente precede agressão.
23. Receber solicitação agressiva (Rsolagr): Um indivíduo recebe solicitação agressiva de operária.
24. Agressão (Agr): Um ou mais indivíduos agarram e mordem pernas, asas e outras partes do corpo de outro indivíduo. Geralmente as operárias foram as agressoras e as agredidas foram rainhas, recém-emergidas ou outras operárias após remoção de rainhas.
25. Receber agressão (Ragr): Um indivíduo recebe agressão de outro indivíduo.
26. Mordiscar abdome (Mordab): Um indivíduo mordisca o abdome de outro. Geralmente operárias desempenharam esse comportamento em recém-emergidas ou operárias após a remoção de rainhas, mas observamos operárias mordicando o abdome de rainhas em episódios de eliminação de rainhas. Novas rainhas também foram vistas desempenhando esse comportamento em outras novas rainhas no estabelecimento do novo grupo de rainhas em colônias não apresentando emergência e que foram submetidas ao teste de remoção de rainhas. Provavelmente está relacionado ao reconhecimento do *Status* ovariano nestas fêmeas.
27. Receber mordiscar abdome (Rmordab): Um indivíduo recebe mordiscar abdome de outro.

28. Investir (Inv): Operária caminha rapidamente em direção a outro indivíduo (rainha, recém-emergida, operária ou macho), parecendo morder ou tocar, no entanto, não ocorre agressão.
29. Receber investida (Rinv): Um indivíduo recebe investida de operária.
30. Rápida vibração (Rav): Operária levanta e abaixa o corpo rapidamente e repetidamente, com o abdome curvado para baixo, batendo no substrato a cada repetição. Cada movimento é acompanhado de forte agitação das asas. Os movimentos são rápidos, breves e repetitivos. Foi frequentemente observado sobre rainhas ou recém-emergidas, após a remoção de rainhas, quando estas caminhavam no favo e passavam próximo às operárias.
31. Receber rápida vibração (Rrav): Quando rainha ou recém-emergidas recebe rápida vibração de operária.
32. Recuar ou desviar (Recuar): Quando rainhas, recém-emergidas ou operárias após remoção das rainhas recuam, desviam ou recuam quando recebem “Worker dance”, mordiscar abdome ou investidas.
33. Postura do ovo (Ov): Geralmente após inspecionar várias vezes a mesma célula, a rainha introduz seu abdome na célula, ficando com o mesossoma para fora e com as asas semiabertas, então ovipõe.
34. Lamber o ovo (Lamb): A rainha, após a postura do ovo, introduz sua cabeça na célula e toca o ovo com antenas e aparelho bucal.
35. Vigilância do ovo (Vig): A rainha após lambear o ovo, permanece com a cabeça na entrada da célula de postura por tempo variável, não permitindo assim, que outra vespa introduza sua cabeça na célula. Em vigilância a rainha pode introduzir novamente a cabeça dentro da célula e lambear o ovo novamente.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. *Composição original e características reprodutivas das colônias antes da remoção das rainhas*

Procedendo ao teste de remoção de rainhas nós removemos um número variável de rainhas, juntamente com um grupo de operárias nas nove colônias estudadas. A partir da dissecação desses indivíduos, nós verificamos uma significativa correlação entre dados demográficos e desenvolvimento ovariano (Tab. 2). O número médio de oócitos maduros ou quase maduros por rainha foi negativamente correlacionado com o número de rainhas presentes na colônia (Correlação de Spearman  $r_s = -0,73$ ;  $N=9$ ;  $p=0,03$ ), tendo uma mais significativa correlação quando usamos a razão entre o número de rainhas e o número de operárias (Correlação de Spearman  $r_s = -0,85$ ;  $N=9$ ;  $p=0,006$ ). Esses resultados mostraram que rainhas, em nossas colônias oligogínicas, apresentaram ovários mais bem desenvolvidos que nas colônias poligínicas. Essa mesma tendência foi encontrada em outras espécies de Epiponini, como *Polybia emaciata* Lucas (Strassmann et al., 1992), *P. colobopterus* (Strassmann et al., 2002), *Synoeca cyanea* (Fabricius) (Noda et al., 2003), *Asteloeca ujhelyii* (Ducke) (Nascimento et al., 2004) e espécies de outros gêneros (Noll e Zucchi, 2000, 2002), sugerindo que o maior desenvolvimento ovariano em rainhas de colônias oligogínicas é o resultado da maior taxa de oviposição por rainha, necessária para suprir a necessidade da colônia por ovos, visto que a taxa oviposição nas colônias parece ser independente do número de rainhas presentes (Jeanne, 1991) e nas vespas sociais, a persistente oviposição leva ao desenvolvimento ovariano (Pardi, 1948). Ainda, em *A. ujhelyii* o número de oócitos por rainha correlacionou positivamente com a idade (Nascimento et al., 2004), em contraste, em *S. surinama* não ocorreu correlação (Correlação de Spearman  $r_s = 0,31$ ;  $N=9$ ;  $p=0,4$ ), mostrando que em colônias com um menor grupo de rainhas jovens e baixa razão rainhas/operárias os ovários são mais desenvolvidos que em colônias com maior grupo de rainhas mais velhas e maior razão rainhas/operárias (Tab. 2).

Nas amostras de operárias removidas juntamente com as rainhas originais verificamos que nas colônias C, D, E e I algumas fêmeas jovens (a maioria com idade relativa P2), na presença de rainhas originais, apresentaram desenvolvimento ovariano (ovários B2 e C), mas sem inseminação, sendo consideradas intermediárias (Richards, 1971; Noda et al., 2003) (Tab. 3). O número de intermediárias foi correlacionado negativamente com o número de rainhas

presentes (Correlação de Spearman  $r_s = -0,84$ ;  $N=9$ ;  $p=0,004$ ) e mais significativamente com a razão rainhas/operárias na colônia (Correlação de Spearman  $r_s = -0,89$ ;  $N=9$ ;  $p=0,001$ ). Sendo assim, a presença delas parece estar relacionada ao baixo número de rainhas, em colônias próximas da produção de um novo grupo de rainhas.

A maioria das operárias recém-emergidas apresentaram ligeiro desenvolvimento ovariano (ovário B1) e com o passar do tempo os ovários regridem até ficarem totalmente filamentosos nas mais velhas (ovário A). Somadas as amostras de operárias removidas com as rainhas, nas colônias D e E, 134 das 151 operárias com idade relativa P1 (88,7%), apresentaram baixo desenvolvimento ovariano (ovário B1 em sua maioria), enquanto somente 15 das 46 com idade relativa P2 (32,6%) apresentaram ( $\chi^2 = 57,27$ ;  $gl=1$ ;  $p<0,0001$ ). Comparando as operárias de idade relativa P1 e P2 somadas (operárias jovens) com as P3, P4 e P5 (operárias mais velhas), as diferenças foram mais altamente significativas ( $\chi^2 = 164,65$ ;  $gl=1$ ;  $p<0,0001$ ), pois somente uma operária entre 122 apresentou ovário B1 no grupo das mais velhas, sendo filamentoso nas demais, sem nenhum desenvolvimento ovariano (ovário A). Em muitas outras espécies de Epiponini, recém-emergidas também apresentam ligeiro desenvolvimento ovariano (ver West-Eberhard, 1978; Noll e Zucchi, 2002), inclusive em vespas primitivamente eussociais como *Polistes* (Pardi, 1948) e *Mischocyttarus* (Jeanne, 1972), que evidencia uma possível totipotência em espécies sem um claro dimorfismo de castas.

Tabela 2. Composição de adultos e imaturos das colônias no início das observações, a média de oócitos por rainha e a fase do ciclo, segundo Noll e Zucchi (2000), em que se encontravam as colônias estudada de *Synoecca surinama*.

| Colônia | Número de rainhas originais | Oócitos/rainha (Média±DP) | Idade relativa (rainhas) | Operárias | Ovos % | Larvas % | Pupas % | Células vazias % | Fase do ciclo      |
|---------|-----------------------------|---------------------------|--------------------------|-----------|--------|----------|---------|------------------|--------------------|
| A       | 80                          | 11,04±2,03                | P4                       | 650       | 40     | 5        | 40      | 15               | Prod. de operárias |
| B       | 29                          | 8,6±0,56                  | P3                       | 145       | 50     | 5        | 12      | 33               | Pré-emergência     |
| C       | 3                           | 25±1                      | P4                       | 600       | 60     | 3        | 8       | 29               | Prod de operárias  |
| D       | 15                          | 21±5,4                    | P3                       | 1374      | 15     | 10       | 70      | 5                | Produção de machos |
| E       | 18                          | 24,88±3,9                 | P3                       | 812       | 40     | 2        | 50      | 8                | Produção de machos |
| F       | 55                          | 8,8±2,26                  | P3                       | 234       | 15     | 5        | 75      | 5                | Pré-emergência     |
| G       | 28                          | 16,42±2,3                 | P3                       | 571       | 30     | 10       | 50      | 10               | Produção de machos |
| H       | 49                          | 9,02±1,71                 | P2                       | 173       | 3      | 84       | 10      | 3                | Pré-emergência     |
| I       | 5                           | 14,6±0,54                 | P4                       | 327       | 25     | 40       | 30      | 5                | Pré-emergência     |

Tabela 3. Número de rainhas, intermediárias (ovários B2 e C) e operárias removidas nas colônias de *Synoecca surinama* quanto ao desenvolvimento ovariano e categoria de idade relativa.

| Colônia | Grupo     | Tipo de ovário |    |    |   |    |    | Idade relativa |    |    |    |    |
|---------|-----------|----------------|----|----|---|----|----|----------------|----|----|----|----|
|         |           | A              | B1 | B2 | C | D1 | D2 | P1             | P2 | P3 | P4 | P5 |
| A       | Rainhas   | -              | -  | -  | 5 | 41 | -  | -              | -  | 15 | 31 | -  |
|         | Operárias | 9              | 13 | -  | - | -  | -  | 9              | 8  | -  | 5  | -  |
| B       | Rainhas   | -              | -  | -  | - | 20 | -  | -              | -  | 14 | 6  | -  |
|         | Operárias | 4              | -  | -  | - | -  | -  | -              | -  | 2  | 2  | -  |
| C       | Rainhas   | -              | -  | -  | - | -  | 3  | -              | -  | -  | 3  | -  |
|         | Operárias | 32             | 9  | 6  | 2 | -  | -  | 5              | 7  | 31 | 6  | -  |
| D       | Rainhas   | -              | -  | -  | - | -  | 15 | -              | -  | 15 | -  | -  |
|         | Operárias | 119            | 98 | 3  | 7 | -  | -  | 107            | 26 | 17 | 42 | 35 |
| E       | Rainhas   | -              | -  | -  | - | -  | 18 | -              | -  | 18 | -  | -  |
|         | Operárias | 30             | 54 | 1  | 1 | -  | -  | 52             | 6  | 9  | 10 | 9  |
| F       | Rainhas   | -              | -  | -  | - | 55 | -  | -              | -  | 53 | 2  | -  |
|         | Operárias | 28             | 2  | -  | - | -  | -  | 2              | -  | 7  | 7  | 14 |
| G       | Rainhas   | -              | -  | -  | - | -  | 26 | -              | -  | 26 | -  | -  |
|         | Operárias | 87             | -  | -  | - | -  | -  | -              | -  | 23 | 63 | 1  |
| H       | Rainhas   | -              | -  | -  | - | 46 | -  | -              | 29 | 17 | -  | -  |
|         | Operárias | 15             | 2  | -  | - | -  | -  | 5              | -  | 3  | 7  | 2  |
| I       | Rainhas   | -              | -  | -  | - | -  | 4  | -              | -  | -  | 4  | -  |
|         | Operárias | 42             | 9  | 2  | - | -  | -  | -              | 7  | 8  | 24 | 15 |

### **3.2. Comportamentos e interações das rainhas originais com operárias antes do teste de remoção de rainhas**

As rainhas de *S. surinama* foram distinguíveis das operárias por apresentarem diferenças comportamentais. Caminhavam mais lentamente comparadas às operárias; recebiam “Worker dance” (Rwd) de operárias; foram as únicas vespas a realizarem oviposições; geralmente curvavam o abdome (Curv) para, principalmente, operárias que se aproximavam (Fig. 5) e permaneciam a maior parte do tempo nas periferias do ninho (entre o favo e a parede interna do envelope), agrupadas juntamente com outras rainhas e jovens recém-emergidos, saindo raramente do ninho em voos nas proximidades. Entre rainhas de todas as colônias não ocorreram antenações (Ant) ou trofalaxias (Tro), mas, nas colônias B e E, geralmente quando caminhavam no favo e passavam lado a lado, elas ficavam mais lentas e abriam parcialmente as asas em “V”, curvando o abdome (Curv). Nas outras colônias nenhuma interação ocorreu no encontro entre rainhas.

Nós manipulamos as colônias para marcação e observação (direta e filmagens) por mais de uma semana antes de procedermos à remoção das rainhas. Neste período não observamos nenhuma agressividade nas colônias, exceto na colônia B, onde ocorreu um episódio de eliminação de rainhas, relacionado ao processo de oligoginia cíclica (West-Eberhard, 1978), que é a diminuição do número de rainhas no decorrer do ciclo, antes da produção de novas fêmeas reprodutivas, mantendo assim altos os níveis de relacionamento genético intra-colonial verificados nas espécies de Epiponini (Queller et al., 1993; Hastings et al., 1998; Strassmann et al., 1998). Neste episódio de eliminação, as rainhas ocasionalmente recebiam mordiscar o abdome (Rmordab) de operárias antes de serem agarradas e agredidas com mordidas e tentativa de ferroadas por uma, duas ou mais operárias, até serem expulsas do ninho. Quando voltavam eram novamente agredidas. Não observamos agressões entre rainhas e não observamos nenhum teste de dominância antes das operárias iniciarem as agressões, como sugerido por West-Eberhard (1978), pois as rainhas geralmente eram imediatamente agredidas, principalmente quando retornavam ao ninho após expulsão, sugerindo que elas eram reconhecidas quimicamente. As outras rainhas permaneciam agrupadas muito próximo umas das outras em um único grupo, mostrando um padrão comportamental conspícuo, com as asas semiabertas (asas em “V”) e frequentemente curvavam o abdome umas para as outras e também para as operárias que se aproximavam, provavelmente em uma postura dominante para evitar agressões. Das 29 rainhas existentes na colônia, 9 foram expulsas e não foram mais vistas e 6 foram coletadas

quando recebiam fortes agressões. Comparando o número de oócitos maduros e quase maduros dessas 6 rainhas agredidas (média=8,33) com as 14 rainhas que permaneceram no ninho até o teste de remoção (média=8,71), não encontramos nenhuma diferença significativa ( $t = -0,48$ ;  $gl=18$ ;  $p=0,63$ ), sugerindo que a seleção de rainhas não dependeu do nível de desenvolvimento ovariano. Nós observamos outros dois episódios de eliminação de rainhas em outras duas colônias na fase de estabelecimento (observação pessoal). West-Eberhard (1978) observou similares episódios de eliminação de rainhas em *Metapolybia aztecoides*, onde a frequência de “Worker dance” de operárias em rainhas aumentou nestes períodos. Em contraste, as rainhas da colônia B, que passaram pelo episódio de eliminação, foram as que menos receberam “Worker dance” de operárias (Fig. 5), talvez por ficarem agrupadas em postura de defesa, no entanto, foi a colônia que as rainhas apresentaram maior frequência de curvar o abdome (Curv) (Fig. 5).

Em *Parachartergus fraternus* (Gribodo), Mateus (2005) também observou episódios de eliminação de rainhas por agressões de operárias em duas colônias, principalmente na fase de estabelecimento, no entanto, ele observou gradual eliminação de rainhas no decorrer do ciclo 78 dias após o estabelecimento em outra colônia em que não foram observadas agressões no estabelecimento. As agressões foram realizadas sem testes prévios de operárias (Mateus, 2005), semelhante ao observado em *S. surinama*, o que difere dos resultados observados por West-Eberhard (1978), que observou operárias e rainhas testando rainhas antes de agredir e expulsar as que respondiam submissivamente. Em *A. ujhelyii* (Nascimento et al., 2004), *Metapolybia miltoni* (Andena e Carpenter) e *Chartergellus golfitensis* West-Eberhard (Chavarría, 2013) foi verificado a diminuição do número de rainhas nas colônias no decorrer do ciclo, no entanto, não foram observadas interações agonísticas, como mordidas, tentativas de agarrar e ferroar, que provocavam claras eliminações. Além disso, Nascimento e colaboradores (2004) sugeriram que rainhas são eliminadas por outras rainhas em conflitos de dominância não agonísticos, mostrando que podem existir diferentes estratégias na forma como as rainhas são eliminadas no decorrer do ciclo das colônias.

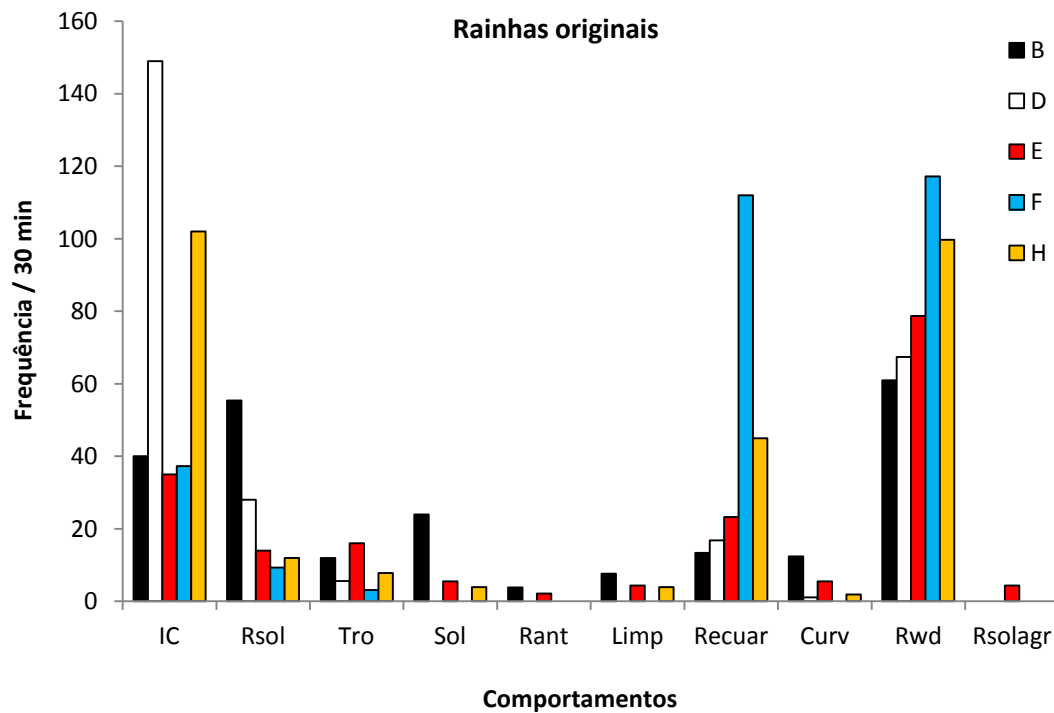


Figura 5. Frequência dos atos comportamentais das rainhas originais das colônias B, D, E, F E H de *Synoecca surinama* observadas antes do teste de remoção de rainhas (IC= inspeção de célula, Rsol= receber solicitação, Tro= trofalaxia, Sol= solicitar, Rant= receber antenação, Limp= autolimpeza, Recuar= recuar ou desviar, Curv= curvar o abdome, Rwd= receber “Worker dance” de operárias, Rsolagr= receber solicitação agressiva).

### 3.3. A totipotência das fêmeas e os fatores envolvidos no estabelecimento dos grupos de novas rainhas nas colônias após o teste de remoção das rainhas

Em todas as colônias ocorreu o estabelecimento de um novo grupo de rainhas (Tab. 4 e 5), ou seja, uma parcela da colônia (proporção média=0,12±0,04) apresentou desenvolvimento ovariano, que foi maior que das intermediárias encontradas nas colônias C, D, E e I (Teste U de Mann-Whitney,  $p < 0,0001$ ), comparando o número de oócitos maduros e quase maduros das novas rainhas e intermediárias somente nas colônias que apresentaram intermediárias. No entanto, o nível de desenvolvimento ovariano foi maior nas colônias onde todas as rainhas foram removidas, sendo o nível de desenvolvimento ovariano correlacionado negativamente com o número de rainhas não removidas (Correlação de Spearman  $r_s = -0,85$ ;  $N=9$ ;  $p=0,003$ ). O intervalo em dias entre o teste de remoção e a coleta da colônia não correlacionou com o nível de

desenvolvimento ovariano em novas rainhas (Correlação de Spearman  $r_s=0,55$ ;  $N=9$ ;  $p=0,13$ ), indicando que o número de rainhas não removidas foi a variável mais importante no nível de desenvolvimento ovariano apresentado pelas novas rainhas (Tab. 4).

Tabela 4. Tempo em dias entre a remoção de rainhas e coleta das colônias, número de rainhas removidas e não removidas, número de operárias e novas rainhas presentes na coleta da colônia, número de oócitos desenvolvidos, idade relativa e inseminação das novas rainhas e presença de emergência de machos nas colônias de *Synoecca surinama* submetidas ao teste de remoção de rainhas.

| Colônia | Intervalo entre a remoção das rainhas e a coleta das colônias (dias) | Número de rainhas removidas | Número de rainhas não removidas | Operárias presentes na coleta | Novas rainhas | Oócitos/nova rainha (Média±DP) | Idade relativa (novas rainhas) | Novas rainhas inseminadas (%) | Emergência de machos após remoção de rainhas |
|---------|----------------------------------------------------------------------|-----------------------------|---------------------------------|-------------------------------|---------------|--------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|----------------------------------------------|
| A       | 10                                                                   | 46                          | 34                              | 267                           | 51            | 0,15±0,64                      | P2                             | 0                             | não                                          |
| B       | 97                                                                   | 20                          | 0                               | 68                            | 12            | 9±2,45                         | P4                             | 100                           | não                                          |
| C       | 64                                                                   | 3                           | 0                               | 179                           | 39            | 11±1,58                        | P3-P4                          | 79,5                          | não                                          |
| D       | 25                                                                   | 15                          | 0                               | 844                           | 84            | 8,77±2,49                      | P3                             | 47,6                          | sim                                          |
| E       | 12                                                                   | 18                          | 0                               | 526                           | 56            | 9,6±3,87                       | P1-P2                          | 0                             | sim                                          |
| F       | 21                                                                   | 55                          | 0                               | 220                           | 42            | 7,69±2,59                      | P2                             | 0                             | não                                          |
| G       | 23                                                                   | 26                          | 2                               | 656                           | 38            | 2,47±1,76                      | P2                             | 0                             | sim                                          |
| H       | 13                                                                   | 46                          | 3                               | 113                           | 9             | 2,44±1,66                      | P3                             | 0                             | não                                          |
| I       | 15                                                                   | 4                           | 1                               | 78                            | 15            | 7,73±4,43                      | P3-P4                          | 0                             | não                                          |

Tabela 5. Número de fêmeas de *Synoecca surinama* quanto ao desenvolvimento ovariano e categoria de idade relativa após a remoção das rainhas.

| Colônia  | Grupo         | Tipo de ovário |     |    |    |    |    | Categoria de idade relativa |     |     |     |     |
|----------|---------------|----------------|-----|----|----|----|----|-----------------------------|-----|-----|-----|-----|
|          |               | A              | B1  | B2 | C  | D1 | D2 | P1                          | P2  | P3  | P4  | P5  |
| <b>A</b> | Novas rainhas | -              | -   | -  | 3  | -  | -  | -                           | 3   | -   | -   | -   |
|          | Operárias     | 212            | 7   | 48 | -  | -  | -  | 47                          | 10  | 31  | 54  | 125 |
| <b>B</b> | Novas rainhas | -              | -   | -  | 1  | 11 | -  | -                           | -   | 1   | 11  | -   |
|          | Operárias     | 32             | 14  | 22 | -  | -  | -  | 27                          | 13  | 4   | 5   | 19  |
| <b>C</b> | Novas rainhas | -              | -   | -  | 1  | 38 | -  | -                           | -   | 29  | 10  | -   |
|          | Operárias     | 172            | 4   | 3  | -  | -  | -  | -                           | 1   | 9   | 78  | 91  |
| <b>D</b> | Novas rainhas | -              | -   | -  | 5  | 83 | -  | -                           | 3   | 85  | -   | -   |
|          | Operárias     | 757            | 83  | 4  | -  | -  | -  | 130                         | 99  | 379 | 206 | 30  |
| <b>E</b> | Novas rainhas | -              | -   | -  | 20 | 36 | -  | 30                          | 19  | 7   | -   | -   |
|          | Operárias     | 409            | 83  | 34 | -  | -  | -  | 129                         | 24  | 167 | 161 | 45  |
| <b>F</b> | Novas rainhas | -              | -   | -  | 8  | 34 | -  | -                           | 37  | 5   | -   | -   |
|          | Operárias     | 179            | 40  | 1  | -  | -  | -  | 70                          | 24  | 11  | 50  | 65  |
| <b>G</b> | Novas rainhas | -              | -   | -  | 22 | 16 | -  | 4                           | 25  | 9   | -   | -   |
|          | Operárias     | 352            | 297 | 7  | -  | -  | -  | 201                         | 122 | 140 | 187 | 6   |
| <b>H</b> | Novas rainhas | -              | -   | -  | 9  | -  | -  | -                           | 1   | 7   | 1   | -   |
|          | Operárias     | 94             | 12  | 7  | -  | -  | -  | -                           | -   | 20  | 73  | 20  |
| <b>I</b> | Novas rainhas | -              | -   | -  | 5  | 10 | -  | -                           | -   | 6   | 9   | -   |
|          | Operárias     | 58             | 15  | 5  | -  | -  | -  | -                           | -   | 14  | 37  | 27  |

As fêmeas que se estabeleceram como novas rainhas nas colônias que apresentavam emergência de fêmeas no período do experimento de remoção das rainhas (colônias A, C, D, E, F e G) vieram do grupo das recém-emergidas ou de fêmeas que emergiram logo após o teste de remoção de rainhas. Nas colônias que não havia fêmeas emergindo (colônias B, H e I), novas rainhas vieram do grupo das operárias mais jovens presentes nas colônias. Uma exceção ocorreu na colônia I, onde a maioria das fêmeas que desenvolveu os ovários foram as de idade relativa P4, sendo que havia muitas de idade relativa P3 que não desenvolveram. Em nossos registros de atividades diárias de construção e forrageio, nenhuma operária desempenhando atividade de forrageio apresentou qualquer desenvolvimento ovariano (ovário A). Para não enviesar os resultados das análises, na colônia A as fêmeas recém-emergidas que desenvolveram ovários tipo B2 foram consideradas novas rainhas (Tab. 4 e 5), pois quase a metade das rainhas originais não foram removidas nesta colônia e o intervalo de tempo entre a remoção das rainhas e a coleta da colônia foi de apenas 10 dias.

Os resultados são consistentes com a totipotência de fêmeas recém-emergidas, que podem desenvolver seus ovários na ausência de rainhas na colônia (West-Eberhard, 1978, 1981; Strassmann et al., 2002) e ampliamos o conhecimento mostrando que a flexibilidade de castas em espécies sem dimorfismo rainha/operária é mais plástica do que anteriormente pensado, pois, operárias mais velhas, realizando tarefas no ninho, exceto forrageio, também são totipotentes e podem formar um novo grupo de rainhas funcionais na ausência de fêmeas recém-emergidas. Na colônia B, por exemplo, o grupo de novas rainhas que substituíram as rainhas removidas era de operárias desempenhando tarefas no ninho, no entanto, essas novas rainhas foram todas inseminadas e produziram pelo menos uma geração de operárias no período entre a remoção das rainhas e a coleta da colônia (97 dias). Similares resultados foram obtidos recentemente por Kelstrup (2012) e Chavarría (2013), parecendo existir um consenso que operárias mais velhas também podem desenvolver os ovários e substituírem o grupo de rainhas originais. De fato, em muitas espécies, incluindo *S. surinama*, recém-emergidas apresentam ligeiro desenvolvimento ovariano (West-Eberhard, 1978; Noll e Zucchi, 2002) e esta pode ser a provável causa delas serem prioritariamente as substitutas das rainhas.

Como ocorre uma redução no número de rainhas no decorrer do ciclo (oligoginia cíclica) nas colônias de vespas da tribo Epiponini (West-Eberhard, 1978; Strassmann et al., 1998; Hastings et al., 1998) e a produção de novos ninhos (enxameio) não está ligada a produção de novas rainhas (Strassmann et al., 1998), em termos adaptativos, no caso de um enxameio de fuga, por exemplo, uma colônia com número reduzido de rainhas ou mesmo sem rainhas (Strassmann et al., 1998), terá uma chance de produzir um novo grupo de rainhas e evitar o

declínio, visto que o estabelecimento de um novo grupo de rainhas é rápido, pois em *S. surinama*, nós observamos novas rainhas com desenvolvimento ovariano compatível com rainhas originais em apenas 12 dias após a remoção das rainhas (colônia E) e oviposições de novas rainhas a partir de 11 dias após a remoção (colônia D). Em *P. colobopterus* uma semana após a remoção das rainhas, a colônia apresentou fêmeas jovens com oócitos maduros (Strassmann et al., 2002).

Em *S. surinama* a presença de uma (colônia I) ou mais rainhas não removidas (colônias A, G e H) não foram suficientes para suprimir o desenvolvimento ovariano em recém-emergidas ou operárias, no entanto, em *Metapolybia aztecoides* Richards recém-emergidas desenvolveram os ovários e se tornaram novas rainhas somente após a morte da única rainha original na colônia (West-Eberhard, 1978) e em *P. colobopterus*, Strassmann e colaboradores (2002) removeram oito rainhas e apenas uma rainha não removida foi suficiente para manter a supressão do desenvolvimento ovariano em operárias. O mais aceito é que as operárias mais velhas em Epiponini, sendo a casta mais numerosa, exercem o controle da reprodução (Queller et al., 1993), suprimindo fêmeas recém-emergidas do desenvolvimento ovariano através de comportamentos agressivos, servindo como um mecanismo de controle na produção de novas rainhas (West-Eberhard, 1978, 1981; Herman et al., 2000; Strassmann et al., 2002; Platt et al., 2004). Se a colônia perde todas as suas rainhas, o nível de agressão diminui e um novo grupo de rainhas surge (West-Eberhard, 1978, 1981; Strassmann et al., 2002). Ao contrário, nossos resultados mostraram que ocorreu um aumento no nível de agressões nas colônias e que fêmeas recém-emergidas não foram agredidas antes da remoção das rainhas, mas sim após, como será visto a seguir.

### **3.4. Nível de agressões antes e após a remoção das rainhas e as interações no estabelecimento do grupo de novas rainhas**

Em todas as colônias, todos os atos agressivos foram desempenhados por operárias mais velhas. Interessante é que as operárias reconheciam as recém-emergidas ou mesmo as operárias mais velhas que, provavelmente estavam iniciando o desenvolvimento ovariano. As operárias geralmente tocavam o abdome da agredida com o aparelho bucal e antenas ou mesmo mordiscavam (Mordab), antes de desempenhar “Worker dance” (Wd), solicitar agressivamente (Solagr) ou investir diretamente (Inv) com mordidas, tentativa de ferroar, ao mesmo tempo em que tentavam agarrar as agredidas (Agr). Em muitas ocasiões, agressora e agredida caíam do

ninho agarradas e depois se soltavam no solo. A agredida tentava escapar lutando e quando conseguia, voava e caía no solo ou corria para longe da agressora e em muitas ocasiões eram perseguidas. Mais de uma operária podiam atacar à agredida e muitas delas foram eliminadas do ninho. O comportamento morder o abdome (Mordab) foi desempenhado por operárias em quase todas as colônias e nós consideramos como uma forma da operária sentir algum odor e, assim, auxiliar na identificação dos indivíduos que estavam em início de desenvolvimento ovariano. A agredida geralmente evitava esse contato com seu abdome (Rmordab), recuando (Recuar), curvando o abdome (Curv) ou se virando rapidamente de frente com a operária, solicitando (Sol) ou possivelmente oferecendo algum recurso.

As recém-emergidas marcadas antes do teste de remoção não receberam agressões neste período, mesmo quando ocasionalmente caminhavam no favo, no entanto, elas passavam a maior parte do tempo agrupadas nas periferias do ninho, juntamente com rainhas e jovens machos (colônias D e E). Após o teste de remoção elas foram alvos de agressões de operárias (Fig. 6).

Na maioria das colônias nós observamos um aumento no nível de agressões após o teste de remoção das rainhas (Fig. 7). Nas colônias que apresentavam emergência de fêmeas antes e após a remoção das rainhas (colônias D e E), as agressões iniciaram no dia posterior ao teste de remoção. As agredidas na colônia D foram as fêmeas recém-emergidas marcadas antes da remoção (N=103), recém-emergidas marcadas nos primeiros cinco dias após a remoção (N=84) e também operárias jovens. As recém-emergidas marcadas no sexto dia em diante após remoção não foram vistas recebendo comportamentos agressivos (N=171). As recém-emergidas após a remoção das rainhas, que sofreram agressões, foram em sua maioria eliminadas do ninho em comparação com as que não sofreram ( $\chi^2= 20,44$ ; gl=1;  $p<0,0001$ ). Muitas foram vistas no solo, pois observamos que recém-emergidas tem baixa habilidade em voar e quando colocávamos algumas de volta ao ninho, elas eram imediatamente agredidas. No entanto, das 18 que permaneceram até a coleta da colônia, somente uma não desenvolveu seus ovários, dessa forma, ocorreu uma maior frequência de recém-emergidas que se tornaram novas rainhas neste grupo que no grupo que não sofreu agressões ( $\chi^2= 18,34$ ; gl=1;  $p<0,0001$ ). As recém-emergidas marcadas antes da remoção de rainhas foram igualmente agredidas e eliminadas do ninho em comparação às que sofreram agressões que emergiram após a remoção ( $\chi^2= 0,03$ ; gl=1;  $p=0,86$ ), no entanto, nenhuma das marcadas antes do teste de remoção, que não foram eliminadas (N=22), apresentou desenvolvimento ovariano.

Na colônia E as agredidas foram as recém-emergidas marcadas antes da remoção (N=33) e as recém-emergidas marcadas até o quarto dia após a remoção (N=38). A partir do quinto dia

cessaram as agressões. As recém-emergidas antes da remoção foram similarmente eliminadas em relação às que emergiram após a remoção ( $\chi^2=0,01$ ;  $gl=1$ ;  $p=0,88$ ), no entanto, o número de novas rainhas foi mais frequente no grupo das que emergiram após a remoção ( $\chi^2=11,02$ ;  $gl=1$ ;  $p<0,001$ ). Além disso, o número de novas rainhas neste grupo (emergiram até o quarto dia após a remoção) foi maior que no grupo das que emergiram após o período de agressões ( $\chi^2= 71,67$ ;  $gl=1$ ;  $p<0,0001$ ).

As colônias F e G não apresentavam emergência no dia do teste de remoção de rainhas. Na colônia F, as primeiras emergentes surgiram no 10º dia após a remoção. Neste dia teve início as agressões, embora até o 15º dia após a remoção, as agredidas e agressoras foram operárias e a metade das operárias agredidas amostradas nos “Scans” (N=10), também foram agressoras. Desta forma, provavelmente, estavam ocorrendo conflitos entre operárias em relação a direitos reprodutivos. Com uma pausa de três dias sem agressões nas amostragens, provavelmente devido a crescente presença de recém-emergidas na colônia, do 19º até 22º dia após a remoção, as agredidas foram as recém-emergidas. Neste período muitas foram encontradas no solo, pois eram agarradas no favo por operárias e caíam juntas, principalmente no primeiro dia em que as recém-emergidas foram agredidas. A maioria delas ficava agrupada na borda inferior do envelope no lado de fora do ninho. As fêmeas que emergiram nos primeiros seis dias após o início da emergência (N=42), das que não foram eliminadas (N=34), todas desenvolveram seus ovários, sendo 32 (94%) ovário D1 e 2 (6%) ovário tipo C. Das que emergiram no 7º dia (N=16), as que viveram (N=13), 10 (77%) desenvolveram ovário C e 3 (23%) apresentaram ovário A ou B1 e as que emergiram do 8º dia em diante após o início das emergências (N=60), todas apresentaram ovários A ou B1, tendo estas recém-emergidas idade absoluta entre 5 e 9 dias no dia da coleta, idade suficiente para apresentarem pelo menos 1 oócito maduro se fosse o caso de elas desenvolverem seus ovários. As operárias que participaram dos primeiros dias de agressões (agredidas e agressoras), todas apresentaram ovário A. O grupo de recém-emergidas que estavam na colônia no período de agressões teve seu número diminuído em igual frequência comparado às recém-emergidas que emergiram após as agressões ( $\chi^2= 0,03$ ;  $gl=1$ ;  $p=0,85$ ). Esses resultados sugerem que após a remoção das rainhas na colônia F, algumas operárias iniciaram desenvolvimento ovariano e entraram em conflitos agonísticos por direitos reprodutivos, como ocorreu na colônia I (a seguir nesta seção). Com o início da emergência de fêmeas, as primeiras que emergiram iniciaram o desenvolvimento ovariano devido à orfandade e suprimiram quimicamente as operárias em desenvolvimento ovariano, que tiveram seus ovários regredidos, bem como suprimiram quimicamente também as posteriores fêmeas recém-emergidas após o estabelecimento do novo grupo de rainhas.

Nosso experimento de remoção de rainhas indicou que na ausência de rainhas em colônias com emergência ou iminente emergência de fêmeas, os grupos de novas rainhas foram, em sua maioria, constituído pelas primeiras fêmeas que emergiram, sendo isso mais evidente na colônia F. No entanto, na colônia G, as primeiras recém-emergidas começaram a emergir a partir do quinto dia após o teste de remoção das rainhas e, a partir do dia seguinte, foram alvos de agressões pelas operárias por um período de seis dias. As recém-emergidas que foram eliminadas (N=46) receberam comportamentos agressivos em igual frequência, comparado às que permaneceram no ninho (N=72), analisando os dados dos “Scans” sobre agressões ( $\chi^2=0,02$ ;  $gl=1$ ;  $p=0,89$ ). Nesta colônia, nenhuma das recém-emergidas que emergiram no período das agressões apresentou desenvolvimento ovariano, com 87,5% das que permaneceram no ninho apresentando ovário A (N=63) e as demais ovário B1 (N=9). O grupo que apresentou desenvolvimento ovariano veio das fêmeas que emergiram após o período de agressões. Comparando a frequência de eliminação das recém-emergidas que sofreram agressões com as que emergiram nos seis dias posteriores às agressões (N=147), observamos uma eliminação altamente significativa no grupo das que sofreram agressões ( $\chi^2=22,62$ ;  $gl=1$ ;  $p<0,0001$ ). É possível que as primeiras recém-emergidas não desenvolveram seus ovários nesta colônia, por terem sido suprimidas quimicamente pelas duas rainhas originais não removidas. Outra possibilidade é que somente parte das recém-emergidas possui uma tendência pré-imaginal para desenvolverem seus ovários e as que emergiram com essa tendência foram eliminadas agressivamente pelas operárias.

Nas colônias que não apresentaram emergência durante todo o período de observação (B, H e I), o padrão comportamental variou entre as colônias no estabelecimento das novas rainhas. Na colônia B, as agressões observadas antes do teste de remoção (Fig.7), foram devido a um episódio de eliminação de rainhas, sendo as agressões registradas somente de operárias em rainhas. Após o teste de remoção, o estabelecimento do novo grupo de rainhas foi pacífico. No entanto, as novas rainhas ficavam agrupadas com as asas parcialmente abertas (asas em “V”) e curvavam frequentemente o abdome umas para as outras e para as operárias que se aproximavam, semelhante às rainhas removidas que passaram pelo episódio de eliminação de rainhas antes da remoção. Na colônia H, foram registradas agressões somente no 8º dia após o teste de remoção e somente entre as fêmeas que apresentaram desenvolvimento ovariano. As agressões foram menos intensas, comparado às outras colônias, envolvendo somente duas fêmeas por agressão, agressora e agredida. As agredidas foram somente duas fêmeas nos “Scans”, uma nova rainha e uma rainha operária (rainha não removida desempenhando funções de operárias). Já na colônia I, as agressões iniciaram no dia seguinte ao teste de remoção e

perdurou por quatro dias (Fig.7). A colônia ficou muito agitada, com vespas andando rápido e correndo no favo, mas as atividades de construção e forrageio continuaram. O nível de agressões foi muito intenso nesta colônia e várias fêmeas foram vistas sendo agredidas ao mesmo tempo, por até quatro indivíduos simultaneamente. As fêmeas que desenvolveram os ovários foram vistas sendo agressoras e também agredidas, assim como outras vespas que não apresentaram desenvolvimento ovariano, por isso, a frequência de eliminação foi similar para os grupos de agressoras e agredidas ( $\chi^2=1,39$  ;  $gl=1$ ;  $p=0,24$ ). Como praticamente todos os indivíduos da colônia estavam se agredindo, a taxa de eliminação de vespas do ninho foi muito alta. Duas fêmeas, eliminadas cinco dias após a remoção das rainhas, foram coletadas quando pousadas em folhas, cinco metros de distância do ninho, e ambas apresentaram um oócito quase maduro em cada ovário e não estavam inseminadas, indicando que as fêmeas em desenvolvimento ovariano estavam se agredindo. Comparando a frequência de eliminação com a colônia H, que passou por similar período de tempo após o teste de remoção e apresentava similares características, verificamos uma altamente significativa maior taxa de eliminação na colônia I. Na colônia H, das fêmeas que permaneceram no ninho após a remoção das rainhas ( $N=156$ ), 129 (83%) foram coletadas no final das observações, enquanto que na colônia I, das que permaneceram após a remoção ( $N=274$ ), somente 99 (36%) foram coletadas ( $\chi^2=84,65$  ;  $gl=1$ ;  $p<0,0001$ ).

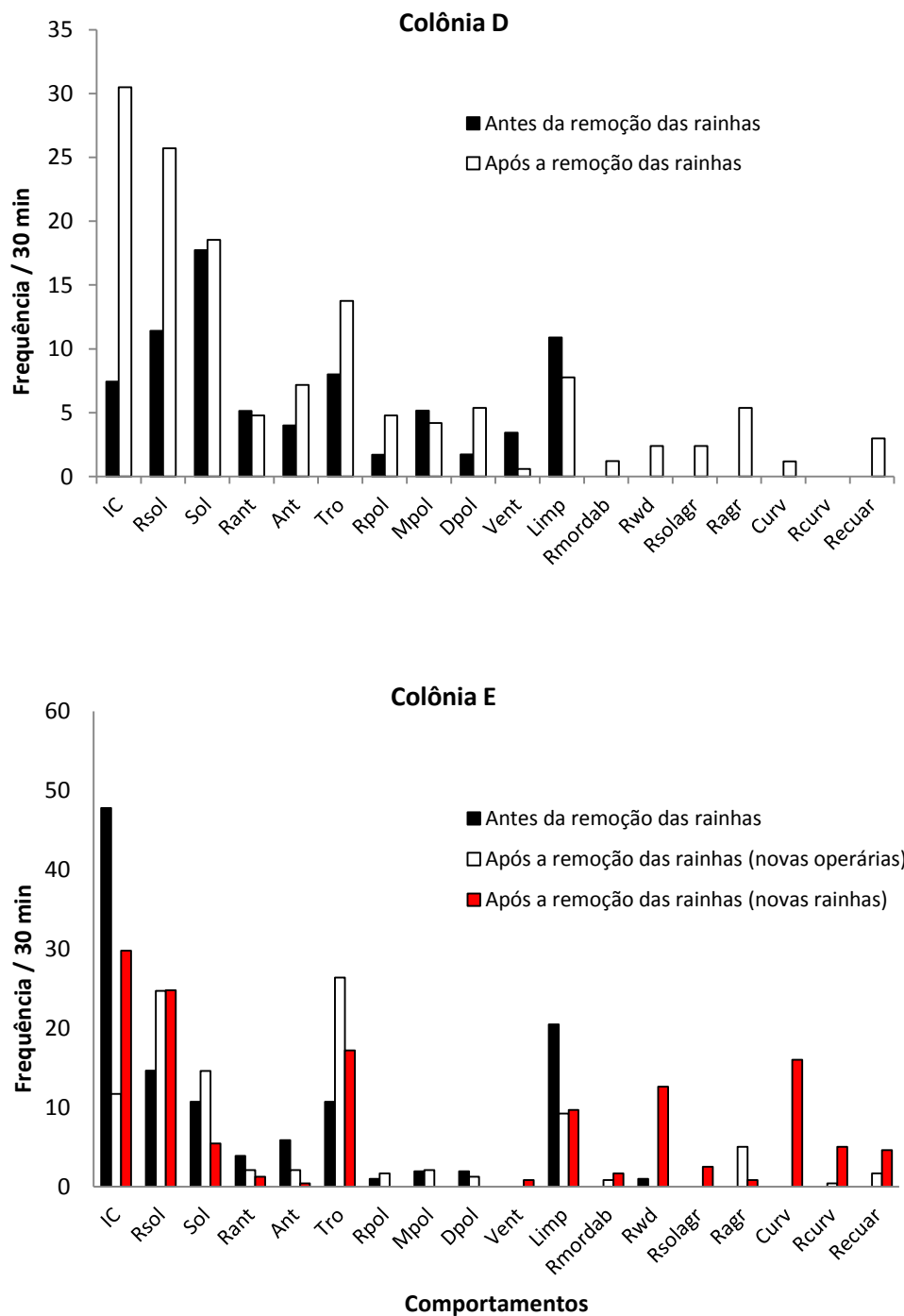


Figura 6. Frequência dos comportamentos desempenhados pelas recém-emergidas marcadas antes do teste de remoção de rainhas nas colônias D e E de *Synoecca surinama* (IC= inspeção de célula, Rsol= receber solicitação, Sol= solicitar, Rant= receber antenação, Ant= antenação, Tro= trofalaxia, Rpol= receber polpa, Mpol= macerar polpa, Dpol= dividir polpa, Vent= ventilação, Limp= autolimpeza, Rmordab= receber morder o abdome, Rwd= receber worker dance, Rsolagr= receber solicitação agressiva, Ragr= receber agressão, Curv= curvar o abdome, Rcurv= receber curvar o abdome, Recuar= recuar ou desviar).

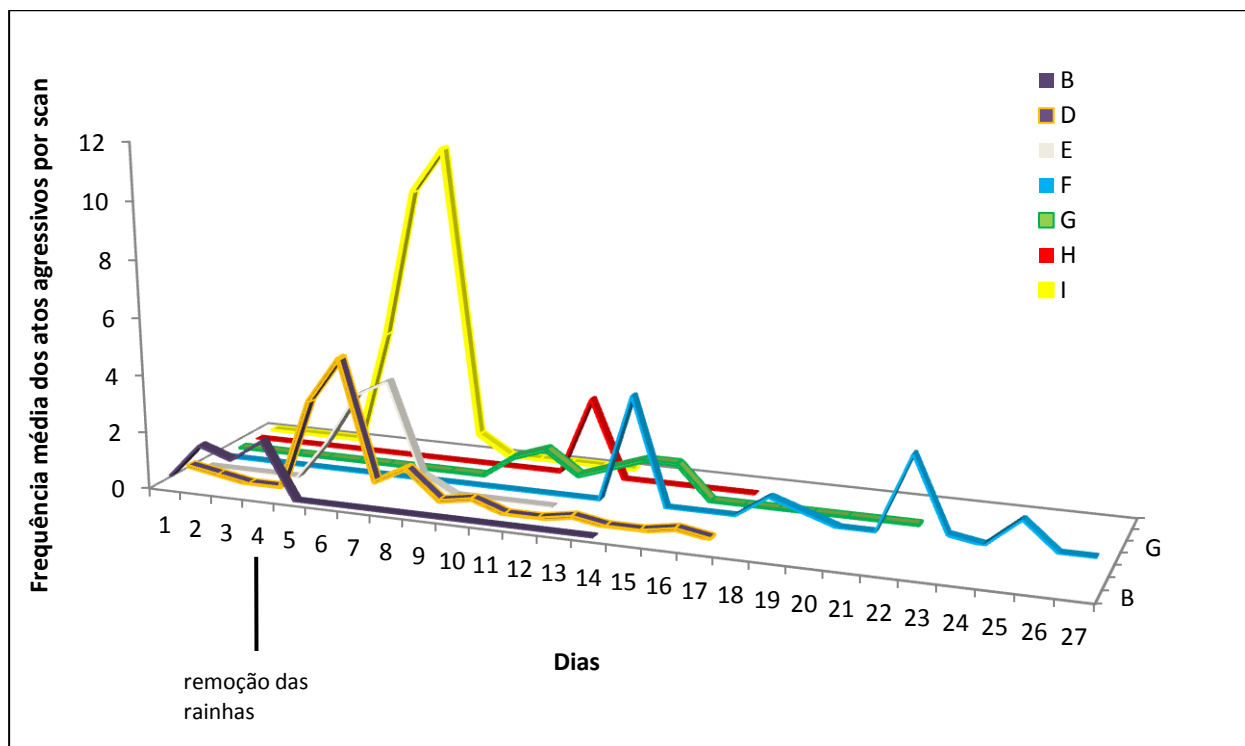


Figura 7. Frequência média dos atos agressivos observados nos “scans” nas colônias amostradas de *Synoeca surinama* antes e após o teste de remoção das rainhas (colônias B, D, E, F, G, H e I).

Nós verificamos que antes do teste de remoção das rainhas recém-emergidas não foram agredidas. Contudo, após a remoção elas foram as principais agredidas das operárias mais velhas, por um período aproximado de quatro a seis dias. Após este período crítico, as agressões cessaram e as subsequentes fêmeas emergidas não receberam agressões. Nas colônias que não apresentaram emergência de fêmeas no período das observações, o padrão comportamental no estabelecimento do grupo de novas rainhas variou de pacífico (colônia B) a uma intensa competição agonística entre as operárias por direitos reprodutivos provavelmente (colônia I). A maioria das fêmeas que desenvolveram os ovários veio do grupo das que eram recém-emergidas no período das agressões, exceto na colônia G. Em todas as colônias nenhuma nova rainha foi vista forrageando nos registros diários de atividades ou era forrageira antes da remoção das rainhas.

Em *S. surinama* nós não encontramos evidências que agressões de rainhas ou operárias em fêmeas recém-emergidas causa a supressão do desenvolvimento ovariano em colônias com rainhas, como proposto para espécies de Epiponini sem dimorfismo de castas (West-Eberhard, 1978; Strassmann et al., 2002; Platt et al., 2004). Nenhuma rainha foi vista agredindo recém-emergidas ou qualquer outro indivíduo em todas as colônias observadas, além do mais,

Chavarría (2013) observou em outras espécies, que recém-emergidas não são agredidas por rainhas ou operárias. Outro suporte é o fato de que as recém-emergidas agredidas por operárias após a remoção das rainhas desenvolveram seus ovários, no entanto, na colônia I muitas operárias que participaram das mútuas agressões não apresentaram desenvolvimento ovariano, sugerindo que agressões às suprimiram, mas, é mais provável que as que primeiro desenvolveram os ovários, sendo fisiologicamente mais dominantes, devem ter quimicamente causado a regressão dos ovários e posterior supressão dessas fêmeas.

Um comportamento que poderia ser uma possível forma de supressão comportamental é “Worker dance”, que algumas recém-emergidas foram vistas receber de operárias antes da remoção das rainhas (colônias A e E). No entanto, recém-emergidas que desenvolveram seus ovários após a remoção das rainhas receberam “Worker dance” de operárias em mais alta frequência, além de agressões, o que descarta essa possibilidade. Rainhas em *Epiponini* comumente recebem “Worker dance” de operárias, geralmente quando caminham no favo (West-Eberhard, 1978, 1981; Nascimento et al., 2004; Chavarría, 2013; este estudo), sendo um comportamento que pode ser a resposta comportamental de operárias quando percebem algum feromônio contato cuticular liberado por rainhas ou fêmeas em início de desenvolvimento ovariano, como recém-emergidas e novas rainhas. Em *Protopolybia acutiscutis* (Cameron) operárias reconhecem rainhas e as lambe antes de iniciar o enxameio (Naumann, 1970), enquanto que operárias reconhecem rainhas por meio de alguma substância liberada da cabeça e distinguem rainhas desmembradas e esmagadas de outros membros da colônia em *M. aztecoides*, indicando que o reconhecimento da rainha pelo odor é provável em grandes colônias de *Polistinae* (West-Eberhard, 1977). Estudos experimentais mostraram que em diversas espécies de *Polistes*, fundadoras reconhecem as companheiras por odores específicos (Gamboa et al., 1986). Outro comportamento que, provavelmente está relacionado ao reconhecimento do “Status” reprodutivo de fêmeas por sinalização química é mordiscar o abdome (Mordab), neste comportamento, a operária realizava contatos bucais com o gaster das recém-emergidas ou fêmeas em provável desenvolvimento ovariano antes de agredi-las. O mesmo foi observado em rainhas originais em episódios de eliminação de rainhas nas colônias de *S. surinama*, o que nos leva a levantar a hipótese que rainhas e novas rainhas produziram alguns componentes químicos específicos de contato sobre a superfície da cutícula gastral que desencadearam os comportamentos agressivos das operárias.

Como a maioria das novas rainhas veio do grupo de recém-emergidas que se encontrava no ninho no período crítico de agressões, nós consideramos que as agressões de operárias sobre recém-emergidas é uma forma de controle das operárias para evitar a produção de um maior

número de novas rainhas do que seria ótimo para a colônia, pois estas agressões levaram a uma alta taxa de eliminações. Por exemplo, na colônia D, das recém-emergidas após a remoção das rainhas que receberam agressões, somente 17,6% permaneceram no ninho e destas, 94,5% desenvolveram seus ovários e se tornaram novas rainhas. De fato, a proporção de novas rainhas produzidas em relação à população total não foi alta, limitando de 0,05 a 0,18 (média=0,12±0,05), dentro do limite observado nestas mesmas colônias antes das rainhas serem removidas (limite de 0,01 a 0,19; média=0,09±0,08). O fator causal para as agressões pode ser o excesso de feromônios de rainhas produzido pelas muitas fêmeas desenvolvendo seus ovários. Esta hipótese é corroborada pelo fato que ocorreu alta taxa de eliminação no período de agressões. Em Vespinae, o controle da reprodução e supressão de operárias é químico (Spradbery, 1991), neste grupo agressões foram observadas após orfandade em *Vespula atropilosa* (Sladen) (Landolt et al., 1977), onde operárias começaram ovipositar oito dias após a ausência da rainha. Em *Vespa analis* (Fabricius), após a perda da rainha, as operárias lutaram por dominância até uma se tornar a dominante ou única rainha na colônia, a partir disso, as agressões diminuíram (Matsuura, 1984) e em *Polistes annularis* (Linnaeus), a remoção da rainha provocou interações agressivas entre operárias, até o estabelecimento de uma hierarquia de dominância (Hughes et al., 1987).

Apesar de não conduzirmos nenhum bioensaio, temos evidências indiretas que a supressão de fêmeas recém-emergidas e operárias mais velhas não forrageiras provavelmente é realizada pelas rainhas por sinalização química. Um controle da reprodução baseado em agressão, como verificado em vespas de fundação independente, como *Polistes* (Reeve e Gamboa, 1983; Reeve, 1991) e sugerido para espécies de Epiponini (West-Eberhard, 1978, 1981; Strassmann et al., 2002; Platt et al., 2004), não se aplica em *S. surinama* a partir de nossos resultados, pois novas rainhas surgiram nos períodos críticos de agressões na maioria das colônias.

A mais óbvia evidência é que fêmeas recém-emergidas não desenvolvem seus ovários na presença de um grupo de rainhas. Elas permanecem agrupadas com rainhas no período entre a emergência e o início das atividades como operárias e isso pode intensificar a ação de possíveis componentes supressores produzidos por rainhas. Além disso, operárias mais velhas não forrageiras também apresentam totipotência (Kelstrup, 2012; Chavarría, 2013, este estudo) e não observamos agressões entre elas ou outras interações que expliquem a mútua supressão, no entanto, quando a razão rainhas/operárias esta baixa, esta supressão diminui e intermediárias surgem na colônia, como verificado neste estudo. Intermediárias são comumente encontradas em espécies com baixo dimorfismo de castas (Richards, 1978; Noll et al., 1996; Mateus et al., 1997;

Shima et al., 1998), no entanto, no clado compreendendo *Synoeca* de Saussure, *Clypearia* de Saussure, *Metapolybia* Ducke e *Asteloeca* Raw (Wenzel e Carpenter, 1994), intermediárias não são comuns (Noll et al., 2004). Em relação à dominância reprodutiva e supressão ovariana em operárias, podemos levantar a hipótese de que a presença de intermediárias nesse clado é resultado de baixa supressão química imposta pelo reduzido número de rainhas. Quando a razão rainhas/operárias esta baixa, esta supressão química diminui e intermediárias surgem na colônia. De fato, nós observamos que em todas as colônias apresentando intermediárias, a razão rainhas/operárias limitou de 0,005 a 0,02 (N=4) e nas colônias não apresentando, a razão limitou 0,05 a 0,28 (N=5). Esta hipótese é suportada pelo fato de que Richards (1971) e West-Eberhard (1978) verificaram que em colônias com poucas rainhas, as intermediárias têm maiores ovários e com muitas elas têm menores ovários, sendo provavelmente, o resultado da diminuição da supressão das rainhas em espécies que apresentam intermediárias durante todo o ciclo colonial (ver Shima et al., 1998; Noll et al., 2004) por, provavelmente, terem evoluído para uma incompleta supressão química por rainhas. Outro suporte é o mais baixo desenvolvimento ovariano nos grupos de novas rainhas nas colônias onde uma ou algumas rainhas não foram removidas (Tab. 4). Como a supressão provavelmente é mantida pelo grupo de rainhas, a permanência de uma ou algumas rainhas, mantém baixa a supressão, mas não impedindo com eficácia o desenvolvimento ovariano em operárias ou recém-emergidas. Isso nos leva a levantar a hipótese que a manutenção da supressão está relacionada ao nível de desenvolvimento ovariano das rainhas, ou seja, quanto maior os ovários, mais feromônios de supressão a rainha produz. Com a diminuição do número de rainhas na colônia no decorrer do ciclo, no processo de oligoginia cíclica (West-Eberhard, 1978), o nível de desenvolvimento ovariano por rainha aumenta (Strassmann et al., 1992; Noll e Zucchi, 2000, 2002; Strassmann et al., 2002; Nascimento et al., 2004, este estudo) e um menor número de rainhas mantém a supressão, até que o equilíbrio é quebrado e intermediárias começam a surgir e por fim, com a morte da última rainha (pequenas colônias) ou mesmo com uma ou algumas rainhas (grandes colônias), um novo grupo de rainhas surge. Esta hipótese pode explicar o fato de que três rainhas não removidas na colônia H, com ovários poucos desenvolvidos (média= 8,33 oócitos/rainha), não manterem a supressão de 173 operárias e na colônia C, com somente três rainhas originais, com maior nível de desenvolvimento ovariano (média= 25 oócitos/rainha), manterem a supressão de 600 operárias, com a ocorrência de apenas algumas intermediárias.

Outra evidência de controle reprodutivo ser químico é a ausência de desenvolvimento ovariano em fêmeas emergidas após o período de agressões e estabelecimento do novo grupo de rainhas. É provável que as novas rainhas reestabeleceram a supressão ovariana das subsequentes

recém-emergidas e operárias quimicamente, da mesma forma como a dominância era mantida pelas rainhas removidas, visto que nenhuma interação agonística foi observada entre estas vespas que emergiram após o período crítico de agressões e operárias mais velhas ou entre elas e as novas rainhas. Como as rainhas desempenham poucas atividades, além de ovipositar (Herman et al, 2000), comunicação do “Status” por posturas ritualizadas, como curvar o abdome (“Bending display” sensu West-Eberhard, 1978), “Worker dance” e asas semiabertas em “V”, seria insuficiente na manutenção da supressão, principalmente em colônias com poucas rainhas. Existem evidências indiretas que controle químico da reprodução ocorra em outras espécies de Epiponini, como *Pr. acutiscutis*, *Agelaia pallipes* (Olivier) e *Polybia occidentalis* (Olivier) (Naumann, 1970; Forsyth, 1978), embora não tenham sido comprovadas.

Na maioria das espécies de insetos, feromônios mediam atração sexual e cópula, mas nos insetos sociais, feromônios também podem regular uma lista maior de comportamentos, envolvendo até milhares de indivíduos (Kocher e Grozinger, 2011). Feromônios de rainha, com efeito fisiológico na supressão do desenvolvimento ovariano de operárias, foram definitivamente identificados somente em *A. mellifera* (Le Conte e Hefetz, 2008). Embora a fonte e natureza química desses supostos feromônios sejam desconhecidas em Vespidae, nos polistíneos primitivamente eussociais ocorre evidências do controle reprodutivo ser químico, pelo menos na manutenção da dominância, visto que são comuns múltiplas rainhas ovipositando em grandes colônias de espécies monogínicas de vespas sociais (West-Eberhard, 1977). Quanto maior se torna o grupo, maior é a probabilidade que mais de uma fêmea apresente ovários desenvolvidos (Strassmann, 1983), sugerindo que o controle reprodutivo baseado em agressões é eficiente somente em pequenos grupos. Em *Ropalidia marginata* (Lepeletier) interações de dominância direta são quase ausentes (Spradbery, 1991; Kardile e Gadagkar, 2002; Bhadra et al., 2010) e em *Polistes* é observada uma redução nas agressões após o estabelecimento da dominância (West-Eberhard, 1986; Hughes et al., 1987; Sledge e Boscaro 2001), sugerindo que o controle reprodutivo pode ser mantido quimicamente (West-Eberhard, 1986; Dapporto et al., 2007; Bhadra et al., 2010), possivelmente por misturas de hidrocarbonetos de secreção do órgão de Van der Vecht (Dapporto et al., 2007) ou componentes da glândula de Dufour (Bhadra et al., 2010).

Em Epiponini, componentes provenientes do saco de veneno funcionam como sinal químico de alarme na defesa do ninho (Jeanne, 1981b) e produtos provenientes da glândula de Richards (Jeanne, 1981a) ou veneno (Mateus, 2011) são usados na produção de trilha química para coordenar a colônia no enxameio. Além do mais, apesar de nenhum feromônio sexual ter sido quimicamente caracterizado na família Vespidae (Ayasse et al., 2001) é provável que

feromônios sexuais voláteis de longo alcance são produzidos por novas rainhas virgens para atrair machos (Chavarría e Noll, 2014; segundo capítulo desse estudo). Assim, embora interações comportamentais sejam importantes na manutenção dessas sociedades, componentes químicos mediam muitos comportamentos envolvidos na organização da colônia e é provável que um controle reprodutivo químico ocorra neste grupo.

Em *S. surinama*, Kelstrup e colaboradores (2014) mostraram que os níveis de hormônio juvenil são mais elevados em rainhas e novas rainhas (citado como “Benders”) do que em operárias, fêmeas suprimidas do desenvolvimento ovariano e recém-emergidas, mostrando que este hormônio possui função gonadotrópica, no entanto, eles observaram que recém-emergidas receberam agressões de operárias antes da remoção das rainhas e após o estabelecimento do novo grupo de rainhas, sugerindo supressão comportamental nestas jovens fêmeas, o que não foi observado no presente estudo, apesar do longo tempo de observações nestas e em outras colônias de *S. surinama*. Experimentos com aplicação de hormônio juvenil mímico (methoprene) em jovens fêmeas evidenciaram que esse hormônio não é necessário na expressão de comportamentos agressivos de dominância, no entanto, parece promover, além do desenvolvimento ovariano, mudanças nos perfis de hidrocarbonetos cuticulares em direção aos verificados em rainhas (Kelstrup et al., 2014). Essas alterações na cutícula pode ser a causa proximal do reconhecimento e das agressões de operárias recebidas pelas fêmeas recém-emergidas, após remoção das rainhas, verificadas no presente estudo, visto que todas as jovens tratadas com methoprene também receberam agressões de operárias mais velhas após a aplicação (Kelstrup et al., 2014). Hidrocarbonetos cuticulares parecem associados com a sinalização do “Status” reprodutivo em espécies sociais primitivas, como em *Polistes satan* Bequaert (Tannure-Nascimento et al., 2008) e em espécies sociais avançadas e, em alguns casos, funcionam como feromônios (Kocher e Grozinger, 2011), como é verificado na formiga de jardim *Lasius Niger* (Linnaeus), onde um único hidrocarboneto cuticular inibe a ativação ovariana em operárias (Holman et al., 2010).

### **3.5. Diferenças morfométricas entre novas rainhas e novas operárias**

Nós realizamos análises morfométricas comparativas entre rainhas originais, operárias, novas rainhas e novas operárias para verificar se existem diferenças de castas em *S. surinama* e

se novas rainhas e novas operárias apresentaram alguma diferença de tamanho, que revelasse alguma tendência pré-imaginal em novas rainhas em comparação com novas operárias.

Nas colônias D, E e I a maioria dos caracteres não apresentou diferenças significativas entre os grupos testados, principalmente entre novas rainhas e novas operárias (Tab. 6). Já nas colônias F e G, a maioria dos caracteres apresentaram diferenças significativas entre os grupos em questão, com uma tendência das operárias serem maiores em relação aos outros grupos, principalmente na colônia G (Tab. 6). Entre novas rainhas e novas operárias pouca diferença foi observada em todas as colônias, não tendo um padrão, pois em algumas medidas novas rainhas eram maiores e em outras eram menores que novas operárias (Tab. 6).

Tabela 6. Médias e valores observados de teste ANOVA e teste de Tukey, para oito caracteres usados para discriminar rainhas, operárias, novas rainhas e novas operárias nas colônias de *Synoecca surinama*.

| Colônia  | Caracteres | Média (mm)±DP |           |               |                 | ANOVA | Teste de Tukey *P<0,05 # P<0,01 |       |       |       |       |              |
|----------|------------|---------------|-----------|---------------|-----------------|-------|---------------------------------|-------|-------|-------|-------|--------------|
|          |            | Rainhas       | Operárias | Novas Rainhas | Novas Operárias |       | O/NO                            | O/NR  | O/R   | R/NR  | R/NO  | NR/NO        |
| <b>D</b> |            | (n=15)        | (n=30)    | (n=30)        | (n=30)          | (F)   | p                               |       |       |       |       |              |
|          | AL         | 7,29±0,09     | 7,37±0,18 | 7,35±0,14     | 7,33±0,18       | 0,93  | 0,42                            |       |       |       |       |              |
|          | WL         | 9,78±0,14     | 9,88±0,22 | 9,93±0,20     | 9,88±0,29       | 1,40  | 0,24                            |       |       |       |       |              |
|          | GW         | 1,55±0,03     | 1,58±0,04 | 1,57±0,04     | 1,58±0,05       | 1,71  | 0,16                            |       |       |       |       |              |
|          | IDX        | 5,16±0,04     | 5,22±0,09 | 5,18±0,08     | 5,16±0,11       | 2,87  | 0,056                           |       |       |       |       |              |
|          | IDm        | 2,68±0,03     | 2,68±0,06 | 2,66±0,06     | 2,64±0,06       | 2,47  | 0,06                            |       |       |       |       |              |
|          | HW         | 5,34±0,06     | 5,39±0,08 | 5,37±0,07     | 5,36±0,11       | 1,64  | 0,18                            |       |       |       |       |              |
|          | MSW        | 3,81±0,07     | 3,69±0,10 | 3,71±0,11     | 3,71±0,10       | 5,49  | 0,001                           |       |       | R>O#  | R>NR# | R>NO#        |
|          | T2BW       | 2,75±0,12     | 2,69±0,11 | 2,73±0,10     | 2,68±0,08       | 1,97  | 0,12                            |       |       |       |       |              |
| <b>E</b> |            | (n=18)        | (n=30)    | (n=30)        | (n=30)          |       |                                 |       |       |       |       |              |
|          | AL         | 7,3±0,12      | 7,34±0,14 | 7,35±0,18     | 7,37±0,14       | 0,93  | 0,43                            |       |       |       |       |              |
|          | WL         | 9,78±0,17     | 9,87±0,33 | 9,77±0,28     | 9,92±0,28       | 1,76  | 0,16                            |       |       |       |       |              |
|          | GW         | 1,65±0,04     | 1,65±0,05 | 1,64±0,09     | 1,65±0,06       | 0,28  | 0,84                            |       |       |       |       |              |
|          | IDX        | 5,16±0,06     | 5,1±0,54  | 5,21±0,09     | 5,21±0,08       | 0,9   | 0,44                            |       |       |       |       |              |
|          | IDm        | 2,7±0,04      | 2,69±0,06 | 2,74±0,07     | 2,72±0,05       | 3,36  | 0,02                            |       |       | NR>O* |       |              |
|          | HW         | 5,43±0,09     | 5,43±0,10 | 5,46±0,11     | 5,36±0,55       | 0,65  | 0,58                            |       |       |       |       |              |
|          | MSW        | 3,64±0,06     | 3,6±0,12  | 3,67±0,12     | 3,64±0,10       | 1,78  | 0,15                            |       |       |       |       |              |
|          | T2BW       | 2,69±0,08     | 2,69±0,09 | 2,69±0,11     | 2,68±0,14       | 0,16  | 0,92                            |       |       |       |       |              |
| <b>F</b> |            | (n=30)        | (n=30)    | (n=30)        | (n=25)          |       |                                 |       |       |       |       |              |
|          | AL         | 7,2±0,13      | 7,32±0,14 | 7,34±0,14     | 7,16±0,14       | 10,75 | < 0,0001                        | O>NO# |       | O>R#  | NR>R# | NR>NO#       |
|          | WL         | 9,43±0,19     | 9,94±0,21 | 9,43±0,26     | 9,68±0,21       | 36,74 | < 0,0001                        | O>NO# | O>NR# | O>R#  |       | NO>R# NO>NR# |
|          | GW         | 1,56±0,05     | 1,57±0,06 | 1,59±0,05     | 1,54±0,06       | 3,32  | 0,02                            |       |       |       |       | NR>NO*       |
|          | IDX        | 5,07±0,08     | 5,17±0,10 | 5,14±0,10     | 5,09±0,08       | 7,52  | 0,0001                          | O>NO* |       | O>R#  | NR>R* |              |
|          | IDm        | 2,63±0,04     | 2,66±0,06 | 2,64±0,05     | 2,64±0,05       | 2,01  | 0,11                            |       |       |       |       |              |
|          | HW         | 5,3±0,07      | 5,38±0,11 | 5,35±0,09     | 5,31±0,08       | 4,85  | 0,003                           | O>NO* |       | O>R#  |       |              |
|          | MSW        | 3,71±0,11     | 3,63±0,10 | 3,76±0,11     | 3,67±0,08       | 8,99  | < 0,0001                        |       | NR>O# | R>O*  |       | NR>NO#       |
|          | T2BW       | 2,75±0,10     | 2,73±0,13 | 2,72±0,10     | 2,67±0,14       | 2,03  | 0,11                            |       |       |       |       |              |

Continua

Tabela 6. Continuação

| Colônia  | Caracteres | Média (mm)±DP |           |               |                 | ANOVA | Teste de Tukey *P<0,05 # P<0,01 |       |        |      |        |              |
|----------|------------|---------------|-----------|---------------|-----------------|-------|---------------------------------|-------|--------|------|--------|--------------|
|          |            | Rainhas       | Operárias | Novas Rainhas | Novas Operárias |       | O/NO                            | O/NR  | O/R    | R/NR | R/NO   | NR/NO        |
| <b>G</b> |            | (n=30)        | (n=30)    | (n=30)        | (n=30)          | (F)   | p                               |       |        |      |        |              |
|          | AL         | 7,18±0,12     | 7,37±0,14 | 7,04±0,13     | 7,11±0,18       | 27,22 | < 0,0001                        | O>NO# | O>NR#  | O>R# | R>NR#  |              |
|          | WL         | 9,72±0,22     | 9,88±0,19 | 9,57±0,21     | 9,6±0,27        | 11,83 | < 0,0001                        | O>NO# | O>NR#  | O>R* | R>NR * |              |
|          | GW         | 1,55±0,05     | 1,59±0,03 | 1,52±0,04     | 1,53±0,04       | 15,27 | < 0,0001                        | O>NO# | O>NR#  | O>R* | R>NR#  |              |
|          | IDX        | 5,07±0,07     | 5,21±0,08 | 5,08±0,10     | 5,08±0,08       | 18,32 | < 0,0001                        | O>NO# | O>NR#  | O>R# |        |              |
|          | IDm        | 2,66±0,05     | 2,69±0,07 | 2,61±0,07     | 2,62±0,07       | 10,53 | < 0,0001                        | O>NO# | O>NR#  |      | R>NR * |              |
|          | HW         | 5,24±0,08     | 5,38±0,09 | 5,22±0,11     | 5,23±0,08       | 19,17 | < 0,0001                        | O>NO# | O>NR#  | O>R# |        |              |
|          | MSW        | 3,67±0,07     | 3,65±0,10 | 3,44±0,11     | 3,51±0,08       | 41,87 | < 0,0001                        | O>NO# | O>NR#  |      | R>NR#  | R>NO# NR>NO* |
| <b>I</b> | T2BW       | 2,72±0,09     | 2,7±0,09  | 2,6±0,10      | 2,63±0,10       | 9,79  | < 0,0001                        | O>NO* | O>NR#  |      | R>NR#  | R>NO#        |
|          |            | (n=5)         | (n=30)    | (n=16)        | (n=19)          |       |                                 |       |        |      |        |              |
|          | AL         | 7,14±0,06     | 7,1±0,13  | 7,1±0,12      | 7,07±0,11       | 0,65  | 0,58                            |       |        |      |        |              |
|          | WL         | 9,47±0,30     | 9,63±0,23 | 9,27±0,23     | 9,5±0,23        | 8,51  | < 0,0001                        |       | O>NR#  |      |        | NO>NR *      |
|          | GW         | 1,56±0,05     | 1,6±0,05  | 1,61±0,05     | 1,6±0,05        | 1,15  | 0,34                            |       |        |      |        |              |
|          | IDX        | 5,06±0,05     | 5,11±0,06 | 5,09±0,06     | 5,12±0,05       | 1,71  | 0,17                            |       |        |      |        |              |
|          | IDm        | 2,68±0,07     | 2,62±0,06 | 2,63±0,04     | 2,64±0,04       | 2,39  | 0,08                            |       |        |      |        |              |
|          | HW         | 5,29±0,05     | 5,34±0,07 | 5,32±0,06     | 5,34±0,07       | 1,12  | 0,34                            |       |        |      |        |              |
|          | MSW        | 3,66±0,07     | 3,55±0,10 | 3,64±0,11     | 3,57±0,09       | 4,62  | 0,005                           |       | O>NR * |      |        |              |
|          | T2BW       | 2,71±0,06     | 2,67±0,14 | 2,63±0,09     | 2,67±0,08       | 0,95  | 0,42                            |       |        |      |        |              |

Análise de função discriminante (Tab. 7) mostrou que nas colônias D e E, o poder de discriminação das variáveis no modelo foi baixo, visto que os valores de Lambda de Wilks foram acima de 0,60 na colônia D e acima de 0,78 na E. Os valores de Lambda de Wilks limita de 0 (perfeito poder de discriminação) a 1 (nenhum poder de discriminação). Os mais baixos valores de Lambda de Wilks apresentados pelas colônias F e G e confirmados pelos altos valores dos autovalores, que são as proporções das variâncias calculadas pela correlação entre as respectivas variáveis canônicas (Tab. 9), mostraram que o poder de discriminação das variáveis nestas colônias foi maior, com uma tendência de discriminação das operárias em relação ao grupo de rainhas e destas em relação aos grupos de novas rainhas e novas operárias na colônia G.

Além disso, ocorreu uma baixa discriminação das operárias em relação aos outros grupos na colônia F. No entanto, os valores de Lambda parcial de Wilks (Tab. 7), que indicam quais variáveis contribuíram mais para a discriminação total dos grupos, não mostrou o mesmo padrão para as colônias com menores valores de Lambda de Wilks, pois na colônia G a variável morfométrica que mais contribuiu para a discriminação total foi a largura do mesoescuto (MSW) e na colônia F foi o comprimento da 1ª célula discal da asa anterior (WL).

Nos plots dos escores canônicos (Fig. 8), apesar da discriminação nas colônias F e G, todos os grupos apresentaram medidas sobrepostas, indicando fraca diferenciação morfológica entre os grupos, principalmente entre novas rainhas e novas operárias. A análise de classificação (Tab. 8) foi imprecisa em separar os grupos convincentemente.

Nós encontramos baixa discriminação de castas entre rainhas e operárias em duas das cinco colônias submetidas à análise morfométrica, com operárias ligeiramente maiores, porém, no todo, não existiram diferenças entre as castas. Como rainhas formam um grupo de mesma idade, emergidas no mesmo período, sendo então da mesma geração (Strassmann et al., 1991, 2002; Queller et al., 1993; este estudo), pequenas variações podem surgir nas variáveis morfométricas devido a variações nos fatores ambientais, como abundância ou escassez de alimento nos períodos larvais destes grupos.

Novas rainhas e novas operárias não apresentaram nenhuma diferenciação nas variáveis medidas, indicando que o desenvolvimento ovariano nas novas rainhas não foi dependente do tamanho, não ocorrendo, dessa forma, nenhuma tendência pré-imaginal na determinação de castas, pelo menos em nenhuma parte do corpo amostrada. Se existe alguma tendência pré-imaginal para fêmeas se tornarem reprodutivas em *S. surinama*, é possível que seja fisiológica ou genética, que não podemos explicar. Em *R. marginata* Gadagkar e colaboradores (1988) sugeriram que fêmeas emergem com diferentes potenciais reprodutivos, sendo a probabilidade de ovipositar correlacionada positivamente com o número de células vazias no ninho natal das vespas e com a taxa de alimentação na vida adulta. Contudo, das sete variáveis morfométricas usadas na comparação, nenhuma pareceu influenciar.

Tabela 7. Variáveis morfométricas discriminante entre rainhas, operárias, novas rainhas e novas operárias de cinco colônias de *Synoecca surinama*.

| Colônia  | Variável | Lambda de Wilks | Lambda parcial de Wilks | F     | P    |
|----------|----------|-----------------|-------------------------|-------|------|
| <b>D</b> | MSW      | 0,70            | 0,82                    | 7,08  | 0,00 |
|          | HW       | 0,61            | 0,95                    | 1,73  | 0,16 |
|          | IDm      | 0,64            | 0,90                    | 3,43  | 0,02 |
|          | WL       | 0,61            | 0,94                    | 2,02  | 0,11 |
|          | IDX      | 0,61            | 0,94                    | 2,06  | 0,11 |
|          | T2BW     | 0,60            | 0,95                    | 1,46  | 0,23 |
|          |          |                 |                         |       |      |
| <b>E</b> | IDm      | 0,85            | 0,88                    | 4,31  | 0,00 |
|          | WL       | 0,81            | 0,92                    | 2,72  | 0,04 |
|          | MSW      | 0,79            | 0,94                    | 1,93  | 0,12 |
|          | GW       | 0,78            | 0,96                    | 1,49  | 0,22 |
|          | T2BW     | 0,78            | 0,96                    | 1,32  | 0,27 |
| <b>F</b> | WL       | 0,46            | 0,60                    | 23,25 | 0,00 |
|          | AL       | 0,34            | 0,81                    | 8,18  | 0,00 |
|          | IDX      | 0,31            | 0,90                    | 3,97  | 0,01 |
|          | MSW      | 0,32            | 0,87                    | 5,18  | 0,00 |
|          | IDM      | 0,30            | 0,93                    | 2,61  | 0,05 |
|          | T2BW     | 0,29            | 0,94                    | 2,20  | 0,10 |
|          |          |                 |                         |       |      |
| <b>G</b> | MSW      | 0,35            | 0,61                    | 23,41 | 0,00 |
|          | IDX      | 0,30            | 0,71                    | 14,78 | 0,00 |
|          | AL       | 0,25            | 0,86                    | 5,85  | 0,00 |
|          | T2BW     | 0,23            | 0,91                    | 3,33  | 0,02 |
|          | GW       | 0,23            | 0,93                    | 2,54  | 0,06 |
|          | IDm      | 0,22            | 0,96                    | 1,56  | 0,20 |
|          |          |                 |                         |       |      |
| <b>I</b> | WL       | 0,51            | 0,71                    | 8,36  | 0,00 |
|          | MSW      | 0,50            | 0,73                    | 7,72  | 0,00 |
|          | IDX      | 0,42            | 0,87                    | 3,00  | 0,03 |
|          | IDm      | 0,47            | 0,78                    | 5,91  | 0,00 |
|          | GW       | 0,43            | 0,84                    | 3,81  | 0,01 |
|          |          |                 |                         |       |      |

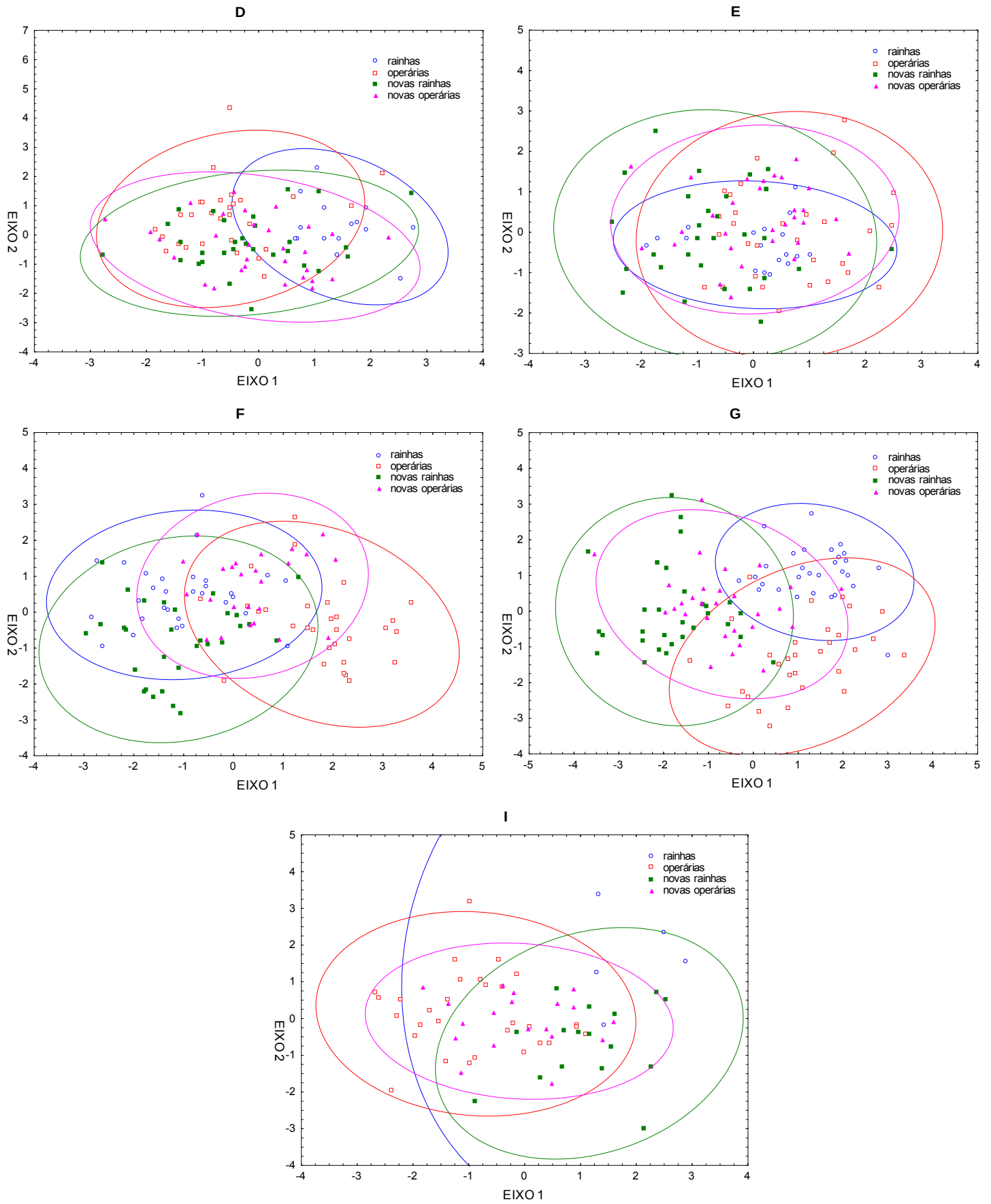


Figura 8. Discriminação morfométrica nas cinco colônias de *Synoeca surinama* baseada nos dois primeiros eixos canônicos. Cada elipse abrange 95% da variação.

Tabela 8. Análise de classificação dos grupos nas colônias analisadas de *Synoecca surinama*.

| Classificação Prevista |                         |         |           |               |                 |                                |
|------------------------|-------------------------|---------|-----------|---------------|-----------------|--------------------------------|
| Colônia                | Classificação Observada | Rainhas | Operárias | Novas Rainhas | Novas Operárias | Corretamente classificadas (%) |
| <b>D</b>               |                         |         |           |               |                 |                                |
|                        | Rainhas                 | 8       | 2         | 2             | 3               | 60                             |
|                        | Operárias               | 2       | 18        | 2             | 8               | 60                             |
|                        | Novas Rainhas           | 4       | 6         | 14            | 6               | 46,6                           |
|                        | Novas Operárias         | 1       | 9         | 6             | 14              | 46,6                           |
| <b>E</b>               |                         |         |           |               |                 |                                |
|                        | Rainhas                 | 0       | 11        | 4             | 3               | 0                              |
|                        | Operárias               | 0       | 18        | 5             | 7               | 60                             |
|                        | Novas Rainhas           | 1       | 5         | 18            | 6               | 60                             |
|                        | Novas Operárias         | 0       | 10        | 10            | 10              | 33,3                           |
| <b>F</b>               |                         |         |           |               |                 |                                |
|                        | Rainhas                 | 19      | 2         | 7             | 2               | 63,3                           |
|                        | Operárias               | 1       | 23        | 1             | 5               | 76,6                           |
|                        | Novas Rainhas           | 4       | 2         | 19            | 5               | 60                             |
|                        | Novas Operárias         | 5       | 3         | 2             | 15              | 60                             |
| <b>G</b>               |                         |         |           |               |                 |                                |
|                        | Rainhas                 | 24      | 1         | 0             | 5               | 80                             |
|                        | Operárias               | 4       | 23        | 1             | 2               | 76,6                           |
|                        | Novas Rainhas           | 0       | 1         | 21            | 8               | 70                             |
|                        | Novas Operárias         | 3       | 2         | 10            | 15              | 50                             |
| <b>I</b>               |                         |         |           |               |                 |                                |
|                        | Rainhas                 | 4       | 0         | 1             | 0               | 80                             |
|                        | Operárias               | 0       | 22        | 3             | 5               | 73,3                           |
|                        | Novas Rainhas           | 0       | 2         | 10            | 4               | 62,5                           |
|                        | Novas Operárias         | 0       | 9         | 3             | 7               | 36,8                           |

Tabela 9. Autovalores das duas primeiras funções canônicas para as cinco colônias *Synoecca surinama*.

| Autovalores |        |        |
|-------------|--------|--------|
| Colônia     | Eixo 1 | Eixo 2 |
| <b>D</b>    | 0,393  | 0,179  |
| <b>E</b>    | 0,252  | 0,048  |
| <b>F</b>    | 1,463  | 0,367  |
| <b>G</b>    | 1,690  | 0,699  |
| <b>I</b>    | 0,953  | 0,327  |

### 3.6. Diferenças comportamentais entre novas rainhas e novas operárias

Nós medimos a frequência dos comportamentos desempenhados pelas novas rainhas e novas operárias em sete das nove colônias submetidas ao teste de remoção de rainhas usando amostragem focal por grupo. Após a remoção das rainhas as fêmeas do grupo que vieram as novas rainhas receberam agressões de operárias (exceto colônias B e H), por provavelmente iniciarem desenvolvimento ovariano, no entanto, as fêmeas que se estabeleceram como novas rainhas apresentaram padrão comportamental diferente das fêmeas que emergiram no mesmo período e que se tornaram operárias (novas operárias). Nas colônias B e E as novas rainhas se agrupavam no favo, elevavam sutilmente e abriam as asas parcialmente (em forma de “V”) e geralmente curvavam o abdome para os indivíduos que se aproximavam, sejam outras novas rainhas ou operárias. Consideramos esse padrão comportamental como uma forma das novas rainhas mostrarem sua dominância para outras novas rainhas e para operárias e evitar agressões. O mesmo padrão comportamental foi observado em interações entre rainhas de *Metapolybia* e *P. occidentalis* (Forsyth, 1978) e em rainhas originais da colônia B, que passaram por um episódio de eliminação de rainhas por operárias, antes do teste de remoção de rainhas. Nas colônias H e I as novas rainhas não formavam grupos, mas esse comportamento também foi observado quando as novas rainhas caminhavam no favo, principalmente quando passavam lado a lado com outras, no entanto, nas colônias D, F e G esse padrão não foi observado.

Nas colônias onde todas as rainhas foram removidas (colônias B, D, E e F), nenhuma nova rainha desempenhou tarefas de operárias após a emergência (Fig. 9), exceto na colônia B, onde novas rainhas eram operárias mais velhas realizando tarefas na colônia antes da remoção

das rainhas. Nesta colônia, após o teste de remoção elas continuaram a desempenhar tarefas de operárias por um período de seis dias. Entretanto, a partir do sétimo dia ocorreu uma mudança no padrão comportamental dessas vespas e elas não mais atuaram como operárias. Como já mencionado, elas se agrupavam com asas semiabertas e curvam o abdome para outras vespas que se aproximavam e quando caminhavam no favo, recebiam “Worker dance” de operárias e elas respondiam geralmente curvando o abdome (Curv), como as outras novas rainhas da maioria das colônias (Fig. 10). Em contraste, nas colônias onde uma ou algumas rainhas não foram removidas (colônias G, H e I) novas rainhas continuaram ou começaram (recém-emergidas) a se comportar parcialmente como operárias, pois elas desempenhavam tarefas de construção, no entanto, recebiam worker dance (Rwd) e mordicar abdome (Rmordab) de operárias ou curvavam o abdome (Curv), comportamentos típicos de rainhas e novas rainhas (Fig. 9 e 11). A presença de uma ou algumas rainhas não removidas parece não ter inibido o desenvolvimento ovariano, no entanto, provavelmente inibiu comportamentalmente o completo estabelecimento dos grupos de novas rainhas nestas colônias. Esses resultados suportam o controle químico da reprodução. O baixo nível de feromônios produzidos por poucas rainhas não removidas pode ter promovido a baixa inibição do desenvolvimento ovariano e muitas fêmeas desenvolveram os ovários, como ocorreu nas colônias que apresentaram intermediárias. No entanto, o baixo nível de feromônios foi suficiente para manter parcialmente a inibição comportamental. Outra explicação é que tipos diferentes de componentes atuem na inibição do desenvolvimento ovariano e no desencadeamento dos comportamentos que tornem a recém-emergida uma operária ou uma rainha. Neste caso, como as recém-emergidas passam os primeiros dias após emergência, agrupadas com as rainhas nas periferias do ninho (observação pessoal), neste período de ociosidade de poucos dias (West-Eberhard, 1981), poucas rainhas seriam necessárias para essa inibição comportamental.

As diferenças comportamentais observadas entre novas rainhas e novas operárias, provavelmente são o resultado, e não a causa, de fêmeas da mesma geração de tornarem ou não novas rainhas, visto que, se não tivesse sido conduzido o experimento de remoção das rainhas originais nestas colônias, essas novas rainhas teriam se tornadas operárias. Se existe uma tendência pré-imaginal para recém-emergidas se tornarem ou não novas rainhas, não conseguimos detectar neste estudo. O contexto social parece mais provável, pois as primeiras recém-emergidas que emergiram após a remoção das rainhas foram mais prováveis de se estabelecerem com novas rainhas e manterem a supressão do desenvolvimento ovariano das subseqüentes recém-emergidas.

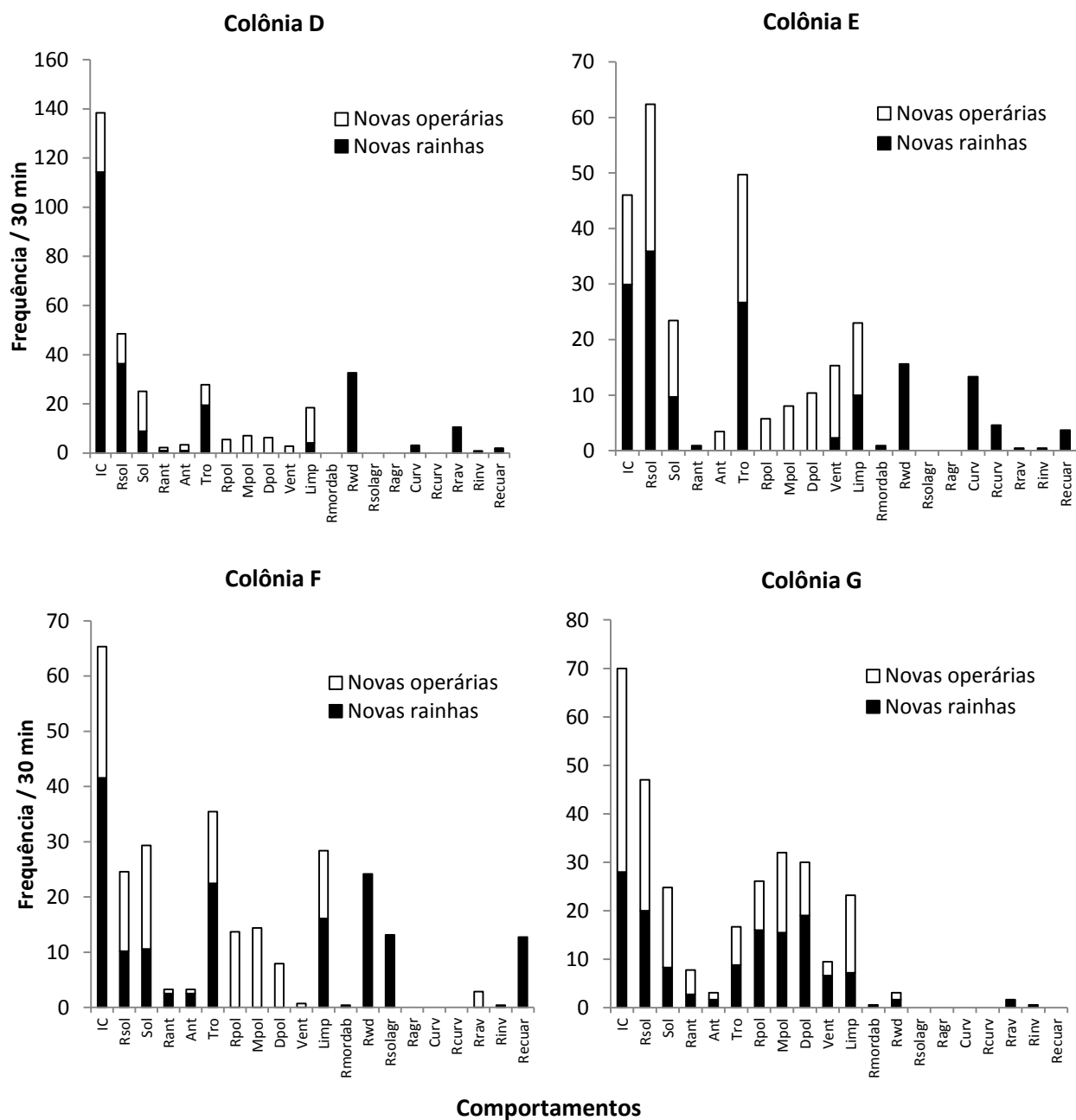


Figura 9. Frequência dos comportamentos desempenhados pelas novas rainhas e novas operárias de *Synoeca surinama* nas colônias que apresentaram emergência de fêmeas após a remoção das rainhas (IC= inspeção de célula, Rsol= receber solicitação, Sol= solicitar, Rant= receber antenação, Ant= antenação, Tro= trofalaxia, Rpol= receber polpa, Mpol= macerar polpa, Dpol= dividir polpa, Vent= ventilação, Limp= autolimpeza, Rmordab= receber mordiscar abdome, Rwd= receber “Worker dance”, Rsolagr= receber solicitação agressiva, Ragr= receber agressão, Curv= curvar o abdome, Rcurv= receber curvar o abdome, Rrav= receber rápida vibração, Rinv= receber investida, Recuar= recuar ou desviar).

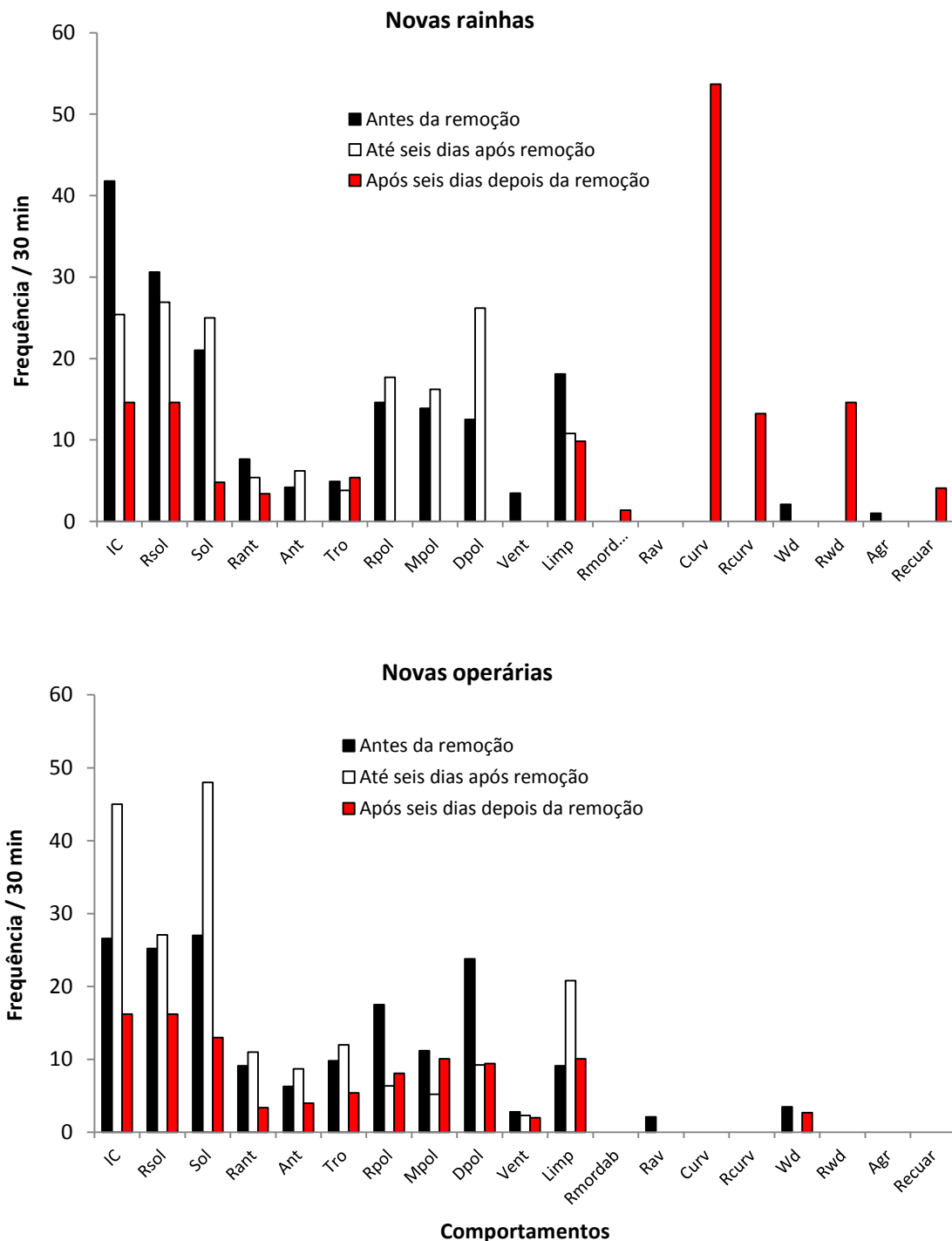


Figura 10. Frequência dos comportamentos desempenhados pelas novas rainhas e novas operárias antes e após a remoção das rainhas na colônia B de *Synoecca surinama* (IC= inspeção de célula, Rsol= receber solicitação, Sol= solicitar, Rant= receber antenação, Ant= antenação, Tro= trofalaxia, Rpol= receber polpa, Mpol= macerar polpa, Dpol= dividir polpa, Vent= ventilação, Limp= autolimpeza, Rmordab= receber morder o abdome, Rav= receber rápida vibração, Curv= curvar o abdome, Rcurv= receber curvar o abdome, Wd= “Worker dance”, Rwd= receber “Worker dance”, Agr= agressão, Recuar= recuar ou desviar).

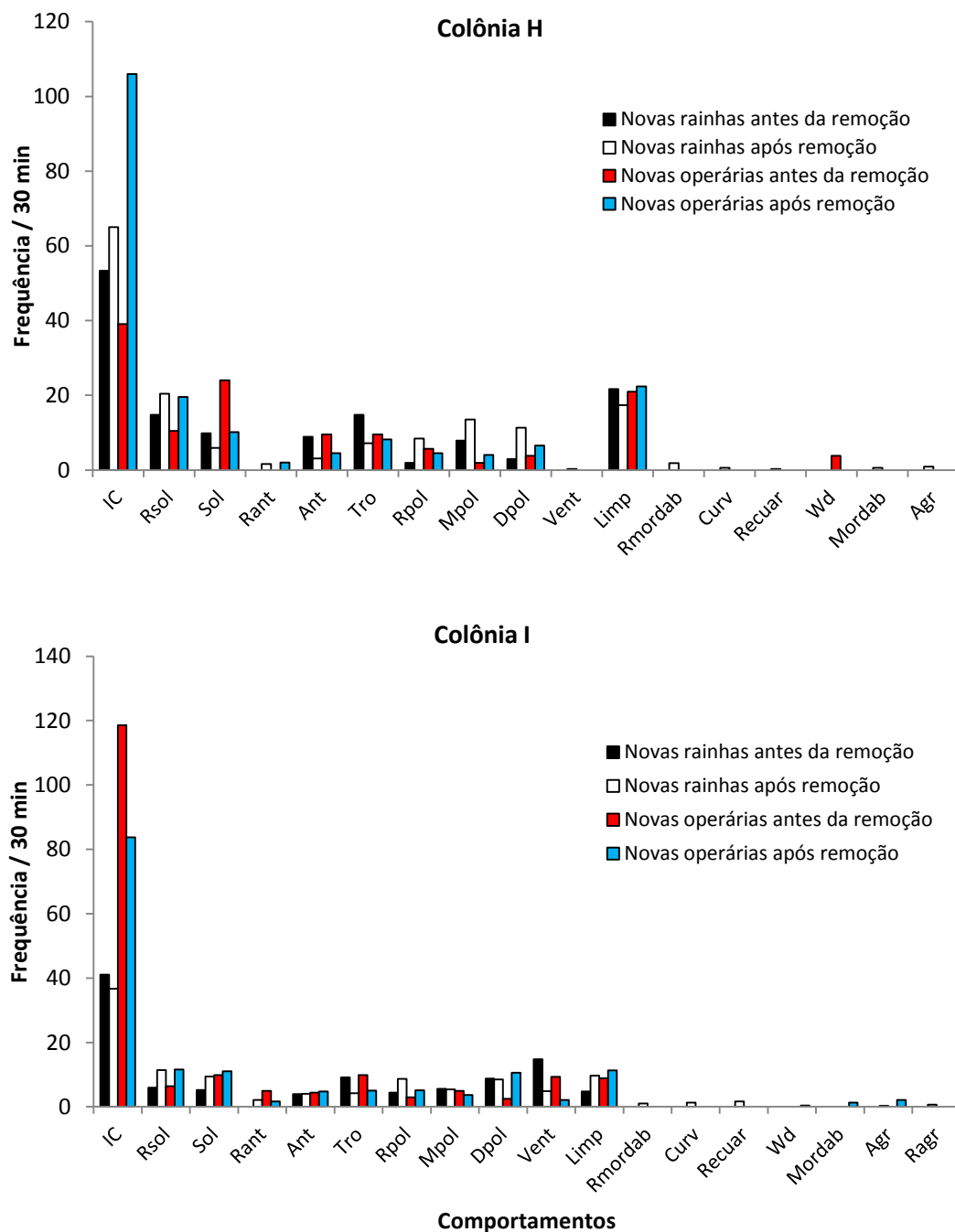


Figura 11. Frequência dos comportamentos desempenhados pelas novas rainhas e operárias antes e após a remoção das rainhas nas colônias H e I de *Synoeca surinama* (IC= inspeção de célula, Rsol= receber solicitação, Sol= solicitar, Rant= receber antenação, Ant= antenação, Tro= trofalaxia, Rpol= receber polpa, Mpol= macerar polpa, Dpol= dividir polpa, Vent= ventilação, Limp= autolimpeza, Rmordab= receber morder o abdome, Curv= curvar o abdome, Recuar= recuar ou desviar, Wd= “Worker dance”, Mordab= morder o abdome, Agr= agressão, Ragr= receber agressão).

### 3.7. Oviposições desempenhadas pelas novas rainhas

Oviposições desempenhadas por novas rainhas ocorreram nas colônias B, C e D. Contudo, foram observadas apenas na colônia D, pois nas colônias B e C as oviposições ocorreram no período após as observações. Nestas colônias, verificamos após a coleta uma alta porcentagem de novas rainhas inseminadas (47,6%, 100% e 79,5%, respectivamente), visto que foram as colônias com maior período transcorrido entre a remoção de rainhas e a coleta das colônias para dissecação (25, 97 e 64 dias, respectivamente) (Tab. 4). Nas outras colônias não observamos oviposições no período de observações e nenhuma nova rainha estava inseminada. Na colônia D a primeira oviposição foi observada 11 dias após a remoção das rainhas, por uma nova rainha não inseminada (coletada após a postura do ovo), com 11 óocitos maduros ou quase maduros (ovários D1). A partir desse dia, ocorreu um aumento do número de novas rainhas ovipondo. Nós coletamos uma amostra de 23 oviposições de novas rainhas e comparamos com 15 oviposições de rainhas originais desta mesma colônia, coletadas antes da remoção. Foram comparados os tempos de inspeção da célula, postura do ovo, tempo de lamber o ovo e vigilância e o número de vezes que a rainha ou nova rainha foi substituída por operária no comportamento de lamber o ovo e vigilância (Tab. 10). Para testar se uma oviposição bem sucedida necessita de experiência por parte da nova rainha, nós comparamos também o número de tentativas de inserir o abdome na célula por oviposição e o número de tentativas mal sucedidas de lamber o ovo, seja por sair sem lamber o ovo ou inserir a cabeça na célula errada no momento de lamber o ovo (Tab. 10).

O tempo de inspeção da célula foi similar para as rainhas e novas rainhas ( $t=0,32$ ;  $gl=36$ ,  $p=0,74$ ), porém, as novas rainhas gastaram mais tempo na postura do ovo ( $t=2,51$ ;  $gl=28,84$ ,  $p=0,01$ ) e nos comportamentos de lamber o ovo e vigilância ( $t=2,12$ ;  $gl=26,88$ ,  $p=0,04$ ). É comum em vespas sociais, fêmeas jovens ou com baixo desenvolvimento ovariano gastarem mais tempo com o metassoma inserido na célula antes de ovipositar um ovo, por exemplo, rainhas dominantes de *Polistes* gastam menos tempo que subordinadas ovipositando (West-Eberhard, 1986). O maior tempo gasto na vigilância do ovo pelas novas rainhas na colônia D pode ser uma forma de prevenir que eles sejam comidos por operárias, visto que a maioria dessas oviposições era de ovos não fertilizados, que produziriam machos, pois grande parte das novas rainhas ainda não estava inseminada nesta colônia. Em algumas espécies primitivamente eussociais uma fundadora vigia seu ovo após a oviposição para prevenir que outras fundadoras o coma (West-Eberhard, 1986), um comportamento que pode ter duração de mais de três horas em *M. aztecoides* (West-Eberhard, 1981). Em *S. surinama* ovos foram vistos sendo comidos apenas

por operárias (observação pessoal), sugerindo que competição entre rainhas por oofagia diferencial não ocorre nesta espécie. Um suporte para isso é que as rainhas foram mais frequentemente substituídas por operárias no comportamento de vigilância que as novas rainhas (Teste G;  $g=5,06$ ;  $gl=1$ ;  $p=0,02$ ).

As rainhas inseriam o abdome na célula na primeira tentativa, enquanto muitas novas rainhas não conseguiram na primeira tentativa e inspecionavam novamente (Soma de postos de Wilcoxon,  $p=0,01$ ). Além disso, as novas rainhas apresentaram uma maior frequência de tentativas mal sucedidas de lamber o ovo após postura (Teste G;  $g=3,80$ ;  $gl=1$ ;  $p<0,05$ ), o que sugere que novas rainhas vão adquirindo experiência no decorrer das sucessivas oviposições.

Tabela 10. Variáveis comportamentais relacionadas à oviposição das rainhas e novas rainhas na colônia D de *Synoecca surinama*.

| Grupo         | Inspeção da célula<br>Média $\pm$ DP<br>(seg) | Postura<br>Média $\pm$ DP<br>(seg) | Lamber o ovo e<br>Vigilância<br>Média $\pm$ DP<br>(seg) | Substituição da rainha na vigilância do ovo (%) | Tentativas de inserir o abdome na célula de postura<br>Média $\pm$ DP | Tentativas mal sucedidas de lamber o ovo após postura (%) |
|---------------|-----------------------------------------------|------------------------------------|---------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|
| Rainhas       | 46,93 $\pm$ 39,40                             | 118,66 $\pm$ 13,49                 | 1406 $\pm$ 962                                          | 40                                              | 1 $\pm$ 0                                                             | 6,5                                                       |
| Novas rainhas | 54,13 $\pm$ 78,49                             | 141,52 $\pm$ 40,39                 | 2730 $\pm$ 2624                                         | 6                                               | 1,43 $\pm$ 0,66                                                       | 33,5                                                      |

### 3.8. Rainhas inseminadas realizando funções de operárias

Rainhas realizando tarefas de operárias foi demonstrado por West-Eberhard (1978) em *M. aztecoides* e foram denominadas “rainhas temporárias” (aqui serão denominadas rainhas operárias, pois elas não foram vistas ovipositando). Neste estudo este fenômeno pouco comum, foi observado somente na colônia H. Nesta, após a dissecação das operárias no final das observações, verificamos que três fêmeas tinham ovários desenvolvidos e eram inseminadas. Comparando a média de oócitos maduros ou quase maduros (por rainha) das rainhas removidas, rainhas operárias e novas rainhas [média= 9,02 (N=46); 8,33 (N=3); 2,44 (N=9), respectivamente], verificamos que as rainhas operárias possuíam desenvolvimento ovariano e pigmentação compatível com as rainhas removidas (Teste U de Mann-Whitney,  $p=0,93$ ), porém, muito maior que das novas rainhas não inseminadas após teste de remoção (Teste U de Mann-Whitney,  $p=0,01$ ), sendo assim, é muito provável que sejam rainhas não removidas. Estas rainhas realizavam funções de operárias antes da remoção das rainhas, como receber, dividir e macerar polpa (Rpol, Dpol, Mpol, respectivamente) e construir (Const), mas não forrageavam e não foram vistas botando ovos (Ov) (Fig. 12). Esses comportamentos foram observados antes e depois do teste de remoção das rainhas. Essas rainhas operárias não realizavam nenhum comportamento típico de rainhas e não recebiam “Worker dance” (Rwd) de operárias antes do teste de remoção (Fig. 11), como as rainhas de todas as colônias (Fig. 4). Além disso, não desempenhavam “Worker dance” para rainhas. Desta forma, o sinal estímulo produzido pelas rainhas que liberava o comportamento “Worker dance” pelas operárias, não era produzido por estas rainhas operárias. No entanto, após o teste de remoção das rainhas, elas, apesar de continuarem a desempenhar tarefas de operárias, passaram a se comportar como as novas rainhas (Fig. 12), indicando que elas retiveram o potencial reprodutivo e poderiam estar esperando uma chance para se tornar rainhas novamente, como sugerido por West-Eberhard (1978). Chavarría (2013) observou essas rainhas operárias em *Metapolybia* e *Chartergellus* Bequaert, no entanto, em *Asteloeca*, que é proximamente relacionado à *Metapolybia* e *Synoeca* (Wenzel e Carpenter, 1994), elas não foram observadas (Nascimento et al., 2004), mas isso não descarta sua existência em *Asteloeca*, visto que este tipo de rainha é difícil de observar.

Nós verificamos que a colônia H possuía a maior proporção de rainhas em relação às outras colônias (0,22) (Tab. 2). Além disso, as rainhas removidas tinham baixa pigmentação do quinto esternito metassomal (P2), sugerindo que este grupo tinha sido recentemente estabelecido, pois no início das observações fazia apenas um mês que a colônia tinha iniciado a construção do

novo ninho após enxamear, migrado após a emergência de um grande número de indivíduos. Isto nos leva a inferir que estas rainhas operárias foram eliminadas da reprodução no estabelecimento do novo grupo de rainhas, devido ao excesso de rainhas e à falta de operárias para o estabelecimento do novo ninho e para não serem expulsas da colônia, assumiram funções de operárias (West-Eberhard, 1978). Operárias parecem controlar o número de rainhas surgindo na colônia, expulsando o excesso de rainhas surgindo e algumas passam atuar como operárias.

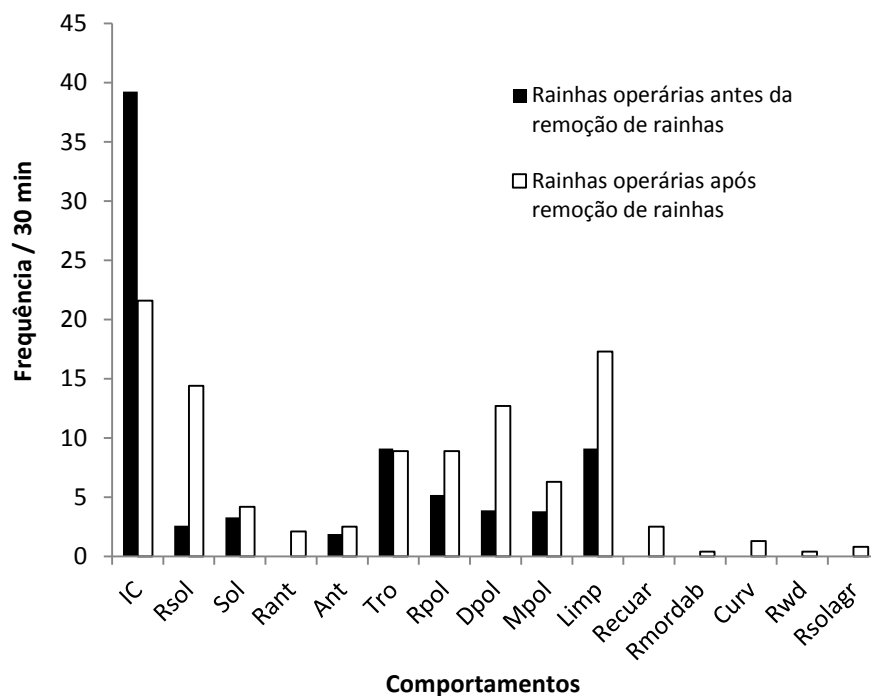


Figura 12. Frequência dos atos comportamentais mais frequentes das rainhas operárias da colônia H de *Synoecca surinama* (IC= inspeção de célula, Rsol= receber solicitação, Sol= solicitar, Rant= receber antenação, Ant= antenação, Tro= trofalaxia, Rpol= receber polpa, Mpol= macerar polpa, Dpol= dividir polpa, Vent= ventilação, Limp= autolimpeza, Recuar= recuar ou desviar, Rmordab= receber morder o abdome, Curv= curvar o abdome, Rwd= receber worker dance, Rsolagr= receber solicitação agressiva).

#### 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÕES

Nossos dados demográficos mostraram uma significativa correlação com as condições reprodutivas em *S. surinama*. O número médio de oócitos por rainha foi negativamente correlacionado com o número de rainhas, tendo uma mais significativa correlação com a razão rainhas/operárias na colônia. No entanto, o número de oócitos não foi correlacionado com a idade relativa das rainhas. O número de intermediárias foi correlacionado negativamente com o número de rainhas presentes e mais fortemente com a razão rainhas/operárias. Sendo assim, a presença delas parece estar relacionada ao baixo número de rainhas, em colônias próximas da produção de um novo grupo de rainhas.

Após a remoção das rainhas, em todas as colônias, um grupo de fêmeas desenvolveu seus ovários (novas rainhas), que foi mais desenvolvido que nas intermediárias encontradas em algumas colônias com baixa razão rainhas/operárias. No entanto, o desenvolvimento ovariano em novas rainhas foi correlacionado negativamente com o número de rainhas não removidas em algumas das colônias.

No período em que o teste de remoção de rainhas foi realizado, nas colônias que apresentavam emergência de fêmeas, os grupos de novas rainhas foram constituídos, na maioria das colônias, pelas primeiras recém-emergidas. No entanto, naquelas que não apresentaram emergência no período das observações, o grupo de novas rainhas veio das operárias, não forrageiras, mais jovens presentes na colônia, exceto em uma das colônias, onde a maioria das novas rainhas possuía alta pigmentação nas bordas do quinto esternito metassomal (P4), sendo que um grande número de fêmeas com mais baixa pigmentação (P3), não desenvolveu seus ovários.

Nas colônias onde todas as rainhas foram removidas, nenhuma nova rainha foi vista desempenhando tarefas de operárias, como comportamentos relacionados à construção do ninho. Mesmo na colônia B, que não apresentava emergência de fêmeas, o grupo de novas rainhas continuou a se comportar como operárias por seis dias, no entanto, mudaram o padrão comportamental a partir desse período e não mais desempenharam tarefas de operárias, passando a se comportar como as rainhas removidas. Em contraste, nas colônias onde uma ou algumas rainhas não foram removidas, o grupo de novas rainhas iniciaram (recém-emergidas) ou continuaram a atuar como operárias (operárias mais velhas), mas desempenhando também alguns comportamentos típicos de rainhas como receber “Worker dance” (Rwd) de operárias e curvar o abdome (Curv).

O nível de agressões aumentou nas colônias após a remoção das rainhas. As operárias agrediam recém-emergidas nas colônias que apresentavam recém-emergidas e operárias se

agrediam nas colônias não apresentando emergência de fêmeas, numa claro e agonístico conflito por direitos reprodutivos. A maioria das novas rainhas em todas as colônias, veio do grupo das recém-emergidas que se encontravam na colônia no período crítico de agressões. Nós consideramos que as agressões são uma forma de controle das operárias para evitar a produção de um maior número de novas rainhas do que seria ótimo para a colônia.

Após o estabelecimento dos grupos de novas rainhas, as subsequentes emergentes não apresentaram desenvolvimento ovariano e desempenhavam tarefas de operárias.

Nossos resultados são consistentes com a determinação de castas pós-imaginal e com a totipotência de fêmeas recém-emergidas em *S. surinama*, como já mostrado na literatura, no entanto, nós verificamos que operárias mais velhas também são totipotentes, podendo desenvolver os ovários e constituir um novo grupo de rainhas funcionais na ausência de rainhas originais, mostrando que as castas são mais flexíveis que anteriormente pensado. No entanto, nossos resultados contrastaram em relação aos mecanismos e interações anteriormente propostos, envolvidos no estabelecimento do novo grupo de rainhas e manutenção da supressão em operárias.

Não encontramos evidências de um controle reprodutivo baseado em agressões ou que agressões de rainhas ou operárias sobre fêmeas recém-emergidas leva a supressão do desenvolvimento ovariano em colônias com rainhas, como sugerido na literatura. Em contraste, apesar de não conduzirmos bioensaios, nós mostramos evidências indiretas que são suportes para um controle reprodutivo químico, como verificado em sociedades avançadas e evidenciado para algumas espécies de sociedades primitivamente eussociais:

- Operárias reconheceram rainhas e fêmeas em desenvolvimento ovariano, provavelmente por liberação de componentes químicos específicos sobre a superfície da cutícula gastral por essas fêmeas;

- Novas rainhas foram as fêmeas que mais receberam agressões;

- Recém-emergidas não receberam agressões e não desenvolveram seus ovários na presença de rainhas originais;

- Operárias mais velhas, não forrageiras, também apresentaram totipotência e não observamos interações entre elas que expliquem a mútua supressão;

- Ausência de desenvolvimento ovariano em fêmeas emergidas após o estabelecimento do novo grupo de rainhas, sugerindo que novas rainhas reestabeleceram a supressão ovariana em fêmeas recém-emergidas quimicamente, visto a ausência de interações agonísticas entre estas recém-emergidas e operárias ou novas rainhas;

- A ocorrência de intermediárias em colônias com baixo número de rainhas, sugerindo que a baixa razão rainhas/operárias diminui a supressão ovariana em operárias jovens e intermediárias surgem na colônia;

- Uma ou mesmo algumas rainhas não removidas não mantiveram a supressão ovariana em recém-emergidas ou em operárias, sugerindo que em colônias com muitas rainhas com baixo desenvolvimento ovariano, o poder de supressão química por rainha é mais baixo que em colônias com poucas rainhas com maior desenvolvimento ovariano.

Não verificamos nenhuma tendência pré-imaginal morfométrica entre as novas rainhas e novas operárias (fêmeas da mesma geração das novas rainhas). No entanto, nós encontramos baixa discriminação de castas entre rainhas e operárias em duas das cinco colônias, com operárias ligeiramente maiores. Como as rainhas formam um grupo de mesma idade, pequenas diferenças morfométricas podem surgir devido a variações nos fatores ambientais, como abundância ou escassez de alimento nos períodos larvais.

Em um modelo hipotético, um novo grupo de rainhas teria muitas rainhas com ovários pouco desenvolvidos. No decorrer do ciclo, por conta das sucessivas oviposições, as rainhas desenvolveriam seus ovários, produzindo maiores quantidades de feromônios de supressão por rainha. O excesso de feromônios desencadeariam comportamentos agressivos de operárias em rainhas, constituindo os episódios de eliminação de rainhas, resultando na diminuição do número de rainhas no decorrer do ciclo (oligoginia cíclica). Com um reduzido número de rainhas, a supressão química das rainhas diminuiria e intermediárias surgiriam na colônia. Na ausência ou muito baixo número de rainhas, um novo grupo de novas rainhas surgiria, vindo do grupo de recém-emergidas ou de operárias mais jovens não forrageiras, dependendo das condições da colônia na orfandade. Novamente, operárias controlariam o número de rainhas surgindo a partir de agressões e eliminações, sendo que algumas das novas rainhas eliminadas poderiam desempenhar tarefas de operárias, esperando uma nova chance de se tornarem rainhas funcionais. Desta forma, o ciclo da produção de rainhas seria independente do ciclo de produção de operárias e machos, bem como do tamanho e condições demográficas da colônia.

Como conclusão geral da tese, o controle da reprodução e supressão ovariana em operárias em *S. surinama* é realizado pelas rainhas, provavelmente a partir do uso de sinalização química ou feromônios, que inibem o desenvolvimento ovariano em operárias e desencadeiam comportamentos agressivos em operárias mais velhas, para o controle do número de rainhas na colônia, pois não encontramos sustentação para um modelo de controle reprodutivo baseado unicamente em interações comportamentais agressivas ou ritualizadas, realizado principalmente pelo controle coletivo das operárias mais velhas. A partir dos resultados obtidos, podemos concluir também que:

- Além das fêmeas recém-emergidas, operárias mais velhas não forrageiras também são totipotentes, podendo apresentar desenvolvimento ovariano e constituir o novo grupo de rainhas em colônias não apresentando rainhas ou recém-emergidas;

- Operárias mais velhas exercem seu controle coletivo agredindo e expulsando o excesso de novas rainhas surgindo;

- Operárias reconhecem rainhas e fêmeas em desenvolvimento ovariano, provavelmente a partir de componentes liberados por essas fêmeas pelo gaster, pois operárias tocavam com o aparelho bucal e mordiscavam o abdome delas antes de agredi-las, comportamento não observado entre outros indivíduos;

- O grupo de novas rainhas, provavelmente, reestabelecem e mantêm, quimicamente, a supressão do desenvolvimento ovariano nas subsequentes recém-emergidas e operárias;

- A ocorrência de intermediárias em *S. surinama* esta relacionada à baixa razão rainhas/operárias em relação às colônias sem intermediárias, provavelmente por conta da baixa supressão química imposta pelo reduzido número de rainhas;

- O poder de supressão por rainha do desenvolvimento ovariano em operárias e recém-emergidas, provavelmente está relacionado ao nível de desenvolvimento ovariano;

- Não existe nenhuma tendência pré-imaginal morfométrica na determinação de quais fêmeas se tornam novas rainhas.

Embora interações comportamentais sejam importantes na manutenção das sociedades de Epiponini, é provável que um controle reprodutivo químico ocorra neste grupo, sendo a dominância social das operárias e a dominância reprodutiva das rainhas, no entanto, nada é conhecido sobre como as operárias distinguem fêmeas em desenvolvimento ovariano ou sobre o estímulo exibido por essas fêmeas que desencadeia as agressões contra elas. Muitas questões precisam ser respondidas a respeito da natureza, fonte e ação desses supostos feromônios, se são inibidores ou sinais honestos na supressão de operárias, que foge do escopo desse estudo, constituindo uma importante e ativa área de pesquisa em Epiponini.

## 5. REFERÊNCIAS

- ALTMANN, J. 1974. Observational study of behavior: sampling methods. *Behaviour, Leiden*, 40: 227-267.
- AYASSE, M.; PAXTON, R. & TENGÖ, J. 2001. Mating behavior and chemical communication in the order Hymenoptera. *Annual Review of Entomology*, 46: 31–78.
- BHADRA, A., MITRA, A., SUIATA, DESHPANDE, S. A., CHANDRASEKHAR, K., NAOIK, D. G., HEFETZ, A. & GADAGKAR, R. 2010. Regulation of reproduction in the primitively eusocial wasp *Ropalidia marginata*: on the trail of the queen pheromone. *J.Chem. Ecol*, 36: 424–431.
- CARPENTER, J. M. & MARQUES, O. M. 2001. Contribuição ao estudo dos vespídeos do Brasil (Insecta, Hymenoptera, Vespoidea, Vespidae) [CD-ROM]. Cruz das Almas – BA, Brasil. Universidade Federal da Bahia, Escola de Agronomia, Departamento de Fitotecnia / Mestrado em Ciências Agrárias. *Série Publicações Digitais*, 2.
- CHAVARRÍA, L. H. P. 2013. *Sobre a produção e seleção de rainhas em diferentes fases do ciclo colonial em Epiponini (Vespidae: Polistinae)*. Tese de Doutorado, Departamento de Biologia, FFCLRP- USP. Ribeirão Preto SP.- USP, 124 p.
- CHAVARRÍA, L. H. P. & NOLL, F. B. 2014. Males of Neotropical social wasps (Vespidae, Polistinae, Epiponini) recognize colonies with virgin females. *Journal of Hymenoptera Research*, 38: 135–139.
- COWAN, D.P. 1991. The solitary and presocial Vespidae. In: Ross KG, Matthews RW (Eds). *The social biology of wasps*. Cornell University, Ithaca, 33–73.
- DAPPORTO, L., SANTINI, A., DANI, F. R. & TURILLAZZI, S. 2007. Workers of a *Polistes* paper wasp detect the presence of their queen by chemical cues. *Chem. Senses*, 32: 795–802.
- DOWNING, H.A. 1991. The function and evolution of exocrine glands. In: Ross KG, Matthews RW (Eds). *The social biology of wasps*. Cornell University, Ithaca, 540–569.

FORSYTH, A. B. 1978. Studies on the behavioral ecology of polygynous social wasps. Ph. D. Dissertation, harvard. University, 226p.

GADAGKAR, R., VINUTHA, C., SHANUBHOGUE, A. & GORE, A. P. 1988. Pre-imaginal biasing of caste in a primitively eusocial insect. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 233: 175-189.

GAMBOA, G.J., REEVE, H.K. & PFENNIG, D. 1986. The evolution and ontogeny of nestmate recognition in social wasps. *Annual Review of Entomology*, 31: 431–454.

GREENE, A. 1991. *Dolichovespula* and *Vespula*. In: Ross KG, Matthews RW (Eds). *The social biology of wasps*. Cornell University, Ithaca, 263–305.

HAMILTON, W. D. 1964. The genetical evolution of social behaviour. *II. J. Theor.Biol*, 7:17-52.

HASTINGS, M. D., QUELLER, D. C., EISCHEN, F. & STRASSMANN, J. E. 1998. Kin selection, relatedness and worker control of reproduction in a large-colony Epiponine wasp, *Brachygastra mellifica*. *Behavioral Ecology*, 9 (6): 573-581.

HERMAN, R. A., QUELLER, D. C. & STRASSMANN, J. E. 2000. The role of queens in colonies of the swarm-founding wasp *Parachartegus colobopterus*. *Animal Behaviour*, 59: 841-848.

HOLMAN, L., JORGENSEN, C. G., NIELSEN, J., & D'ETTORRE, P. 2010. Identification of an ant queen pheromone regulating worker sterility. *Proc. Biol. Sci.*, 277: 3793–3800.

HUGHES, C. R., BECK, M. O. & STRASSMANN, J. E. 1987. Queen succession in the social wasp, *Polistes annularis*. *Ethology*, 76: 124-132.

HUNT, J. H. 1999. Trait mapping and salience in the evolution of eusocial vespid wasps. *Evolution*, 53: 225–237.

HUNT, J. H., SCHMIDT, D.K., MULKEY, S. S. & WILLIAMS, M. A. 1996. Caste dimorphism in *Epipona guerini* (Hymenoptera: Vespidae): Further evidence for larval determination. *J. Kansas Entomol. Soc*, 69(4): 362–369.

JEANNE, R. L. 1972. Social biology of the Neotropical wasp *Mischocyttarus drewseni*. *Bull. Mus. Comp. Zool. Harvard Univ.*, 144: 63-150.

JEANNE, R. L. 1980. Evolution of social behavior in the Vespidae. *Annual Review of Entomology*, 25: 371-395.

JEANNE, R. L. 1981a. Chemical communication during swarm emigration in the social wasp *Polybia sericea* (Olivier). *Animal Behaviour*, 29: 102-113.

JEANNE, R. L. 1981b. Alarm recruitment, attack behavior, and the role of the alarm pheromone in *Polybia occidentalis* (Hymenoptera: Vespidae). *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 9: 143-148.

JEANNE, R. L. 1991. The swarm-founding Polistinae. In: Ross KG, Matthews RW (Eds). *The social biology of wasps*. Cornell University, Ithaca, 191-231.

JEANNE, R.L., GRAF, C.A. & YANDELL, B.S. 1995. Non-size-based morphological castes in a social insect. *Naturwissenschaften*, 82: 296–298.

KARDILE, S. P. & GADAGKAR, R. 2002. Docile sitters and active fighters in paper wasps: A tale of two queens. *Naturwissenschaften*, 89: 176–179.

KARSAI, I. & WENZEL, J.W. 1998. Productivity, individual-level and colony-level flexibility, organization of work as a consequence of colony size. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, USA 95: 8665–8669.

KELSTRUP, H. C. 2012. *The endocrinology and evolution of tropical social wasps: from casteless groups to high societies*. Ph.D. thesis, University of Washington, Biology Department, 182 p.

KELSTRUP, H. C., HARTFELDER, K., NASCIMENTO, F. S. & RIDDIFORD, L. M. 2014. The role of juvenile hormone in dominance behavior, reproduction and cuticular pheromone signaling in the caste-flexible epiponine wasp, *Synoeca surinama*. *Frontiers in Zoology*, 11:78.

KOCHER, S. D. & GROZINGER, C. M. 2011. Cooperation, conflict, and the evolution of queen pheromones. *J Chem Ecol*, 37: 1263–1275.

LANDOLT, P. J., AKRE, R. D & GREENE, A. 1977. Effects of colony division on *Vespula atropilosa* (Sladen) (Hymenoptera: Vespidae). *J. Kansas Entomol. Soc.* 50: 135-147.

LE CONTE, Y. & HEFETZ, A. 2008. Primer pheromones in social hymenoptera. *Annu. Rev. Entomol.* 53: 523–542.

MATEUS, S. 2005. *Análise dos comportamentos envolvidos na organização social e no processo de enxameio de Parachartergus fraternus* (Hymenoptera, Polistinae, Epiponini). Dissertação de Doutorado, Departamento de Biologia, FFCLRP-USP. Ribeirão Preto-SP. –USP, 160 p.

MATEUS, S. 2011. Observations on forced colony emigration in *Parachartergus fraternus* (Hymenoptera: Vespidae: Epiponini): New nest site marked with sprayed venom. *Psyche*, 2011: 149-157.

MATEUS, S., NOLL, F. B. & ZUCCHI, R. 1997. Morphological caste differences in neotropical swarm-founding polistinae wasps: *Parachartergus smithii* (Hymenoptera: Vespidae). *Journal of the New York Entomological Society*, 105(3–4): 129–139.

MATSUURA, M. 1984. Comparative biology of the five Japanese species of the genus *Vespa* (Hymenoptera, Vespidae). *Bull. Fac. Agric. Mie Univ.*, 69: 1-131.

NASCIMENTO, F. S., TANNURE-NASCIMENTO, I. & ZUCCHI, R. 2004. Behavioral mediators of cyclical oligogyny in the Amazonian swarm-founding wasp *Asteloeca ujhelyii* (Vespidae, Polistinae, Epiponini). *Insectes Sociaux*, 51: 17-23.

NAUMANN, M.G. 1970. The nesting behavior of *Protopolybia pumila* (de Saussure, 1863) (Hymenoptera: Vespidae) in Panama. PhD. thesis, University of Kansas, Lawrence.

NODA, S. C. M., SHIMA, S. N. & NOLL, F. B. 2003. Morphological and physiological caste differences in *Synoeca cyanea* (Hymenoptera, Vespidae, Epiponini) according to the ontogenetic development of the colonies. *Sociobiology*, 41: 547-570.

NOLL, F.B., MATEUS, S. & ZUCCHI, R. 1996. Morphological caste differences in neotropical swarm-founding Polistinae wasps V: *Protopolybia exigua exigua* (Hymenoptera, Vespidae). *Journal of the New York Entomological Society*, 104: 62–69.

NOLL, F. B. & ZUCCHI, R. 2000. Increasing caste differences related to life cycle progression in some neotropical swarm-founding polygynic wasps (Hymenoptera: Vespidae: Epiponini). *Ethol. Ecol. Evol.*, 12(1): 43–65.

NOLL, F. B. & ZUCCHI, R. 2002. Castes and the influence of the colony cycle in swarm founding polistine wasp (Hymenoptera, Vespidae, Epiponini). *Insectes sociaux*. 48: 01-13.

NOLL, F. B., WENZEL, J. W. & ZUCCHI, R. 2004. Evolution of caste in Neotropical swarm-founding wasps (Hymenoptera: Vespidae; Epiponini). *American Museum Novitates*, Number 3467, 24 pp.

NOLL, F.B. & WENZEL, J. 2008. Caste in the swarming wasps: “queenless” societies in highly social insects. *Biological Journal of the Linnean Society*, 93: 509-522.

PARDI, L. 1948. Dominance order in *Polistes* wasps. *Physiol. Zool.*, 21: 1:13.

PLATT, T. G., QUELLER, D. C. & STRASSMANN, J. E. 2004. Aggression and worker control of caste fate in a multiple-queen wasp, *Parachartergus colobopterus*. *Animal Behaviour*, 67: 1-10.

QUELLER, D.C., STRASSMANN, J.E., SOILS, C.R., HUGHES, C.R. & DELOACH, D.M. 1993. A selfish strategy of social insect workers that promotes social cohesion. *Nature*, 365: 639-641.

QUELLER, D. C., PETERS, J. M., SOILS, C. R. & STRASSMANN, J. E. 1997. Control of reproduction in social insect colonies: individual and collective relatedness preferences in the paper wasp, *Polistes annularis*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 40: 3–16.

QUELLER, D. C. & STRASSMANN, J. E. 1998. Kin selection and social insects. *Bioscience*, 48: 165–75.

- RATNIEKS, F. L. W. 1988. Reproductive harmony via mutual policing by workers in eusocial Hymenoptera. *Am. Nat.*, 132 :217–36.
- REEVE, H.K. 1991. *Polistes*. In: Ross KG, Matthews RW (Eds). *The social biology of wasps*. Cornell University, Ithaca, 99–148.
- REEVE, H. k. & GAMBOA, G. J. 1983. Colony activity integration in primitively eusocial wasps: the role of the queen (*Polistes fuscatus*, Hymenoptera: Vespidae). *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 13: 63-74.
- RICHARDS, O. W. 1971. The biology of the social wasps (Hymenoptera: Vespidae). *Biological Reviews*, 46: 483-528.
- RICHARDS, O.W. 1978. The social wasps of the americas, excluding the Vespinae, British Museum (Natural History), London : British Museum (Natural History), VII + 580 pp.
- RICHARDS, O. W. & RICHARDS, M. J. 1951. Observations on the social wasps of South America (Hymenoptera, Vespidae). *Transactions of the Royal Entomological Society of London*, 102: 1-170.
- RÖSELER, P. F. 1991. Reproductive competition during colony establishment. In: Ross KG, Matthews RW (Eds). *The social biology of wasps*. Cornell University, Ithaca, 309–335.
- SAKAGAMI, S. F., ZUCCHI, R., YAMANE, S., NOLL, F.B. & CAMARGO,M.F. 1996. Morphological caste differences in *Agelaia vicina* the neotropical swarm-founding polistine wasp with the largest colony size among social wasps (Hymenoptera: Vespidae). *Sociobiology*, 28: 1–17.
- SHIMA, S. N., NOLL, F. B., ZUCCHI, R. & YAMANE, S. 1998. Morphological caste differences in the neotropical swarm-founding polistine wasps IV. *Pseudopolybia vespiceps*, with preliminary considerations on the role of intermediate females in social organization of the Epiponini (Hymenoptera, Vespidae). *Journal of Hymenoptera Research*, 7: 280–295.
- SLEDGE, M. & BOSCARO, T. S. 2001. Cuticular hydrocarbons and reproductive status in the social wasp *Polistes dominulus*. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 49: 401–409.

SPRADBERY, J. P. 1991. Evolution of queen number and queen control. In: Ross KG, Matthews RW (Eds). *The social biology of wasps*. Cornell University, Ithaca, 336–388.

STRASSMANN, J. E. 1983. Nest fidelity and group size among foundresses of *Polistes annularis* (Hymenoptera: Vespidae). *J. Kansas Entomol. Soc.*, 56: 621-634.

STRASSMANN, J. E., QUELLER, D. C., SOLIS, C. R. & HUGHES, C. R. 1991. Relatedness and queen number in the neotropical wasp, *Parachartergus colobopterus*. *Anim. Behav.* 42: 461-470.

STRASSMANN, J. E., GASTREICH, K. R., QUELLER, D. C. & HUGHES, C. R. 1992. Demographic and genetic evidence for cyclical changes in queen number in a neotropical wasp, *Polybia emaciata*. *The American Naturalist*, 140: 363- 372.

STRASSMANN, J. E., SOLIS, C. R., HUGHES, C. R., GOODNIGHT, K. F. & QUELLER, D. C. 1997. Colony life history and demography of a swarm founding social wasp. *Behav.Ecol. & Sociobiol*, 40: 71-77.

STRASSMANN, J. E., GOODNIGHT, K. F., KLINGLER, C. J. & QUELLER, D. C. 1998. The genetic structure of swarms and the timing of their production in the queen cycles of neotropical wasps. *Molecular Ecology*, 7: 709-718.

STRASSMANN, J. E., SULLENDER, B. W. & QUELLER, D. C. 2002. Caste totipotency and conflict in a large-colony social insect. *Proc. R. Soc. Lond B*, 269 : 263- 270.

TANNURE-NASCIMENTO, I. C., NASCIMENTO, F. S. & ZUCCHI, R. 2008. The look of royalty: visual and odour signals of reproductive status in a paper wasp. *Proc. R. Soc. B*, 275: 2555–2561.

TURILLAZZI, S. 1991. The Stenogastrinae. In: Ross KG, Matthews RW (Eds). *The social biology of wasps*. Cornell University, Ithaca, 74–98.

WENZEL, J. W. & CARPENTER, J. M. 1994. Comparing methods: adaptive traits and tests of adaptation. In: P. Eggleton and R. I. Vane-Wright (editors), *Phylogenetics and ecology*: 79–101. London: Academic Press.

WEST-EBERHARD, M. J. 1973. Monogyny in "polygynous" social wasps. *Proc. 7th Int. Cong. Int. Union Study Soc. Insects*, pp. 396-403.

WEST-EBERHARD, M. J. 1977. The establishment of reproductive dominance in social wasp colonies. *Proc. 8Th Int. Cong. Int. Union Study Soc. Insects*, pp. 223-227.

WEST-EBERHARD, M. J. 1978. Temporary queens in *Metapolybia* wasps: nonreproductive helpers without altruism? *Science*, 200: 441-443.

WEST-EBERHARD, M. J. 1981. Intragroup selection and the evolution of insect societies. In: Alexander, R. D. & Tinkle, W. (eds.), *Natural Selection and Social Behavior*, Chiron, Concord, MA, pp. 3–17.

WEST-EBERHARD, M. J. 1982. The nature evolution of swarming in tropical social wasps. In: Jaisson P (Ed) *Social Insects in the Tropics*. Univ. Paris-Nord, Paris, 97–128.

WEST-EBERHARD, M. J. 1986. Dominance relations in *Polistes Canadensis* (L.), a tropical social wasp. *Monitore zool. Ital*, 20: 263-281.

## ***Capítulo 2***

---

Sobre o Acasalamento e Comportamentos de Machos em  
*Synoeca surinama* (Vespidae; Polistinae: Epiponini)

## RESUMO

Em estudos sobre vespas sociais, machos recebem pouca atenção, talvez pelo curto período que permanecem no ninho, por conta de serem agredidos e frequentemente expulsos. A mais provável explicação para as agressões é que machos contribuem pouco para a manutenção da colônia, sendo expulsos para reduzir adicionais custos. Em Epiponini, muito pouco é conhecido sobre o comportamento dos machos e muito menos sobre estratégias de acasalamento. Neste estudo nós mostramos que maiores colônias de *Synoeca surinama* são mais prováveis de produzirem machos, independente do número de rainhas. Nas três colônias produzindo machos, eles permaneciam a maior parte do tempo nas periferias do ninho com rainhas e fêmeas recém-emergidas e raramente caminhavam no favo para obterem recursos por trofalaxia com operárias ou larvas, no entanto, a permanência deles no ninho foi de no máximo sete dias, sendo expulsos por operárias a partir de agressões ou saíam por si mesmos. Em uma das colônias, que apresentava novas rainhas ovipondo, observamos a formação de agregações de machos estrangeiros, sugerindo que eles foram atraídos para o ninho por componentes voláteis de longo alcance liberados pelas novas rainhas. Alguns machos pousavam no favo, mas eram expulsos por agressões de operárias que não os reconheciam como membros da colônia, possivelmente por não possuírem os mesmos sinais químicos. Alguns pousavam e não eram percebidos de imediato, assim, caminhavam pelo favo em direção a uma nova rainha virgem e tentavam copular, montando e tentando unir suas genitálias, mostrando que o acasalamento ocorre dentro do ninho. Nesta colônia, metade das novas rainhas foi inseminada, o que não foi observado nas outras duas colônias produzindo machos, sugerindo que elas foram inseminadas pelos machos das agregações.

## ABSTRACT

In studies of social wasps, males receive little attention, perhaps by the short period they remain in the nest, on account of being attacked and often expelled. The most likely explanation for the aggression is that males contribute little to the maintenance of the colony, being expelled to reduce additional costs. In Epiponini, very little is known about the behavior of males and even less on mating strategies. In this study we show that larger colonies of *Synoeca surinama* are more likely to produce males, regardless of the number of queens. The three colonies producing males they remained mostly on the periphery of the nest with queens and newly emerged females and rarely walked in the comb to obtain resources through trophallaxis with workers or larvae, however, their permanence in the nest was a maximum of seven days, being expelled by workers for attacks or to leaved for themselves. In one of the colonies, which had new egg-laying queens, we observed the formation of aggregations of foreign males, suggesting that they were attracted to the nest by long-range volatile components released by new queens. Some males landed on comb, but theybwere driven out by aggression from workers other than those recognized as members of the colony. Some landed and they were not noted immediately, so they walked by comb toward a new virgin queen and tried to copulate, riding and trying to unite their genitals, suggesting that mating occurs within the nest. In this colony half the new queens was inseminated, which was not observed in the other two colonies producing males, suggesting that they were inseminated by males of the aggregations.

## 1. INTRODUÇÃO

Estudos sobre vespas sociais são geralmente focados em fêmeas: rainhas, que são responsáveis pela reprodução e operárias, pela manutenção da colônia. Machos recebem pouca atenção, talvez pelo curto período que permanecem nos ninhos na maioria das espécies (West-Eberhard, 1969; Jeanne e Castellón, 1980; Gadagkar, 1991), pois frequentemente são atacados por fêmeas e eles respondem de uma forma submissa (O'Donnell, 1999), acabando por serem expulsos do ninho (West-Eberhard 1969, Kasuya 1983). A mais provável explicação para as agressões é que machos contribuem muito pouco para a manutenção da colônia e altera o balanço nutricional nestas, assim, são expulsos para reduzir adicionais custos (Kasuya, 1983; Suzuki, 1986). Nas vespas sociais neotropicais da tribo Epiponini, machos são produzidos em colônias com muitas rainhas (Queller et al., 1993), um resultado da teoria da divisão da razão sexual (Boomsma e Grafen, 1991; Pamilo, 1991).

Uma grande diversidade de estratégias de acasalamento é observada em Hymenoptera. Vespinae e Polistinae de fundação independente são conhecidos possuir feromônios sexuais produzidos por fêmeas para atrair machos e estimular o comportamento de cópula (Downing, 1991) e feromônios de machos para marcar territórios (Landolt et al., 1998). Em muitas espécies machos marcam território ou outros pontos esfregando o abdome no substrato para atrair ou interceptar fêmeas voando, para acasalar, sugerindo que glândulas externas produzem feromônios (West-Eberhard, 1982; Post e Jeanne, 1983; Reed e Landolt, 1991). Alcock e colaboradores (1978) sugerem que machos de abelhas *Apis* Linnaeus patrulham ou esperam fêmeas em certos locais e machos de Meliponini formam agregações próximo a ninhos ativos que possuem jovens rainhas virgens (Cortopassi-Laurino, 2007). Em Epiponini, muito pouco é conhecido sobre o comportamento dos machos dentro e fora do ninho e muito menos sobre estratégias de acasalamento. Agregação de machos distante do ninho foi observada em *Polybia sericea* (Olivier) (West-Eberhard, 1982) e em *P. occidentalis* (Jeanne, 1991) e mais recentemente Chavarría e Noll (2014) observaram machos de *Chartergellus communis* Richards tentando entrar no ninho com fêmeas virgens, provavelmente para copular, no entanto, o acasalamento *in situ* nunca foi observado. Nós fornecemos o mais completo estudo comportamental sobre machos para uma espécie de Epiponini e descrevemos pela primeira vez o comportamento de cópula dentro do ninho.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Nós observamos comportamentos de machos de *S. surinama* em três colônias submetidas à remoção de rainhas, para investigar a produção de novas rainhas (Tab. 1). Nós observamos de duas a três horas diárias, em fazendas próximas ao município de Indaiatuba, Estado de São Paulo, Brasil (19° 59' S; 50° 18' O). O envelope dos ninhos foi removido parcialmente para estimular atividades de construção e forrageio. A maioria das rainhas e operárias foram marcadas com tinta de secagem rápida, de acordo com as tarefas desempenhadas. Uma semana após o início das observações todas as rainhas e indivíduos não marcados foram removidos. Nos dias subsequentes machos e fêmeas recém-emergidos foram marcados e seus comportamentos acompanhados. Em todas as colônias ocorreu o estabelecimento de um novo grupo de rainhas, ou seja, uma parcela da população apresentou desenvolvimento ovariano compatível com rainhas originais, mas observamos oviposições de novas rainhas somente na colônia D. Somente nesta colônia também, alguns dias após o início das oviposições, formou-se uma agregação de machos, que observamos por todo o período em que ela persistiu. Nós usamos dados demográficos, comportamentais e fisiológicos de mais seis colônias submetidas à remoção de rainhas para produzir escores na comparação com as colônias estudadas aqui. Aplicamos teste de qui-quadrado para comparar frequências e teste de correlação de Spearman para as análises de correlação, visto que os dados analisados apresentaram desvios de normalidade (programas R e Excel 2007).

Tabela 1. Período das observações e características demográficas das colônias de *Synoeca surinama* no período das observações.

| Colônia | Período das observações | Número de rainhas antes da remoção | Número de operárias no início das observações | Número de novas rainhas produzidas | Dias entre a remoção das rainhas e a coleta da colônia | Número de machos marcados |
|---------|-------------------------|------------------------------------|-----------------------------------------------|------------------------------------|--------------------------------------------------------|---------------------------|
| D       | 01/04/2012              | 15                                 | 1374                                          | 84                                 | 25                                                     | 57                        |
|         | 02/05/2012              |                                    |                                               |                                    |                                                        |                           |
| E       | 11/04/2012              | 18                                 | 812                                           | 56                                 | 12                                                     | 53                        |
|         | 02/05/2012              |                                    |                                               |                                    |                                                        |                           |
| G       | 10/09/2012              | 28                                 | 571                                           | 38                                 | 23                                                     | 69                        |
|         | 10/10/2012              |                                    |                                               |                                    |                                                        |                           |

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. *Comportamentos, interações e permanência de jovens machos nas colônias*

Nós observamos que maiores colônias são mais prováveis de produzirem machos, independente do número de rainhas, pois o número de operárias nas colônias correlacionou positivamente com o número de machos produzidos (Correlação de Spearman  $r_s = 0,71$ ;  $N=9$ ;  $p<0,05$ ). Porém, o número de rainhas não (Correlação de Spearman  $r_s = -0,51$ ;  $N=9$ ;  $p=0,16$ ). Machos de *S. surinama* não contribuíram para a manutenção da colônia, eles inspecionavam células, mas diferente das operárias, não introduziam toda a cabeça nas células e desempenhavam ventilação, geralmente antes de autolimpeza. A maior parte do tempo os machos permaneciam agrupados nas periferias do ninho (entre o favo e a borda interna do envelope), com rainhas e fêmeas recém-emergidas. Esporadicamente caminhavam no favo e interagiam com as operárias para obterem recursos por trofalaxia. No entanto, nas colônias D e E, muitos foram vistos recebendo atos agressivos de operárias, como mordidas no corpo e em muitas ocasiões eles eram agarrados e ambos, macho e operária em luta, caíam do ninho. Como machos recém-emergidos apresentavam pouca habilidade em voar, muitos foram vistos no solo. A permanência dos machos no ninho foi curta (no máximo sete dias após a emergência), mesmo na colônia G, onde agressões não foram observadas. De 179 machos marcados nas três colônias, somente três foram coletados no final das observações (0,01%) e estes tinham emergido somente cinco dias antes da coleta, enquanto que das 733 fêmeas recém-emergidas marcadas nestas mesmas colônias, 408 (55%) foram coletadas ( $\chi^2=167,19$ ;  $gl=1$ ;  $p<0,0001$ ). Esses resultados sugerem que a maioria dos machos são expulsos por operárias alguns dias após a emergência, mas quando não, eles deixam o ninho permanentemente por si mesmos, para provavelmente, se juntarem a agregações de acasalamento.

#### 3.2. *Formação de agregação de machos e acasalamento de novas rainhas virgens*

Onze dias após a remoção das rainhas na maior das colônias estudadas (colônia D, Tab. 1), novas rainhas iniciaram crescentemente as oviposições. Quatro dias após o início das oviposições nós observamos a formação de agregação de machos estrangeiros na copa da árvore

substrato do ninho. Estimamos mais de 150 machos voando agilmente e pousando nas folhas da árvore, onde permaneciam por alguns minutos e voavam novamente para outras folhas. Não observamos evidências de marcação das folhas em que eles pousavam, seja esfregando o abdome ou regurgitando alguma substância e podiam ser vistos sós ou em pequenos grupos (até três). Em algumas ocasiões um macho pousava em uma folha com outro presente e tocava seu gaster com suas partes bucais e depois voava. Como a vegetação em um raio de 50 metros do ninho era composta basicamente por pastagem, os machos foram observados somente nas folhas da árvore substrato do ninho. Uma amostra (N=60) confirmou que eram machos, pois eles são muito parecidos com fêmeas em *S. surinama* e somente com uma lupa de mão foi possível distingui-los, pela contagem dos segmentos gastrais (seis em machos e cinco em fêmeas). Além do mais, todas as operárias mais velhas e a maioria das fêmeas e machos recém-emergidos estavam marcados na colônia, ainda, fêmeas e machos recém-emergidos apresentavam pouca habilidade em voar e quando soltos caíam no solo. A agregação se formou por sete dias consecutivos, mas a cada dia o número de machos foi diminuindo. Interessante é o fato que os machos chegavam todos os dias aproximadamente uma hora antes do início do por do Sol e voavam para longe poucos minutos após o início do por do Sol, a maioria deles em direção a um pequeno fragmento de mata (aproximadamente 15.000 metros quadrados) localizado a aproximadamente 300 metros do ninho. Nós marcamos 15 machos estrangeiros e alguns foram vistos em dias consecutivos, sugerindo que a agregação poderia ser composta pelos mesmos machos nos diferentes dias.

Machos pousavam no favo, pela abertura no envelope para observações. Mas, quando as operárias percebiam sua presença elas os agrediam fortemente, agarrando e mordendo. Geralmente eles escapavam e voavam. Alguns pousavam e não eram percebidos de imediato, assim caminhavam pelo favo em direção a uma nova rainha virgem, geralmente realizando vigilância do ovo por ela botado, e tentavam copular. Machos pareciam identificar de imediato a nova rainha virgem, pois pousavam próximos a ela. Ele montava no dorso da fêmea, segurando fortemente com as pernas, alongava o abdome expondo sua genitália e curvando a extremidade do gaster de forma conspícua, tentava unir sua genitália com a da nova rainha virgem, similar ao comportamento de cópula observado em *Polistes fuscatus* (Fabricius) por West-Eberhard (1969, figura 17). A partir das filmagens observamos 15 pousos de machos no favo durante quatro dias, todos no período em que a agregação estava presente, destes, em 10 o macho foi imediatamente reconhecido e agredido, em cinco ocasiões eles conseguiram montar nas fêmeas, mas cópula bem sucedida parece ter ocorrido em apenas uma ocasião, pois as novas rainhas tentavam escapar do macho e curvavam o gaster tentando evitar a união das genitálias. Além disso,

operárias também atacavam. Nenhum macho foi agredido fora do ninho, apesar de pousarem muito próximo (até um metro) e não observamos nenhuma competição entre eles.

Nossos resultados mostraram que o acasalamento ocorre no favo, com fêmeas não inseminadas realizando oviposições. Nós coletamos uma amostra (N=7) de fêmeas jovens marcadas voltando ao ninho e cinco delas apresentaram desenvolvimento ovariano, mas nenhuma estava inseminada.

Não observamos machos jovens da colônia tentando copular, tanto que nas outras duas colônias produzindo machos (colônias E e G), nenhuma nova rainha virgem foi inseminada, em contraste, na colônia com a presença da agregação de machos (colônia D), 40 (47,6%) das novas rainhas foram inseminadas e oviposições de novas rainhas foram observadas somente nesta colônia. Em outras duas colônias que não estavam produzindo machos, nós procedemos a coleta, 97 e 64 dias após a remoção das rainhas. Na primeira, 100% das novas rainhas coletadas estavam inseminadas e na segunda, 79,5% estavam. Esta última enxameou 10 dias após a remoção das rainhas, construindo um novo ninho e foi coletada antes do início da emergência da nova prole, mostrando que as novas rainhas foram inseminadas, certamente por machos estrangeiros.

#### 4. DISCUSSÃO

Em *S. surinama*, machos são produzidos mais provavelmente em grandes colônias, com muitas operárias, independente do número de rainhas. Essa mesma tendência foi observada em *A. ujhelyii* (Nascimento et al., 2004) e *M. aztecoides*, exceto nesta última, onde machos são produzidos em grandes colônias poligínicas (West-Eberhard, 1978). Estas três espécies pertencem ao mesmo clado, sendo proximamente relacionadas (Wenzel e Carpenter, 1994) e como em Epiponini os poucos modelos comportamentais estudados não explicam a grande variação dentro do grupo (Noll e Wenzel, 2008), é possível que nas espécies deste clado, produzir machos em colônias com grande número de operárias (maior força operária) seja uma estratégia adaptativa para minimizar os riscos de declínio das colônias pelos custos que eles impõe. A inspeção de célula desempenhada por machos provavelmente está relacionado à obtenção de recursos na trofalaxia com larvas (Hunt et al., 1982; Suryanarayanan e Jeanne, 2008) e o comportamento de ventilação possivelmente é uma forma de treinamento das asas, pois machos apresentam baixa habilidade em voar nos primeiros dias após a emergência e permanecem no máximo sete dias no ninho, sendo expulsos por operárias, para evitar adicionais

custos (O'Donnell, 1999) ou saindo por si mesmos permanentemente, desta forma, precisam estar aptos para voar mais rapidamente que fêmeas recém-emergidas. Machos de vespas eussocias de fundação independente como *Polistes* e *Mischocyttarus* deixam seu ninho natal em poucos dias após a emergência (West-Eberhard, 1969; Gadagkar, 1991), por exemplo, em *Mischocyttarus drewseni* (de Saussure) eles permaneceram no ninho em média 4,8 dias (Jeanne, 1972) e em *Polistes lanio* (Giannotti, 2004) permaneceram em média  $10,5 \pm 4,8$  dias.. Além disso, machos recém-emergidos de *S. surinama* não acompanham as fêmeas no enxameio (Santos, dados não publicados), como observado em *Pa. fraternus* (Mateus, 2011) e *P. occidentalis* (Bouwma et al., 2000).

As observações da formação de agregação de machos estrangeiros sugere que eles foram atraídos quimicamente. Apesar de nenhum feromônio sexual ter sido quimicamente caracterizado na família Vespidae (Ayasse et al., 2001), é muito provável que as novas rainhas virgens liberaram algum feromônio volátil de longo alcance, possivelmente durante o comportamento de oviposição, que foi percebido pelos machos estrangeiros a uma grande distância, pois nas colônias que não observamos oviposições, não ocorreu formação dessas agregação e árvores e arbustos ocorria à uma distância superior a 50 metros do ninho. Possíveis fontes de componentes atrativos de fêmeas no abdome são a glândula de veneno e a glândula de Dufour (Ayasse et al., 2001). Em Vespinae, feromônios sexuais atraem machos e estimula comportamentos como montar e tentar copular (Downing, 1991). Apesar das constantes observações não vimos machos marcando a vegetação rasteira próxima ou folhas da árvore substrato do ninho para possivelmente atrair fêmeas ou outros machos, como observado em *P. sericea* e espécies de *Mischocyttarus* e *Polistes* (West-Eberhard, 1982), sugerindo que os machos foram atraídos isoladamente. Os fatores que levaram a formação da agregação de machos, em dias consecutivos, somente nos finais das tardes são desconhecidos.

Jeanne (1991) observou agregação de machos de *P. occidentalis* em arbustos longe do ninho, sugerindo que o acasalamento ocorre longe do ninho e Chavarría e Noll (2014) observaram machos tentando entrar em um ninho de *C. communis* com fêmeas virgens, sugerindo que o acasalamento ocorre próximo ou dentro do ninho. Em contraste, o acasalamento em *S. surinama* ocorreu dentro do ninho, pois vimos machos montando, tentando e copulando com novas rainhas virgens no favo. Castellón (1982) também observou machos de *S. surinama* tentando copular com fêmeas no favo em um ninho na fase de estabelecimento. De fato, o envelope do ninho estava parcialmente aberto, facilitando o acesso dos machos ao favo. Contudo, em condições naturais, com o envelope fechado, o acesso teria que ser pela entrada na parte superior do ninho, que têm operárias vigiando. Mesmo assim, ainda é provável que a

cópula ocorra no favo, pois alguns machos pousavam no favo e não eram reconhecidos de imediato. Em uma ocasião um macho pousou e caminhou por aproximadamente três minutos antes de encontrar uma nova rainha virgem e tentar copular.

Quase a metade das novas rainhas foi inseminada na colônia D, o que não ocorreu nas outras duas colônias produzindo machos, submetidas ao teste de remoção de rainhas. Pode ser que o acasalamento ocorra também fora do ninho, pois vimos muitas jovens fêmeas saindo nos períodos de permanência da agregação de machos, porém, não observamos inseminação em fêmeas virgens com desenvolvimento ovariano, que coletamos quando retornavam ao ninho.

Agressão de operárias sobre machos estrangeiros parece ocorrer em todas as espécies de Epiponini de que se têm informações, como *C. communis* (Chavarría e Noll, 2014), *Polybia liliacea* (Fabricius) (Jeanne, comunicação pessoal) e *S. surinama* (Castellón, 1982; este estudo), sugerindo que operárias atacam machos por não os reconhecerem como membros da colônia, por eles não possuírem os mesmos sinais químicos (Pfennig et al., 1983).

## 5. CONCLUSÕES

A partir dos resultados do estudo sobre machos de *S. surinama* podemos concluir que:

- Machos são mais prováveis de serem produzidos nas maiores colônias;
- Machos não desempenham nenhuma atividade para a produtividade e manutenção da colônia;
- Machos recém-emergidos permanecem no máximo sete dias no ninho, sendo expulsos por operárias a partir de agressões ou deixam o ninho por si mesmos;
- Novas rainhas virgens, no período de oviposições, provavelmente liberam algum feromônio sexual de longo alcance que atrai machos estrangeiros para o ninho. Estes machos atraídos formam agregações nas proximidades do ninho por dias consecutivos, sempre no mesmo período, chegando uma hora antes do por do Sol e saindo para longe no início do por do Sol.
- O acasalamento de fêmeas virgens ocorre no favo com machos estrangeiros. Jovens machos emergidos nas colônias não foram vistos tentando copular;
- Operárias geralmente expulsam machos estrangeiros tentando entrar no ninho, por provavelmente não reconhecê-los quimicamente como membros da colônia.

## 6. REFERÊNCIAS

- ALCOCK, J., BARROWS, E. M., GORDH, G., HUBBARD, L. J., KIRKEDALL, L., PYLE, D. W., PONDER, T. L. & ZALON, F. G. 1978. The ecology and evolution of male reproductive behavior in the bees and wasps. *Zool. J. Linn Soc. Lond.*, 64: 293-326.
- AYASSE, M., PAXTON, R. & TENGÖ, J. 2001. Mating behavior and chemical communication in the order Hymenoptera. *Annual Review of Entomology*, 46: 31–78.
- BOOMSMA, J.J. & GRAFEN, A. 1991. Colony-level sex ratio selection in the eusocial Hymenoptera. *J. Evol. Biol.*, 3: 383-407.
- BOUWMA, P.E., BOUWMA, A.M. & JEANNE, R.L. 2000. Social wasp swarm emigration: Males stay behind. *Ethology Ecology and Evolution*, 12: 35-42.
- CASTELLÓN, E.G. 1982. Evidências sobre o comportamento de cópula dos machos de *Synoeca surinama* L. (Hymenoptera: Vespidae) num ninho em construção. *Acta Amazônica*, 12 (3): 665-666.
- CHAVARRÍA, L. E. P. & NOLL, F. B. 2014. Males of Neotropical social wasps (Vespidae, Polistinae, Epiponini) recognize colonies with virgin females. *Journal of Hymenoptera Research*, 38: 135–139.
- CORTOPASSI-LAURINO, M. 2007. Drone congregations in Meliponini: What do they tell us? *Biosci. J., Uberlândia*. v. 23, Supplement 1, p. 153-160.
- DOWNING, H.A. 1991. The function and evolution of exocrine glands. In: Ross KG, Matthews RW (Eds). *The social biology of wasps*. Cornell University, Ithaca, 540–569.
- GADAGKAR, R. 1991. *Belonogaster*, *Mischocyttarus*, *Parapolybia*, and independent-founding *Ropalidia*. In: Ross KG, Matthews RW (Eds). *The social biology of wasps*. Cornell University, Ithaca, 149–190.

- GIANNOTTI, E. Male behavior in colonies of the social wasp *Polistes lanio* (Hymenoptera, Vespidae). *Sociobiology*, 43: 551-555.
- HUNT, J. H., BAKER, I. & BAKER, H. G. 1982: Similarity of amino acids in nectar and larval saliva: the nutritional basis for trophallaxis in social wasps. *Evolution*, 36: 1318—1322.
- JEANNE, R. L. 1972. Social biology of the Neotropical wasp *Mischocyttarus drewseni*. *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology, Harvard*, 144 (3): 63-150.
- JEANNE, R. L. 1991. The swarm-founding Polistinae. In: Ross KG, Matthews RW (Eds). *The social biology of wasps*. Cornell University, Ithaca, 191-231.
- JEANNE, R. L. & CASTELLÓN, E. G. 1980. Reproductive behavior of a male neotropical social wasp, *Mischocyttarus drewseni* (Hymenoptera: Vespidae). *Jornal of the Kansas Entomological Society*, 53 (2): 271-276.
- KASUYA, E. 1983. Social behavior of early males of Japanese paper wasp, *Polistes chinensis antennalis* (Hymenoptera: Vespidae). *Researches on Population Ecology*, 25: 143–149.
- LANDOLT, P.J., JEANNE, R.L. & Reed, H.C. 1998. Chemical communication in social wasps. See Ref. 264a, pp. 216–35.
- MATEUS, S. 2011.Observations on forced colony emigration in *Parachartergus fraternus* (Hymenoptera: Vespidae: Epiponini): New nest site marked with sprayed venom. *Psyche*. 2011: 149-157.
- NASCIMENTO, F. S., TANNURI-NASCIMENTO, I. C. & ZUCCHI, R. 2004. Behavioral mediators of cyclical oligogyny in the Amazonian swarmfounding wasp *Asteloeca ujhelyii* (Vespidae, Polistinae, Epiponini). *Insect. Soc.*, 51: 17–23.
- NOLL, F.B. & WENZEL, J. 2008. Caste in the swarming wasps: “queenless” societies in highly social insects. *Biological Journal of the Linnean Society*, 93: 509-522.
- O'DONNELL, S. 1999. The function of male dominance in the eusocial wasp, *Mischocyttarus mastigophorus* (Hymenoptera: Vespidae). *Ethology*, 105: 273-282.

PAMILO, P. 1991. Evolution of colony characteristics in social insects. I. Sex allocation. *Am. Nat.* 137: 83-107.

PFENNIG, D., GAMBOA, G. & REEVE, H. 1983. The mechanism of nestmate discrimination in social wasps (Polistes, Hymenoptera: Vespidae). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 13: 299–305.

POST, D.C. & JEANNE, R.L. 1983. Male reproductive behavior of the social wasp *Polistes fuscatus* (Hymenoptera: Vespidae). *Z. Tierpsychol.*, 62: 157–71.

QUELLER, D.C., STRASSMANN, J.E., SOILS, C.R., HUGHES, C.R. & DELOACH, D.M. 1993. A selfish strategy of social insect workers that promotes social cohesion. *Nature*, 365: 639-641.

REED, H.C. & LANDOLT, P.J. 1991. Swarming of paper wasps (Hymenoptera: Vespidae) sexuals at towers in Florida. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 84: 628–35.

SURYANARAYANAN, S. & JEANNE, R. L. 2008. Antennal drumming, trophallaxis, and colony development in the social wasp *Polistes fuscatus* (Hymenoptera: Vespidae). *Ethology*, 114: 1201–1209.

SUZUKI, T. 1986. Production schedules of males and reproductive females, investment sex ratios, and worker-queen conflict in paper wasps. *Am. Nat.*, 128: 366-378.

WENZEL, J.W. & CARPENTER, J.M. 1994. Comparing methods: adaptive traits and tests of adaptation. In P. Eggleton and R. I. Vane-Wright (editors), *Phylogenetics and ecology*: 79–101. London: Academic Press.

WEST-EBERHARD, M.J. 1969. The social biology of polistine wasps. Misc. Publ. Mus. Zool. University of Michigan, 140: 1–101.

WEST-EBERHARD, M. J. 1978. Temporary queens in *Metapolybia* wasps: nonreproductive helpers without altruism? *Science*, 200: 441-443.

WEST-EBERHARD, M. J. 1982. The nature evolution of swarming in tropical social wasps. In: Jaisson P (Ed) *Social Insects in the Tropics*. Univ. Paris-Nord, Paris, 97–128.